



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

LAIS FARIAS MASULLO

**AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO EM MULHERES
DIAGNOSTICADAS COM HIPOTIREOIDISMO PRIMÁRIO**

FORTALEZA
2017

LAIS FARIAS MASULLO

AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO EM MULHERES DIAGNOSTICADAS
COM HIPOTIREOIDISMO PRIMÁRIO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos à obtenção do título de Mestre em Patologia. Área de concentração: Medicina II.

Orientador: Prof. Dr. Manoel Ricardo Alves Martins.

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Romélia Pinheiro Gonçalves.

FORTALEZA
2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- M1a MASULLO, LAIS.
AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO EM MULHERES DIAGNOSTICADAS COM
HIPOTIREOIDISMO PRIMÁRIO / LAIS MASULLO. – 2017.
75 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Patologia, Fortaleza, 2017.
Orientação: Prof. Dr. MANOEL RICARDO ALVES MARTINS.
Coorientação: Profa. Dra. ROMÉLIA PINHEIRO GONÇALVES LEDO.
1. Espécies Reativas de Oxigênio. 2. Estresse Oxidativo. 3. Hipotireoidismo. I. Título.
- CDD 571.9
-

LAIS FARIAS MASULLO

AVALIAÇÃO DO ESTRESE OXIDATIVO EM MULHERES DIAGNOSTICADAS
COM HIPOTIREOIDISMO PRIMÁRIO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos à obtenção do título de mestre em Patologia. Área de concentração: Medicina II.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Manoel Ricardo Alves Martins (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^ª. Dr^ª. Ana Rosa Quidute
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^ª. Dr^ª. Eveline Gadelha Pereira Fontenele
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^ª. Dr^ª. Arlandia Cristina Lima Nobre de Morais
Universidade de Fortaleza (UNIFOR)

Dedico esse meu trabalho aos meus pais Francisco Masullo e Eliania Farias, por sempre acreditarem em mim, e por abdicarem da sua vida pelos seus filhos. À minha irmã Larissa por ser meu maior espelho de profissionalismo e amizade.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter me dado forças para chegar até aqui, pois sem Ele nada era possível.

À CAPES, pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa de auxílio.

Ao meu orientador Prof. Dr. Manoel Ricardo Alves Martins, pela excelente orientação, pelo tempo dedicado ao meu trabalho e pela disposição em ajudar sempre.

À Prof. Dra. Romélia Pinheiro Gonçalves, pela coorientação, pelas valiosas sugestões, pela receptividade em seu laboratório, pela parceria e pela estrutura disponibilizada para a realização dos experimentos.

Aos professores participantes da banca examinadora Dr^a Ana Rosa Quidute, Dr^a. Eveline Gadelha e Dr^a. Arlândia Morais pela compreensão, pelo tempo, pelas valiosas colaborações e sugestões.

Aos professores do departamento de patologia e medicina legal da UFC, que contribuíram para a minha formação.

Aos funcionários do DPML-UFC, em especial à Valéria Cordeiro, por sua dedicação e humanismo, fazendo de tudo para nos ajudar.

Aos médicos do ambulatório de endocrinologia do HUWC, pela colaboração com a pesquisa.

À equipe do Laboratório LACT pela colaboração, disponibilidade e organização.

Aos colegas do grupo de pesquisa da hematologia, em especial ao Tarcísio Paulo, Pedro Áureo e Marilena Facundo, pela ajuda na realização dos experimentos, pelas reflexões sobre os resultados, pelo apoio e pela disposição.

Aos amigos do grupo de pesquisa da Endocrinologia, pelas críticas e sugestões e pela ajuda constante durante todo o desenvolvimento desse trabalho.

Aos colegas da turma de mestrado, pelas reflexões, críticas e sugestões recebidas.

Aos familiares e amigos pelo apoio, pela confiança e pelo incentivo durante toda essa jornada.

“Uma mente que se abre a uma nova ideia,
jamais volta ao seu tamanho original.”

Albert Einstein.

Resumo

Os hormônios tireoidianos regulam o metabolismo corporal, com mudança no perfil de utilização de oxigênio celular. Como consequência, pode ocorrer a produção de espécies reativas de oxigênio que induzem o estresse oxidativo e disfunções celulares em diversos tecidos. O estudo tem como objetivo avaliar os níveis de estresse oxidativo em mulheres diagnosticadas com hipotireoidismo primário. Participaram do estudo 25 pacientes do sexo feminino, atendidas no ambulatório de Endocrinologia do Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC) em Fortaleza-Ceará, com hipotireoidismo primário. As amostras de sangue dos pacientes foram coletadas na condição de hipotireoidismo e em eutireoidismo. Avaliou-se a função hormonal tireoideana, o perfil bioquímico e hematológico dos pacientes, além dos parâmetros do estresse oxidativo a partir das dosagens de malonaldeído, nitrito/nitrato, catalase e superóxido dismutase. Observamos redução significativa do colesterol total, LDL e triglicérides após a correção do hipotireoidismo. Em relação ao estresse oxidativo, houve aumento da atividade da catalase ($50,25 \pm 12,75$ vs $63,77 \pm 23,8$ atv/min; $p = 0,03$) quando comparamos os dois momentos. Não houve alteração no nitrito/nitrato ($p=0,18$), malonaldeído ($p=0,67$) e na atividade da superóxido dismutase ($p=0,93$) quando analisamos o grupo inteiro. A concentração de nitrito/nitrato estava aumentada nos casos de hipotireoidismo com síndrome metabólica ($34,07 \pm 10,89$ vs $30,12 \pm 10,12$; $p=0,03$). Esses dados sugerem que o hipotireoidismo altera o estresse oxidativo, sendo que a atividade da catalase é o marcador mais sensível. Quando o hipotireoidismo está associado à síndrome metabólica, os níveis de NO aumentam, o que sugere mecanismos diferentes no estresse oxidativo nessas duas condições clínicas.

Palavras-chave: Espécies Reativas de Oxigênio. Estresse Oxidativo. Hipotireoidismo.

Abstract

Thyroid hormones regulate the body metabolism, with changes in cellular oxygen usage profile. As a result, there may be production of reactive oxygen species that induce oxidative stress and cellular dysfunction in various tissues. The study aims to evaluate the levels of oxidative stress in women diagnosed with primary hypothyroidism. The study included 25 female patients from the Endocrinology Clinic of the University Hospital Walter Cantídio (HUWC) in Fortaleza, Ceará, with primary hypothyroidism. Blood samples of patients were collected in the hypothyroid condition and euthyroid. We evaluated the thyroid hormone function, biochemical and haematological profile of patients, beyond the parameters of oxidative stress from measurements of malondialdehyde, nitrite/nitrate, superoxide dismutase and catalase. We observed a significant reduction of total cholesterol, HDL, LDL and triglycerides and leukocytes after correction of hypothyroidism. In relation to oxidative stress, there was a significant reduction of catalase activity ($50,12 \pm 12,75$ vs $63,77 \pm 23,8$ atv/min; $p = 0.03$) when we compared two moments. There was no change in nitrite / nitrate concentration ($p = 0.18$), malonaldehyde ($p = 0.67$) and superoxide dismutase activity ($p = 0.93$) when we analyzed the whole group. There was no significant difference in the concentration of malonaldehyde in both situations ($P = 0.67$). The concentration of nitrite / nitrate was increased in cases of hypothyroidism with metabolic syndrome (34.07 ± 10.89 Vs 30.12 ± 10.12 , $p = 0.03$). These data suggest that hypothyroidism alters oxidative stress, and catalase activity is the most sensitive marker. When hypothyroidism occurs with metabolic syndrome, NO levels increase, suggesting different mechanisms in oxidative stress in these two clinical conditions.

Keywords: Reactive Oxygen Species. Oxidative stress. Hypothyroidism.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Mecanismo de regulação da produção de hormônios tireoidianos.....	18
Figura 2 – Sistemas antioxidante e oxidante	27
Figura 3 – Geração de espécies reativas de oxigênio durante a cadeia transportadora de elétrons.....	29
Figura 4 – Mecanismos celulares dos sistemas antioxidantes.....	30
Figura 5 – Desenho do estudo.....	39
Figura 6 – Utilização das amostras biológicas.....	41

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	– Causas de hipotireoidismo primário.....	21
Quadro 2	– Componentes do sistema antioxidante enzimáticos e não enzimáticos.....	28
Quadro 3	– Componentes do sistema oxidante separadas por radicais de oxigênio e derivados de oxigênio não radicais.....	28
Quadro 4	– Estudos transversais que avaliaram marcadores do estresse oxidativo em adultos com hipotireoidismo primário.....	35
Quadro 5	– Estudos prospectivos de coorte que avaliaram marcadores do estresse oxidativo em adultos com hipotireoidismo primário antes e após o tratamento com L-T4.....	36
Quadro 6	– Características clínicas.....	46

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Atividade da catalase em hipotireoidismo e em eutireoidismo (n=25).....	51
Gráfico 2 – Atividade da catalase em hipotireoidismo subclínico (TSH<10mUI/L) e em eutireoidismo (n=8).....	51
Gráfico 3 – Atividade da catalase em hipotireoidismo clínico (TSH>10mUI/L) e em eutireoidismo (n=17).....	52
Gráfico 4 – Atividade da catalase no momento de hipotireoidismo e eutireoidismo no grupo diagnosticado com Síndrome Metabólica (n=11)	52
Gráfico 5 – Atividade da superóxido dismutase em hipotireoidismo e em eutireoidismo (n=25).....	53
Gráfico 6 – Atividade da superóxido dismutase em pacientes com hipotireoidismo e síndrome metabólica (n=11).....	54
Gráfico 7 – Nitrito/nitrato em hipotireoidismo e em eutireoidismo (n=25).....	54
Gráfico 8 – Concentração de nitrito/nitrato no hipotireoidismo clínico (TSH>10mUI/L) e no eutireoidismo (n=17).....	55
Gráfico 9 – Concentração de nitrito/nitrato em pacientes com síndrome metabólica nos momentos de hipotireoidismo e eutireoidismo (n=11).....	55
Gráfico 10 – Malonaldeído no hipotireoidismo e no eutireoidismo.....	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Hormônios tireoidianos no hipotireoidismo e eutireoidismo.....	47
Tabela 2 – Hormônios tireoidianos no hipotireoidismo com TSH<10mUI/L e em eutireoidismo.....	47
Tabela 3 – Hormônios tireoidianos no hipotireoidismo com TSH>10mUI/L e em eutireoidismo.....	47
Tabela 4 – Exames bioquímicos antes e depois do tratamento.....	48
Tabela 5 – Marcadores do estresse oxidativo no momento do hipotireoidismo e eutireoidismo (n=25).....	49
Tabela 6 – Marcadores do estresse oxidativo no momento do hipotireoidismo com TSH<10mUI/L e eutireoidismo (n=8).....	49
Tabela 7 – Marcadores do estresse oxidativo no momento do hipotireoidismo com TSH>10mUI/L e eutireoidismo (n=17).....	50
Tabela 8 – Marcadores do estresse oxidativo no momento do hipotireoidismo e eutireoidismo no subgrupo com síndrome metabólica (N=11).....	50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ARE	Ariesterase
AHA	American Heart Association
ATP	Adenosina trifosfato
CAT	Catalase
CT	Colesterol total
D1	Desiodase tipo 1
D2	Desiodase tipo 2
DIT	Diiodotirosina
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ECO	Ecocardiograma
ERO	Espécies Reativas de Oxigênio
FADH2	Dinucleotídeo de flavina e adenina
GLUT 4	Receptor de glicose responsivo à insulina
GPx	Glutathione Peroxidase
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HS	Hipotireoidismo Subclínico
HT	Hormônio Tireoidiano
IC	Insuficiência cardíaca
IFN- α	Interferon tipo alfa
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
L-T4	Levotiroxina
MIT	Monoiodotirosina
NADH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
NO	Óxido Nítrico
RTH	Receptor de hormônio tireoidiano
RXR	Receptor retinoide X
SNC	Sistema nervoso central
SO	Estresse Oxidativo
SOD	Superóxido Dismutase
T3	Triiodotironina
T4	Tiroxina

T4L	Tiroxina livre
TBARS	Ácido Tiobarbitúrico
TPO	Tireoperoxidase
TRH	Hormônio Liberador de Tireotrofina
TSH	Tireotrofina
UV	Ultravioleta
Vit A	Vitamina A
Vit E	Vitamina E

LISTA DE SÍMBOLOS

α	Alfa
β	Beta
p	Significância

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
1.1	Tireoide	18
1.2	Hipotireoidismo	20
<i>1.2.1</i>	<i>Hipotireoidismo Subclínico</i>	22
<i>1.2.2</i>	<i>Consequências do hipotireoidismo nos diversos sistemas</i>	23
<i>1.2.2.1</i>	<i>Metabolismo</i>	23
<i>1.2.2.2</i>	<i>Sistema cardiovascular</i>	24
<i>1.2.2.3</i>	<i>Outros sistemas</i>	25
<i>1.2.3</i>	<i>Tratamento Farmacológico</i>	26
1.3	Estresse Oxidativo	26
1.4	Implicações Diversas do Estresse Oxidativo	32
1.5	Hipotireoidismo Estresse Oxidativo	33
2	OBJETIVOS	38
2.1	Objetivo geral	38
2.2	Objetivos específicos	38
3	MATERIAIS E MÉTODOS	39
3.1	Considerações éticas	39
3.2	Desenho do estudo	39
3.3	Seleção da amostra	39
<i>3.3.1</i>	<i>Critérios de inclusão</i>	39
<i>3.3.2</i>	<i>Critérios de exclusão</i>	40
3.4	Local do estudo	40
3.5	Coleta das amostras biológicas	40
3.6	Aplicação do questionário	40
3.7	Uso das amostras	41
3.8	Obtenção do plasma	41
3.9	Obtenção do hemolisado	41
3.10	Testes realizados	42
<i>3.10.1</i>	<i>Perfil oxidativo</i>	42
<i>3.10.2</i>	<i>Dosagens hormonais</i>	43
<i>3.10.3</i>	<i>Dosagens bioquímicas</i>	44

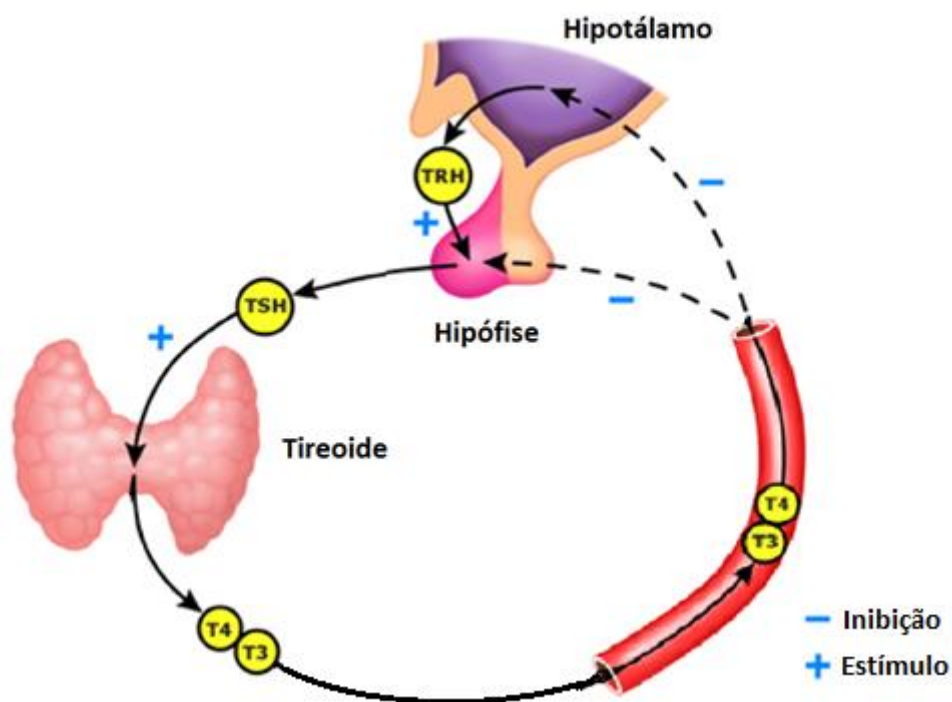
3.10.4	<i>Perfil hematológico</i>	44
3.11	Descarte do material biológico.....	44
3.12	Análise estatística.....	45
4	RESULTADOS	46
4.1	Características Clínicas, Bioquímicas e Função Tireoidiana	46
4.2	Estresse Oxidativo	49
5	DISCUSSÃO	57
5.1	Características clínicas	57
5.2	Catalase	58
5.3	Superóxido dismutase	59
5.4	Nitrito/nitrato	60
5.5	Malonaldeído (MDA)	61
5.6	Vantagens e limitações do estudo	61
6	CONCLUSÃO	62
	APÊNDICE	63
	ANEXO A- PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP	66
7	REFERÊNCIAS	67

1 INTRODUÇÃO

1.1 Tireoide

A tireoide é uma glândula localizada na região anterior da traqueia e responsável pela regulação do metabolismo corporal através da secreção dos hormônios tireoidianos: T4 (tiroxina) e T3 (triiodotironina). O principal regulador do estado morfológico e funcional da tireoide é o hormônio tireotrófico ou tireotrofina (TSH) produzido pela hipófise. A síntese de TSH é regulada pelo hipotálamo principalmente pela estimulação pelo hormônio liberador de tireotrofina (TRH). Ao mesmo tempo, a dopamina inibe a liberação de TSH e tanto o TRH como o TSH também são inibidos por retroalimentação negativa induzida pelos hormônios tireoidianos. Em condições de normalidade (eutireoidismo), há secreção estável de TSH, T3 e T4 (figura 1) (WIERSINGA, 2000).

Figura 1. Mecanismo de regulação da produção de hormônios tireoidianos.



TRH estimula a secreção de TSH pela hipófise anterior, o qual induz a síntese e secreção de T4 e T3 pela tireoide. Os hormônios tireoidianos T4 e T3 inibem a secreção de TRH e TSH por retroalimentação negativa. TRH: Hormônio liberador de tireotrofina. TSH: Hormônio tireotrófico. T4: Tiroxina. T3: Triiodotironina. Fonte: <http://www.uptodate.com/contents/image?imageKey=ENDO/75399&topicK>.

A liberação de TSH ocorre de maneira pulsátil e obedecendo um ritmo circadiano. A variação circadiana do TSH é caracterizada por um aumento noturno que precede o sono, não estando relacionada com a variação de cortisol ou flutuações na concentração de T3 e T4 (BRABANT *et al.*, 1990). Algumas condições interferem na pulsatilidade do TSH, como a redução de TSH durante as refeições e após cirurgias. Diversos medicamentos também podem interferir na liberação do TSH, estimulando-a, como a metoclopramida pelo bloqueio do receptor de dopamina, ou suprimindo-a, como o uso de corticoides em altas doses (CHIAMOLERA ;WONDISFORD, 2009; SALVATORE *et al.*, 2016).

Os hormônios tireoidianos (HT) são sintetizados pelas células foliculares da tireoide através da iodação de resíduos de tirosina. A Tireoperoxidase (TPO) catalisa a oxidação do iodeto e sua transferência para tirosina, tendo papel chave na síntese de HT. Uma vez que o iodo se liga à tirosina, formam os complexos MIT (moniodotirosina) e DIT (diiodotirosina), precursores que se acoplam formando T4 (tiroxina) a partir de duas moléculas de DIT e T3 (triiodotironina) a partir de uma molécula de MIT e uma de DIT. O T4 é formado unicamente pelas células tireoidianas e compõe a maior parte de HT liberado na circulação. Embora o T3 também seja sintetizado na tireoide, 80% é derivado de tecidos periféricos a partir da desiodação do T4 pelas Desiodases 1 e 2 (D1 e D2). Na circulação os HT são carreados por proteínas como tireoglobulina, albumina e transtiretina, sendo que a fração livre é a ativa. Os HT liberados na circulação migram para tecidos periféricos, onde vão entrar na célula, se ligar ao receptor de hormônio tireoidiano (RHT), que é um receptor do tipo nuclear, e desenvolver seus efeitos biológicos. O T3 possui 15 vezes maior afinidade com o RHT que o T4, sendo por isso denominado forma ativa de hormônio tireoidiano. Uma vez que os HTs se ligam ao RHT nuclear, formam heterodímeros com RXR (receptor retinoide X) que podem interagir com co-ativadores, participando de processos de transcrição de genes-alvo (SALVATORE *et al.*, 2016).

Em condições normais, a concentração plasmática de TSH está entre 0,4-4,2 mUI/mL. No entanto, o valor de referência estabelecido para os níveis de TSH sérico é discutido. No estudo de NHANES III, o qual avaliou a função tireoidiana em 17.353 pacientes com idade ≥ 12 anos nos EUA, o valor médio de TSH em uma população eutireoidiana é 1,39 mUI/L, com intervalo entre 0,45 e 4,12 mUI/L correspondendo a 95% dos casos. Esse valor médio de TSH aumenta com a idade (HOLLOWELL *et al.*,

2002). Apesar da correlação entre o valor médio de TSH e a idade, o estudo NHANES III demonstrou que na faixa etária entre 12 e 59 anos não existe diferença significativa entre o valor médio de TSH basal (HOLLOWELL *et al.*, 2002).

Estudos demonstram que existe uma correlação entre o TSH sérico, mesmo dentro do valor de referência, e o risco de desenvolvimento de disfunções tireoidianas. Por exemplo, Vanderpump *et al.*, observaram que pacientes do sexo feminino com TSH acima de 2 mUI/L têm maior chance de desenvolver hipotireoidismo em um período de 20 anos, independente de idade. Essa predisposição aumenta quando acompanhada de anti-TPO positivo (VANDERPUMP *et al.*, 1995).

1.2 Hipotireoidismo

As disfunções na glândula tireoide compreendem o excesso (hipertireoidismo) ou a deficiência (hipotireoidismo) dos hormônios tireoideanos. O hipotireoidismo é uma das doenças endócrinas mais comuns, acometendo até 10% da população adulta (Brenta *et al.*, 2013). O hipotireoidismo pode ser classificado em primário, quando acomete diretamente a tireoide, ou central quando o defeito primário ocorre na hipófise ou no hipotálamo.

O hipotireoidismo primário representa 99% dos casos de hipotireoidismo e é causado mais frequentemente em adultos pela tireoidite autoimune crônica (doença de Hashimoto). Outras causas incluem tireoidectomia parcial ou total, terapias que destroem o tecido tireoideano como radiação com Iodo 131 e demais citadas no quadro 1 (BRENT ;WEETMAN, 2016). Os fatores de risco para o desenvolvimento do hipotireoidismo autoimune incluem sexo feminino, idade (geralmente ocorre na vida adulta com progressão associada ao envelhecimento), tratamento com INF- α de longa duração, presença de hepatite C crônica e anticorpo anti-TPO positivo (BRENT ;WEETMAN, 2016).

Quadro 1. Causas de hipotireoidismo primário.

Causas de hipotireoidismo primário
Tireoidite de Hashimoto
Deficiência de iodo
Medicamentos que bloqueiam a síntese ou liberação de T4 (lítio, etionamida, sulfonamida, iodo)
Citocinas (interferon- α , interleucina 2)
Tireoidite pós ablativa por iodo 131, cirurgia ou terapia por irradiação para doença maligna não tireoidiana.
Congênitas

Fonte: Adaptado de (BRENT ;WEETMAN, 2016).

O diagnóstico clínico do hipotireoidismo é feito na presença de sinais e sintomas sugestivos, que incluem voz grave ou rouca, edema periorbitário (BIONDI ;COOPER, 2008), constipação, fadiga, pele seca, intolerância ao frio e prejuízo de memória. Porém, não há sinais patognômicos no hipotireoidismo, o que torna o diagnóstico clínico de baixa sensibilidade e especificidade.

O diagnóstico laboratorial do hipotireoidismo primário é baseado nos níveis séricos de TSH e T4L. A relação entre o TSH e T4L basais é log-linear inversa, ou seja, pequenas reduções na concentração de T4L provocam aumento exponencial na concentração de TSH. Dessa forma, o teste mais sensível para diagnóstico do hipotireoidismo primário é a dosagem sérica de TSH ultrassensível. Esta dosagem apresenta baixo coeficiente de variabilidade, baixo custo e ampla disponibilidade (BRENTA *et al.*, 2013). Os níveis de T4 livre podem estar baixos ou dentro do intervalo de referência. A dosagem sérica de T3 total apresenta baixa sensibilidade, uma vez que a sua concentração geralmente está normal no hipotireoidismo em consequência da conversão de T4 em T3 pela desidase tipo 2.

O hipotireoidismo primário é classificado de acordo com o grau de deficiência dos hormônios tireoidianos, sendo denominado hipotireoidismo clínico quando os níveis de T4 livre estão baixos e Hipotireoidismo Subclínico (HS) quando os níveis de T4 livre estão dentro do intervalo de referência (BRENTA *et al.*, 2013; PEARCE *et al.*, 2013).

1.2.1 Hipotireoidismo subclínico

O Hipotireoidismo Subclínico (HS) é definido pela presença de níveis normais de hormônios tireoideanos associados a TSH elevado. Dessa forma, a definição de HS é unicamente bioquímica e não incorpora a presença ou ausência de sintomas. Outro termo usado é disfunção tireoidiana mínima. O HS pode ser subdividido conforme o nível de TSH em moderado ($4 < \text{TSH} < 10$ mUI/mL) ou grave ($\text{TSH} \geq 10$ mUI/mL) (BIONDI ;COOPER, 2008).

O HS acomete entre 4 e 10% da população adulta, variando de acordo com a população estudada (etnia e idade). A prevalência de HS é de cerca de três vezes maior em mulheres (TUNBRIDGE *et al.*, 1977). Os fatores de risco associados a maior progressão para o hipotireoidismo clínico são sexo feminino, idade avançada, anti-TPO positivo e grau de elevação do TSH sérico, mesmo dentro do intervalo de referência (SAWIN *et al.*, 1979; ROSENTHAL *et al.*, 1987; HUBER *et al.*, 2002).

A etiologia do HS é similar ao do hipotireoidismo clínico. Uma das causas mais frequentes de HS é a terapêutica de reposição insuficiente em pacientes com hipotireoidismo clínico, tanto por baixa adesão, interação medicamentosa ou monitoramento inadequado, correspondendo a até 30% dos casos (SAWIN *et al.*, 1979; CANARIS *et al.*, 2000).

Apenas os casos de HS persistentes ou progressivos devem ser considerados um estágio inicial de doença tireoidiana. Casos de hipotireoidismo transitório podem ocorrer por drogas, infecções virais, tireoidite autoimune e devem ser diferenciados do HS permanente após reavaliação do TSH após um período de 6 a 12 meses (BIONDI ;COOPER, 2008).

A significância clínica do HS é incerta. Os estudos que avaliaram a morbimortalidade do hipotireoidismo clínico e subclínico estão descritos nos tópicos seguintes.

1.2.2 Consequências do hipotireoidismo nos diversos sistemas:

1.2.2.1 Metabolismo:

O HT regula a taxa metabólica basal. No hipotireoidismo, devido à redução dos níveis séricos de HT, ocorre diminuição do metabolismo energético e da produção de calor o que provoca redução do metabolismo corporal, perda de apetite e intolerância ao frio. A redução do metabolismo corporal interfere no metabolismo de proteínas, carboidratos e lipídeos (BRENT ;WEETMAN, 2016).

No que se refere a proteínas, a diminuição da degradação gera um balanço de nitrogênio levemente positivo, de modo que a concentração total de proteínas pode estar aumentada no soro. Por outro lado, a redução da síntese de proteínas interfere no crescimento tecidual (BRENT ;WEETMAN, 2016).

O principal produto formado no metabolismo dos carboidratos é a glicose. O hipotireoidismo é associado com redução da disposição de glicose no tecido esquelético, muscular e adiposo, redução da gliconeogênese e redução da expressão do transportador de glicose responsivo à insulina (GLUT4). Essas alterações no metabolismo da glicose, no entanto, provocam pouca interferência nos níveis de glicose basal (BRENT ;WEETMAN, 2016).

No metabolismo dos lipídios há redução tanto na síntese como na degradação. Porém, esta última apresenta-se mais expressiva com redução da lipólise e de receptores de LDL com consequente acúmulo de LDL e triglicerídeos. Os níveis de ácidos graxos livres no plasma estão diminuídos, assim como a sua mobilização em resposta a jejum, catecolaminas e hormônio do crescimento (BRENT ;WEETMAN, 2016). O hipotireoidismo além de alterar as concentrações de lipoproteínas, altera também o seu grau de oxidação. A diminuição de receptores hepáticos de LDL reduz o seu *clearance* hepático, aumentando concentrações séricas de LDL e apolipoproteína B. Como consequência, a oxidação do LDL também pode aumentar. O aumento da oxidação do LDL aumenta a aterogênese. Por outro lado, a elevação das concentrações de HDL podem estar relacionadas com a redução na atividade da lipase hepática e da colesteryl-ester transferase, enzimas que são reguladas pelos HT (O'BRIEN *et al.*, 1993; DUNTAS, 2002; SALEHIDOOST *et al.*, 2012).

1.2.2.2 Sistema Cardiovascular:

O sistema cardiovascular é um alvo importante de ação dos hormônios tireoidianos. O HT tem efeitos diretos tanto no coração quanto na vasculatura (BRENT ;WEETMAN, 2016).

No coração o hipotireoidismo induz disfunção diastólica e sistólica, redução do volume sistólico e da pressão arterial sistólica, com conseqüente diminuição do débito cardíaco no repouso (BRENT ;WEETMAN, 2016).

Os efeitos periféricos do hipotireoidismo são o aumento da resistência vascular e o aumento do volume sanguíneo e redução da pré-carga cardíaca. Essas alterações hemodinâmicas provocam estreitamento da pressão de pulso, prolongamento do tempo de circulação e redução do aporte sanguíneo nos tecidos, características semelhantes aos casos de insuficiência cardíaca congestiva (BRENT ;WEETMAN, 2016). Essas alterações variam de acordo com o grau de deficiência dos HT e geralmente são revertidas com o tratamento com L-T4 (FAHR, 1925).

Diversos estudos associam o hipotireoidismo com o risco de desenvolver doença cardiovascular (OCHS *et al.*, 2008; RODONDI *et al.*, 2008; FLYNN, R. W. *et al.*, 2010), sendo que esse risco parece ser dependente da idade e do nível de TSH. Em pacientes com TSH <10 o risco de doença cardiovascular está bem estabelecido em adultos jovens, podendo ser explicado por diversos mecanismos como colesterol total elevado e dislipidemia, aumento da pressão arterial, maior prevalência de síndrome metabólica, disfunção endotelial, resistência à insulina, aumento da espessura íntima-média de carótidas, hipercoagulabilidade, inflamação e estresse oxidativo (MONZANI *et al.*, 2001; LIU *et al.*, 2010; BAUMGARTNER *et al.*, 2014; MINAMI *et al.*, 2015). Já em pacientes com idade ≥ 65 anos com TSH entre 4,5-9,9 mUI/L não se observou essa associação (RODONDI *et al.*, 2008). Em pacientes com TSH ≥ 10 mUI/L observou-se a associação do HS com o desenvolvimento de Insuficiência Cardíaca (IC) independentemente da idade (GENCER *et al.*, 2012). Em pacientes com idade ≥ 65 anos com HS apresentando níveis séricos de TSH ≥ 10 mUI/L observou-se associação com risco médio a elevado de desenvolver IC e alterações no ECO compatíveis com IC - como maior fração de ejeção - quando comparados com eutireoidismo (RODONDI *et al.*, 2008). Um estudo realizado na Escócia com 17.684 pacientes demonstrou a associação entre TSH > 4 mUI/L e maior risco de doença cardiovascular (FLYNN, ROBERT W. *et al.*, 2010).

Com relação à mortalidade, estudos indicam que o hipotireoidismo primário está associado com aumento da mortalidade independente dos níveis de TSH. Um estudo realizado nos EUA ao analisar 6.408 pacientes de alto risco para doença coronariana concluiu que aqueles que tinham hipotireoidismo clínico (TSH>10 mUI/L) ou HS moderado (TSH entre 6.1 e 10 mUI/L) estavam associados a maior mortalidade independente da causa, do gênero e da idade (MCQUADE *et al.*, 2011).

1.2.2.3 Outros Sistemas:

O hipotireoidismo provoca diversas alterações na pele. O acúmulo de ácido hialurônico provoca alterações na derme e em outros tecidos, tendo como consequência a formação de edema mucinoso na região dos olhos, no dorso das mãos e pés e nas fossas supra claviculares. Ocorre vasoconstrição cutânea e anemia deixando a pele pálida e fria. As glândulas sebáceas e sudoríparas estão reduzidas, levando à pele seca e áspera (BRENT ;WEETMAN, 2016).

O hipotireoidismo altera o funcionamento da respiração na inervação e nos músculos respiratórios. Ocorre redução da capacidade máxima de respiração e de difusão sem alterar o volume pulmonar. O hipotireoidismo grave pode provocar um quadro de hipoventilação alveolar e retenção de dióxido de carbono (BRENT ;WEETMAN, 2016).

As alterações no SNC induzidas pelo hipotireoidismo em adultos geralmente são leves e reversíveis. O fluxo sanguíneo cerebral é reduzido e o consumo de oxigênio é geralmente normal. Nos casos graves, porém, a redução do fluxo sanguíneo pode gerar hipóxia, tendo como consequência ataques de confusão e síncope (BRENT ;WEETMAN, 2016). Todas as funções intelectuais estão diminuídas no hipotireoidismo, ocorrendo letargia, defeitos de memória, perda de iniciativa, demência e sonolência (JOFFE *et al.*, 2013). O hipotireoidismo tem sido associado com a doença de Alzheimer, porém, ainda são necessários mais estudos que confirmem essa associação (TAN ;VASAN, 2009).

No sistema hematopoiético, a deficiência de HT reduz o consumo de oxigênio e da produção de eritropoietina. Essas alterações interferem na série eritrocítica, sendo comum casos de anemia normocítica e normocrômica. Nos casos mais graves de hipotireoidismo a anemia é macrocítica e pode vir acompanhada de deficiência de vitamina B12. A deficiência de HT não altera a contagem de leucócitos e plaquetas. No entanto, episódios de sangramento podem ocorrer em consequência da adesão plaquetária

prejudicada e da deficiência dos fatores de coagulação VIII e IX (BRENT ;WEETMAN, 2016).

1.2.3 Tratamento Farmacológico

O tratamento do hipotireoidismo consiste na reparação hormonal com levotiroxina. As indicações da reposição hormonal no hipotireoidismo incluem os pacientes sintomáticos e os pacientes com hipotireoidismo subclínico com idade inferior a 65-70 anos ou TSH superior a 10 mUI/L (PEARCE *et al.*, 2013). O tratamento do hipotireoidismo consiste na administração de levotiroxina sintética (L-T4) via oral em jejum (30 minutos antes da primeira refeição do dia). A dose de L-T4 varia entre 0,8 – 2,0 µg/Kg de peso. Doses mais elevadas de L-T4 são prescritas para pacientes tireoidectomizados. O tratamento frequentemente está indicado por toda a vida, mas pode também ser transitório, como ocorre após tireoidite subaguda ou quando induzido por medicamentos que podem ter seu uso descontinuado (por exemplo, lítio).

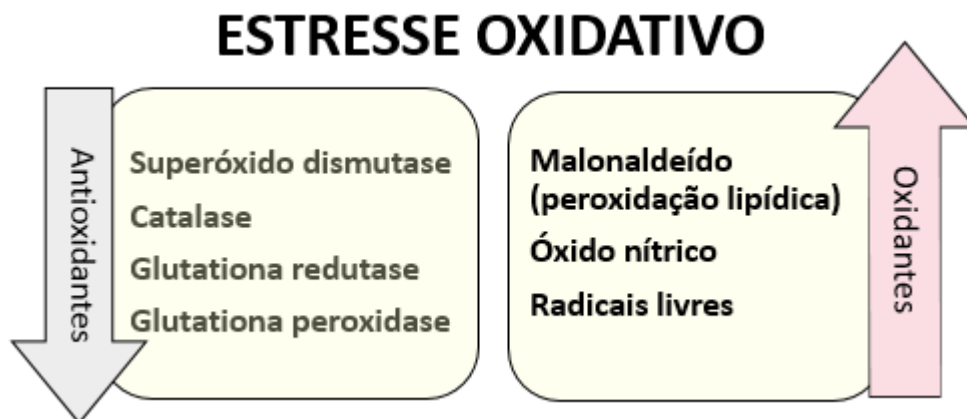
A avaliação do tratamento inclui a monitorização clínica e laboratorial. A dosagem sérica de TSH é considerada o parâmetro laboratorial mais acurado para confirmar a adequação de reposição. O TSH deve ser dosado após seis a oito semanas do início do tratamento e após o reajuste da dosagem de L-T4 caso seja necessário, até que haja normalização de TSH (VALENTE, 2009).

1.3 Estresse Oxidativo

O metabolismo gera continuamente radicais livres como produto das suas reações químicas. Esses radicais livres são qualquer átomo ou molécula altamente instáveis e reativos e assim denominados por possuírem um ou mais elétrons não-pareados na última camada. A partir de 1954, os radicais livres foram descritos por Gerschman R. *et al.* como importantes agentes envolvidos nos mecanismos bioquímicos e de lesão celular, pois quando esses radicais não são neutralizados pelo sistema de defesa antioxidante reagem com componentes essenciais causando danos na célula, condição denominada de estresse oxidativo (GERSCHMAN *et al.*, 1954; FINAUD *et al.*, 2006). Em situações fisiológicas

ocorre o equilíbrio entre o sistema oxidante e antioxidante. O estresse oxidativo ocorre quando o sistema oxidante predomina em relação ao sistema antioxidante (Figura 2).

Figura 2. Sistemas antioxidantes e oxidantes.



O estresse oxidativo ocorre quando há uma relação de aumento de componentes oxidantes - Malonaldeído como produto da peroxidação lipídica, óxido nítrico(nitrito/nitrato) e demais radicais livres - e diminuição do sistema de defesa antioxidante (superóxido dismutase, catalase e glutathion redutase e peroxidase). Fonte: Próprio autor.

Em 1956, Harman D. sugeriu que os radicais livres, ao participarem de processos fisiológicos, poderiam estar relacionadas com envelhecimento, doenças degenerativas e câncer, o que despertou o interesse da comunidade científica nas espécies reativas de oxigênio (HARMAN, 1955).

O sistema antioxidante tem a função de neutralizar os radicais livres formados, evitando que eles se liguem a componentes celulares essenciais e provoquem dano. Esse sistema é composto por componentes enzimáticos, como superóxido dismutase, e não enzimáticos, como vitaminas. Os demais componentes do sistema antioxidante estão listados no quadro 2 (SIES, 1985).

Quadro 2. Componentes do sistema antioxidante enzimáticos e não enzimáticos.

<ul style="list-style-type: none"> • Sistema Antioxidante Enzimático:
Superóxido dismutase Glutathiona peroxidase Glutathiona redutase Catalase
<ul style="list-style-type: none"> • Sistema Antioxidante Não-enzimático:
α- Tocopherol (Vitamina E) Ácido ascórbico (Vitamina C) β- Caroneto (Vitamina A) Flavanóides Proteínas plasmáticas

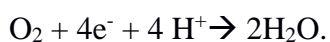
O sistema oxidante é composto por radicais livres. Quando esses radicais livres são gerados a partir de oxigênio, são denominados Espécies Reativas de Oxigênio (ERO). As ERO podem ser classificadas como radiculares- radical óxido nítrico (NO^\cdot), radical superóxido (O_2^\cdot), radical hidroxila (OH^\cdot) e outros citados no quadro 3- e não radiculares como peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e peroxinitrito (ONOOH), que apesar de não possuírem elétrons desemparelhados na última camada são altamente reativas (HARMAN, 1955; SIES, 1985).

Quadro 3. Componentes do sistema oxidante separadas por radicais de oxigênio e derivados de oxigênio não radicais.

Radicais de Oxigênio	
Óxido Nítrico NO^\cdot	Hidroxila HO^\cdot
Ânion Superóxido SO_2^\cdot	Peroxil HOO^\cdot
Alcoxila RO^\cdot	
Derivados de Oxigênio Não Radicais	
Peroxido de hidrogênio H_2O_2	Ozônio O_3
Peróxido orgânico ROOH	Oxigênio singlet O_2
Aldeído HCOR	Ácido hipocloroso HOCl
Peroxinitrito ONOOH	

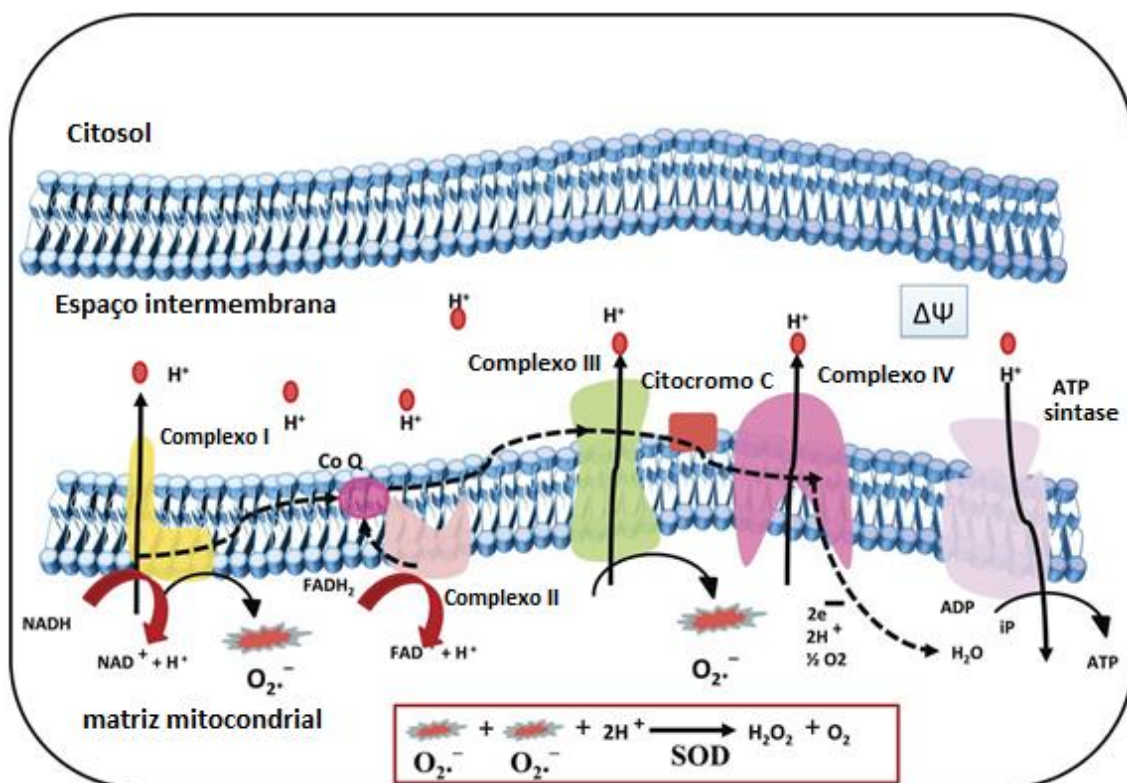
As Espécies Reativas de Oxigênio podem ser formadas a partir das funções celulares intrínsecas ou como resposta a estímulos. Como principais formadores endógenos de ERO podemos citar mitocôndria, metabolismo do citocromo P450, peroxissomos e ativação de células inflamatórias (BUONOCORE *et al.*, 2010).

A mitocôndria é uma organela intimamente relacionada com o metabolismo celular. Durante a cadeia respiratória, que ocorre na mitocôndria e é a principal fonte de geração de ATP nos mamíferos, o oxigênio funciona como um acceptor de elétrons provenientes dos sistemas NADH e FADH₂ sendo totalmente reduzido a água:



Porém, na fase intermediária dessa reação pode ocorrer a formação de radicais livres como o ânion Superóxido (O₂⁻), Peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e radical hidroxila (OH⁻) (CHINNERY ;SCHON, 2003; BUONOCORE *et al.*, 2010) (Figura 03).

Figura 3. Geração de espécies reativas de oxigênio durante a cadeia transportadora de elétrons.



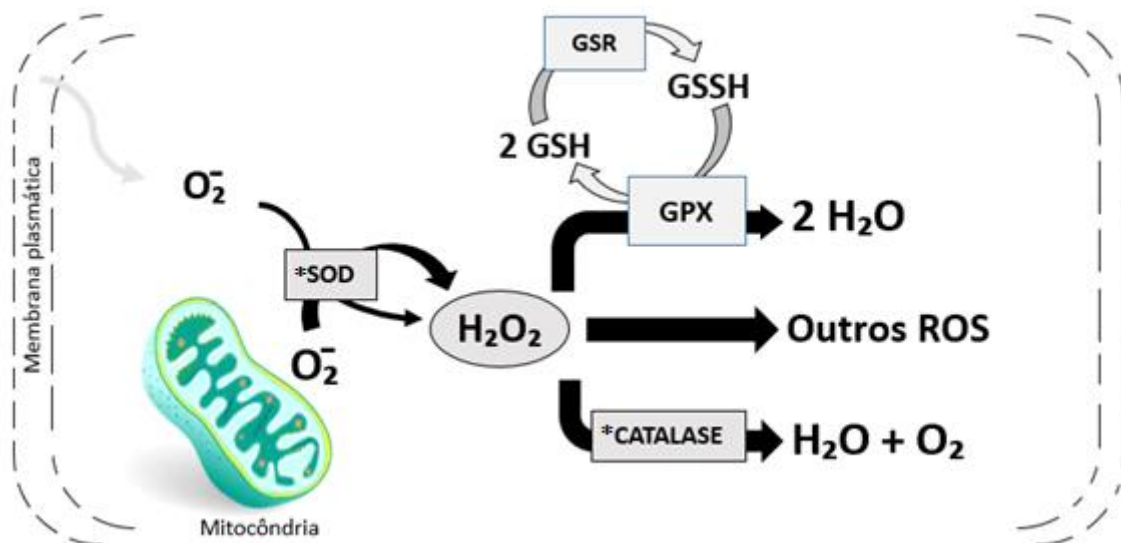
Durante o transporte de elétrons no complexo I e II da membrana mitocondrial alguns elétrons livres se ligam ao oxigênio molecular, formando radical superóxido O_2^- que é o iniciador da cadeia oxidativa. O O_2^- reage com a SOD formando H_2O_2 e H_2O e o H_2O_2 . SOD: superóxido dismutase. Fonte: Adaptado de (Agrawal e Mabalirajan, 2016).

A formação do O_2^- ocorre a partir da doação de um elétron ao O_2 , sendo o precursor para a formação e propagação de ERO intra e extracelular. O O_2^- atua como mediador da cadeia de reação oxidativa, tendo como produto de suas reações OH^- e H_2O_2 . O mecanismo de geração do radical OH^- ocorre quando há um excesso de Fe^{3+} que catalisa a reação de Harber-Weiss (BUONOCORE *et al.*, 2010):

- 1) $O_2^- + Fe^{3+} \leftrightarrow Fe^{2+} + O_2$
- 2) $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH + OH^-$
- 3) $O_2^- + H_2O_2 \rightarrow O_2 + OH^- + OH$

A reação de O_2^- em H_2O e O_2 ocorre catalisada pelas enzimas Superóxido Dismutase (SOD), Glutationa Peroxidase (GPx) e Catalase (CAT) (Figura 04). Essas enzimas compõem o sistema antioxidante enzimático e neutralizam os radicais livres formados, e conseqüentemente, o estresse oxidativo (AL-GUBORY *et al.*, 2010). A figura 04 resume o sistema antioxidante responsável pela neutralização de ERO.

Figura 04. Mecanismos celulares dos sistemas antioxidantes.



Reações catalisadas pelas enzimas do sistema antioxidante. Os radicais O_2^- produzidos iniciam a cascata oxidativa e são transformados em H_2O_2 pela SOD. O H_2O_2 pode formar outros ROS ou pode ser neutralizado em H_2O e O_2 pela catalase e pela GPx. SOD: Superóxido dismutase. GPx: Glutathione peroxidase. ROS: Radicais de oxigênio. GSR: Glutathione reductase. GSH: Glutathione reduzida. GSSH: Glutathione oxidada. *Testes dosados no estudo. Fonte: Próprio autor.

Fora da mitocôndria, ERO podem ser formadas a partir da biotransformação de xenobióticos e drogas, inflamação, radiação UV, irradiação iônica e peroxidação lipídica da membrana plasmática e de outras estruturas com membranas lipídicas (BECKMAN ;AMES, 1998).

A presença de espécies reativas de oxigênio desintegra os ácidos graxos poli-insaturados dos fosfolípidios das membranas através do processo de peroxidação lipídica. Esse mecanismo permite a entrada de radicais livres nas estruturas intracelulares e pode levar ao dano celular (BECKMAN ;AMES, 1998). A peroxidação lipídica tem como produto secundário o Malonaldeído (MDA) que também pode ser formado indiretamente a partir de endoperóxidos, os quais são produtos da reação de ciclização dos radicais peroxil (ROO^\cdot)(MARNETT, 1999). Assim, o MDA é um marcador específico de dano oxidativo resultante do aumento da peroxidação lipídica (GROTTO *et al.*, 2007; VASCONCELOS *et al.*, 2007).

1.4 Implicações Diversas do Estresse Oxidativo

Diversos fatores estão relacionados com o estresse oxidativo como tabagismo, dieta, sexo, idade e presença de comorbidades (BLOCK *et al.*, 2002; DIAMANTI-KANDARAKIS *et al.*, 2016).

Um estudo americano analisou a influência do tabagismo na peroxidação lipídica e ao separar os grupos em não fumantes, fumantes passivos e fumantes ativos (até 30 cigarros por dia; mais de 30 cigarros por dia), observou que os níveis de MDA aumentaram com o tabagismo, com maiores níveis de peroxidação lipídica nos três grupos de fumantes (BLOCK *et al.*, 2002).

Quanto à dieta, estudos demonstram que a ingestão aumentada de gorduras saturadas, glicose e ácidos graxos têm influência nos níveis séricos de glicemia, triglicerídeos e colesterol, o que provoca a saturação da capacidade de fosforilação oxidativa da mitocôndria, tendo como consequência a maior produção de radicais livres na circulação (DU *et al.*, 2000; NISHIKAWA *et al.*, 2000; ANDERSON *et al.*, 2001;

BAE *et al.*, 2001). Por outro lado, alguns estudos sugerem que a ingestão de macro nutrientes está diretamente relacionada com o aumento agudo de EROs independente do aumento dos níveis basais bioquímicos. Um estudo americano concluiu que a ingestão de macro nutrientes (carboidratos, lipídeos e proteínas) provocam aumento agudo da geração de ROS em leucócitos de adultos saudáveis, mesmo sem alterar os níveis basais de colesterol, glicose e triglicérides (MOHANTY *et al.*, 2002), outro estudo acompanhou pacientes obesos submetidos a quatro semanas de dieta de 1000 kcal e demonstrou redução significativa dos níveis de derivados do ácido tiobarbitúrico (TBARS) após a primeira semana, os quais permaneceram constantes nas semanas seguintes e aumentaram após o fim da dieta, na 16ª semana (DANDONA *et al.*, 2001).

Com relação ao gênero, estudos demonstram que as mulheres têm maiores níveis de SO (BLOCK *et al.*, 2002; TOPIC *et al.*, 2016). Um estudo de coorte realizado nos EUA com 298 adultos saudáveis de 19 a 78 anos demonstrou que as mulheres tinham maiores níveis de MDA (BLOCK *et al.*, 2002).

Diversos estudos demonstram que a idade tem influência nos níveis de estresse oxidativo, de modo que ambos estão associados. Os radicais livres gerados durante os processos fisiológicos são acumulados com o tempo, bem como seus produtos de oxidação e danos provocados no DNA que podem ser tanto pela oxidação do ácido nucléico, como pela quebra das cadeias de DNA, e nas proteínas. Assim, o envelhecimento e a redução da expectativa de vida seria um resultado do acúmulo de ERO e a maior sobrevida está relacionada com a maior capacidade do organismo em neutralizar esses efeitos (HARMAN, 1992).

O estresse oxidativo está intimamente associado com a inflamação e em conjunto podem predispor ao aparecimento de diversas doenças. Essa relação tem aumentado, sugerindo a participação do SO em mecanismos fisiopatológicos de doenças como câncer (ALI *et al.*, 2016), hiperlipidemia e disfunções endócrinas. O envolvimento de EROS na carcinogênese pode ocorrer tanto pela reação entre os radicais livres e o DNA, podendo gerar mutação no gene, como na interação com quinases envolvidas nos processos de crescimento e propagação da célula tumoral (GORRINI *et al.*, 2013).

Quanto à relação entre estresse oxidativo e disfunções metabólicas, um estudo demonstrou que pacientes obesos apresentam níveis elevados de marcadores de peroxidação lipídica (TBARS, 9-HODE, 13-HODE) (DANDONA *et al.*, 2001). Outro

estudo em humanos realizado no Japão relatou maiores níveis de TBARS e correlação positiva entre TBARS e IMC e circunferência abdominal. Além disso, camundongos obesos foram submetidos a tratamento com antioxidante inibidor de NADPH-oxidase e obtiveram redução nos níveis de ERO, além de melhorar comorbidades como esteatose hepática, diabetes e hiperlipidemia (FURUKAWA *et al.*, 2004).

1.5 Hipotireoidismo e Estresse Oxidativo

Os hormônios tireoidianos, por serem reguladores do metabolismo basal, estão intimamente relacionados com a produção de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) e de Estresse Oxidativo (SO), uma vez que influenciam reações anabólicas e catabólicas, gasto de energia, mobilização de combustível e ritmo de respiração, influenciando a taxa de consumo de oxigênio principalmente pela mitocôndria (VILLANUEVA *et al.*, 2013).

A relação entre o estresse oxidativo e o hipotireoidismo tem crucial importância, uma vez que níveis de estresse oxidativo estão relacionados com doenças de risco para pacientes diagnosticado com Hipotireoidismo, tais como aterosclerose e dislipidemias.

Estudos realizados em camundongos com hipotireoidismo relataram redução da atividade antioxidante de CAT, SOD e GPx e aumento no níveis de peroxidação lipídica no cérebro dos camundongos (JENA ;BHANJA, 2014). Também há relatos de aumento de peroxidação lipídica no hipocampo e amígdalas de camundongos com hipotireoidismo induzido (CANO-EUROPA *et al.*, 2008). Além dos estudos que indicam relação entre hipotireoidismo e aumento do estresse oxidativo, há estudos relatando que o hipotireoidismo não interfere no estresse oxidativo (MESSARAH *et al.*, 2010) e outros relatam aumento de substâncias antioxidantes, como o estudo que encontrou aumento de α -tocoferol no músculo cardíaco de camundongos com hipotireoidismo (SHINOHARA *et al.*, 2000; VILLANUEVA *et al.*, 2013) e outros relatam redução de peroxidação lipídica em homogeneizado de músculo cardíaco de camundongos (DA ROSA ARAUJO *et al.*, 2010).

Um estudo em pacientes com hipotireoidismo primário demonstrou que os níveis de MDA e NO estavam elevados antes do início da terapia e reduzidos após o tratamento quando comparados com o grupo controle. A SOD apresentou níveis elevados após o tratamento, porém sem diferença nos níveis antes de iniciar a terapia (BASKOL, G *et al.*,

2007). Um estudo argentino em mulheres relatou aumento dos níveis de NO no hipotireoidismo clínico, sem diferença significativa desse parâmetro entre HS e controle (CORIA *et al.*, 2009). Um outro estudo em pacientes com HS relatou aumento dos níveis de MDA e CAT quando comparados ao controle, além de forte correlação positiva de CT e LDL com CAT e MDA, indicando que esse aumento pode ser consequência da hipercolesterolemia presente no grupo. O mesmo estudo demonstrou menores níveis do antioxidante Arilesterase (ARE) no hipotireoidismo (SANTI *et al.*, 2012).

Em um estudo recente observou-se o aumento do estresse oxidativo em decorrência da elevação nos níveis de MDA e Dieno conjugado no soro de pacientes com Hashimoto (ÖZTÜRK *et al.*, 2012). Um outro estudo relatou redução de defesas antioxidantes SOD, CAT e GPx em pacientes com hipotireoidismo e deficiência intelectual (CARMELI *et al.*, 2008). Observou-se que pacientes com hipotireoidismo clínico por Hashimoto apresentaram níveis elevados de substâncias oxidantes- MDA, MPO (mieloperoxidase), NO- e de vitamina E. Após o tratamento, houve redução dos níveis de MDA e NO, de modo que a concentração de NO não apresentou diferença em relação ao grupo controle. Por outro lado, o MDA e MPO encontram-se aumentados após o tratamento ao comprarmos com o grupo controle (ERDAMAR *et al.*, 2008). Ates *et al.*, demonstram que pacientes com Hashimoto apresentaram níveis de oxidantes totais elevados e níveis baixos de antioxidantes totais antes do tratamento com L-T4, os quais foram respectivamente reduzidos e aumentados, sugerindo que a doença está relacionada com estresse oxidativo e que o tratamento é vantajoso (ATES *et al.*, 2016). Os quadros 4 e 5 resumem os resultados de estudos que avaliaram marcadores do estresse oxidativo em adultos diagnosticados com hipotireoidismo.

Quadro 4. Estudos transversais que avaliaram marcadores do estresse oxidativo em adultos com hipotireoidismo primário.

Estudo	Grupos	Testes	Resultados
(CORIA <i>et al.</i> , 2009)	20 HC	¹ NO	↑ Hipotireoidismo clínico
	33 HS	¹ TBARS	=
	28 controle	² PON-1	=
(ÖZTÜRK <i>et al.</i> , 2012)	20 HC	¹ MDA	↑ MDA no hipotireoidismo clínico
		¹ PC	↑ PC no Hipotireoidismo clínico
		¹ DC	↑ DC no Hipotireoidismo clínico
	30 HS	¹ NT	=
	30 controle	² FRAP	↓ FRAP em Hipotireoidismo clínico
(SANTI <i>et al.</i> , 2012)	20 HS	¹ TBARS	↑ TBARS em Hipotireoidismo
		² CAT	↑ CAT em Hipotireoidismo
	20 controle	² SOD	=
		² ARE	↓ ARE em Hipotireoidismo
(CARMELI <i>et al.</i> , 2008)*	11 HP	² SOD	↓ SOD no Hipotireoidismo
		² CAT	↓ CAT no Hipotireoidismo
	11 controle	² GPX	↓ GPx no Hipotireoidismo
		² GSR	=

HC: Hipotireoidismo clínico; HS: Hipotireoidismo subclínico; HP: Hipotireoidismo primário; = não houve diferença significativa; *Estudo realizado em pacientes com deficiência intelectual.

¹Pró-oxidantes: NO (óxido nítrico), TBARS (ácido tiobarbitúrico), PC (proteína carbonila), DC (dieno conjugado), NT (nitrotirosina).

²Antioxidantes: PON-1 (paraoxonase-1), FRAP (Poderoso antioxidante férrico reduzido), CAT (catalase), SOD (superóxido dismutase), GPx (Glutathione peroxidase), GSR (Glutathione reductase), ARE (arilesterase).

Quadro 5. Estudos prospectivos de coorte que avaliaram marcadores do estresse oxidativo em adultos com hipotireoidismo primário antes e após o tratamento com L-T4.

Estudo	Grupos	Testes	HIPO x Controle	EU x Controle	EU x HIPO
(BASKOL, G. <i>et al.</i> , 2007)	33 Hipotireoidismo 18 Eutireoidismo 26 controle	¹ NO	↑	=	=
		¹ MDA	↑	↑	↓
		² SOD	=	↑	↑
		² PON1	↓	↑	↑
(ERDAMAR <i>et al.</i> , 2008)	20 Hipotireoidismo clínico 20 controle	¹ NO	↑	=	↓
		¹ MDA	↑	↓	↓
		¹ MPO	↑	↑	=
		² Vit E	↑	↑	=
		² Vit A	=	↑	=
		² Ascorbato	=	=	↑
		² β-caroteno	=	=	=
(ATES <i>et al.</i> , 2016)	36 Hashimoto 36 controle	¹ TOS	↑	=	↓
		¹ OSI	↑	=	↓
		² TAS	↓	=	↑
		² Tiol total	↓	=	↑
		² ARE	↓	=	↓
		² PON-1	↓	=	↑

HIPO: Hipotireoidismo primário; EU: Eutireoidismo; = não houve diferença significativa; ↑ Níveis aumentados; ↓ Níveis reduzidos.

¹Pró-oxidantes: NO (óxido nítrico), MDA (malonaldeído), MPO (mieloperoxidase), TOS (oxidantes totais), OSI (índice de estresse oxidativo).

²Antioxidantes: SOD (superóxido dismutase), PON-1 (paraoxonase-1), Vit A (vitamina A), Vit E (vitamina E), Ascorbato, β-caroteno, Tiol total, ARE (arilesterase) e TAS (total de antioxidantes).

Em resumo, os estudos em humanos demonstram dados discordantes em relação ao efeito do hipotireoidismo no SO. A maioria demonstra aumento dos oxidantes (BASKOL, G *et al.*, 2007; ERDAMAR *et al.*, 2008; ÖZTÜRK *et al.*, 2012; SANTI *et al.*, 2012; ATES *et al.*, 2016). Em relação aos antioxidantes, há estudos relatando aumento (ERDAMAR *et al.*, 2008; SANTI *et al.*, 2012) e redução (CARMELI *et al.*, 2008; ATES

et al., 2016). Em parte essa discordância pode ocorrer devido a presença de comorbidades que interferem *per se* no SO. Assim, um estudo prospectivo em um grupo específico se faz necessário para elucidar o efeito do hipotireoidismo ao SO.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar o estresse oxidativo em pacientes diagnosticados com hipotireoidismo primário e comparar com os níveis em eutireoidismo.

2.2 Específicos

- Avaliar as pacientes quanto ao diagnóstico inicial, comorbidades e estilo de vida a partir do questionário padrão (Apêndice A).
- Analisar o perfil metabólico e hematológico dos pacientes no estado de eutireoidismo e hipotireoidismo.
- Analisar a atividade das enzimas antioxidantes catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD) em mulheres diagnosticadas com hipotireoidismo primário e comparar com as mesmas pacientes em eutireoidismo;
- Avaliar os níveis de MDA (malonaldeído) e nitrito/nitrato em mulheres com hipotireoidismo e comparar com as mesmas em eutireoidismo.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

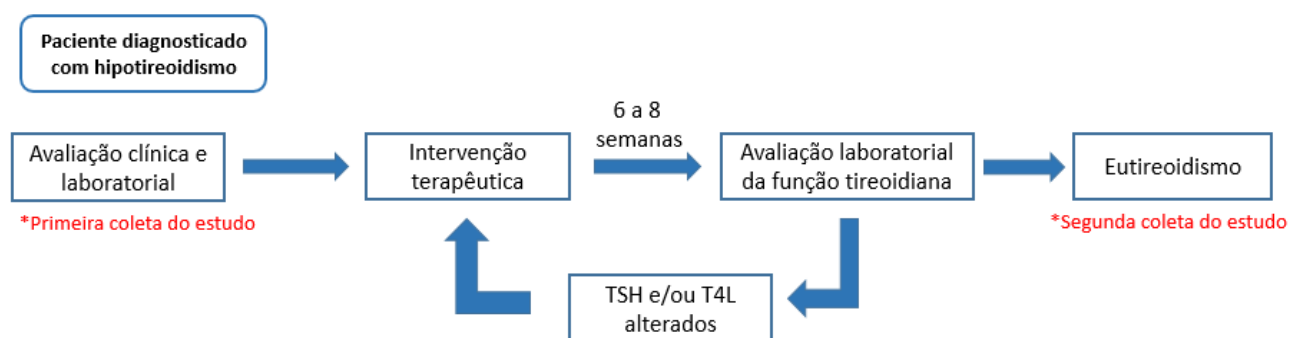
3.1 Considerações Éticas

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará (UFC) com parecer de número: 1.320.557.

3.2 Desenho do Estudo

O estudo foi do tipo coorte em pacientes com hipotireoidismo. Os pacientes foram avaliados inicialmente em hipotireoidismo, sendo iniciada a L-T4 ou a sua dose ajustada até atingir o eutireoidismo, quando os pacientes foram reavaliados (Figura 5). O perfil tireoidiano foi classificado de acordo com o nível sérico de TSH estabelecido pelo consenso. O manejo clínico desses pacientes seguiu o protocolo padrão. (ROSARIO *et al.*, 2013).

Figura 5. Desenho do estudo



De acordo com o protocolo padrão, o tempo de tratamento com LT-4 é de 6 a 8 semanas. O tempo médio de tratamento com L-T4 no presente estudo foi de 11,94 semanas.

3.3 Seleção da Amostra

3.3.1 Critério de Inclusão

Foram convidadas a participar do estudo todas as pacientes do sexo feminino, com idade entre 18 e 59 anos e em acompanhamento no ambulatório de Endocrinologia do Serviço de Endocrinologia e Diabetes do Hospital Universitário Walter Cantídio, da Universidade Federal do Ceará (SED-HUWC) com o diagnóstico de hipotireoidismo primário.

3.3.2 Critério de Exclusão

Impossibilidade de obtenção do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE); pacientes tabagistas atuais, etilistas, grávidas, lactantes, paciente com infecção viral recente (90 dias), pacientes com doença autoimune (exceto Hashimoto), que estejam fazendo uso de algum antioxidante e pacientes que não aderiram ao tratamento.

3.4 Local de Estudo

O estudo clínico foi realizado no ambulatório de Endocrinologia do HUWC. As dosagens dos marcadores de estresse oxidativo foram realizadas no Laboratório de Pesquisa em Hemoglobinopatias e Genética das Doenças Hematológicas (LHGDH) do curso de Farmácia da Universidade Federal do Ceará (UFC) e as dosagens bioquímicas, hematológicas e hormonais foram realizadas no Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas (LACT).

3.5 Coleta das Amostras Biológicas

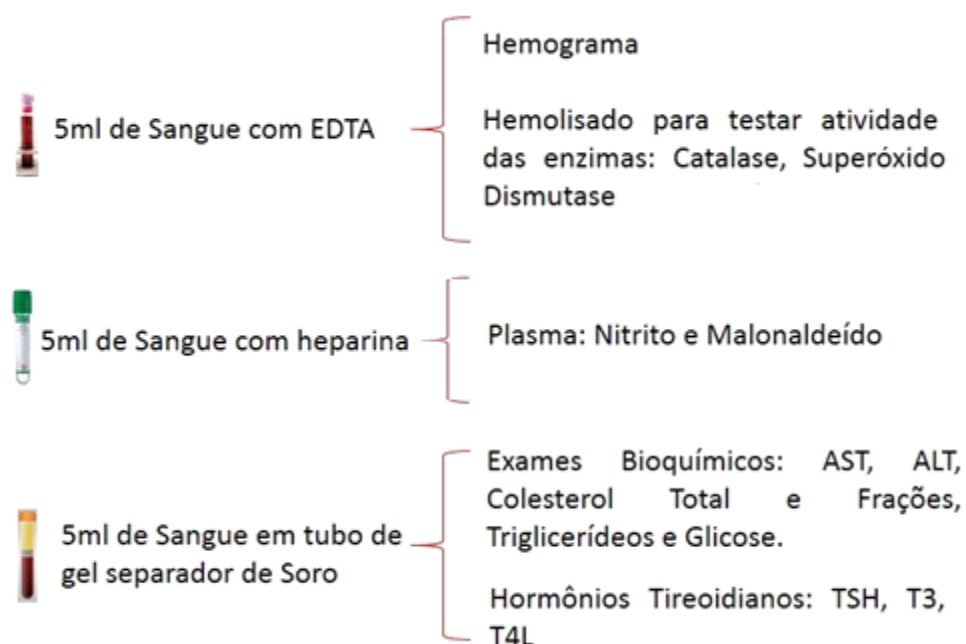
A coleta das amostras foi efetivada após explicação detalhada dos objetivos do estudo e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Foram coletados por punção venosa 5 mL de sangue em tubo com gel separador de soro, 5 mL de sangue em tubo contendo EDTA e 5 mL de sangue em tubo contendo heparina como anticoagulantes. O paciente apresentava-se em jejum de 12 horas.

3.6 Aplicação do Questionário

A aplicação do questionário foi realizada ao diagnóstico, após explicação detalhada dos objetivos do estudo e assinatura do TCLE. O questionário foi preenchido por entrevista pessoal.

3.7 Uso das Amostras

Figura 6. Utilização das amostras biológicas



3.8 Obtenção do Plasma

Para a obtenção do plasma, o sangue coletado em heparina foi centrifugado a 3.500 rpm por 15 min, sendo separado o plasma e armazenado sob refrigeração a uma temperatura de -20°C por 6 a 8 meses.

3.9 Obtenção do Hemolisado

Para a obtenção do hemolisado eritrocitário, foi realizada a remoção de plasma, plaquetas e camada leucocitária do sangue total coletado em EDTA a partir de centrifugações a 3.500 rpm por 15 min, e lavagens sucessivas com NaCl 0,9%, com posterior lise dos eritrócitos pela adição de água destilada (1:1). O hemolisado foi armazenado a -20°C por 6-12 meses.

3.10 Testes realizados:

3.10.1 Perfil oxidativo:

Catalase (CAT):

A atividade da CAT nos eritrócitos foi determinada por método espectrofotométrico em ultravioleta a 240nm, baseado na monitorização da decomposição de H₂O₂. Os valores brutos obtidos em Δa (delta/min) foram corrigidos por um fator de correção do decaimento da atividade por diluição do hemolisado, divididos pela absortividade molar de H₂O₂ a 240nm (ε 0,071 L mmol⁻¹mm⁻¹) (Beutler, 1975). As amostras utilizadas apresentaram decaimento da catalase de no mínimo R=0,95. As amostras foram realizadas em duplicatas.

Superóxido Dismutase (SOD):

A medida da atividade da Superóxido Dismutase (SOD) nos eritrócitos foi determinada pelo Kit Randox® SD125 utilizando-se um método que emprega a xantina e a xantina-oxidase para gerar radicais superóxido, os quais reagem com 2-(4-iodofenil)-3-(4 nitrofenol)-5-cloreto de feniltetrazol (INT) que forma o composto vermelho de formazan. A atividade da Superóxido Dismutase foi medida através do grau de inibição dessa reação a 505nm. As amostras foram utilizadas quando apresentaram um grau de inibição entre 30-60%, com diluição prévia variando de acordo com as características da amostra em 1:600-1:850.

Ensaio do nitrito/nitrato

A concentração de nitrito/nitrato foi determinada segundo o método de Green *et al.*, 1981, que se baseia em revelar a presença de nitrito em uma amostra (urina, plasma, homogenato tecidual) por uma reação de diazotização que forma um cromóforo de cor rósea, com pico de absorbância de 540 nm. Para esta experiência 100 µL do reativo de Griess (sulfanilamida a 1%/ cloridrato de N-(1-naftil)-etilenediamina 0.1% / H₃PO₄ em 1% / água destilada, na proporção de 1:1) foi adicionado a 100 µL do plasma e incubado a temperatura ambiente por 10 min. A curva padrão foi elaborada com várias concentrações de NaNO₂ (variando de 0,75 a 100 mM) sob as mesmas condições. Os brancos foram preparados pela adição de 100 µL do reativo de Griess a 100 µL do plasma

e a absorbância foi medida em leitor de microplacas em 540 nm. Todas as amostras foram realizadas em duplicata, utilizando a média.

Ensaio do MDA:

O método mais empregado para determinação do MDA em amostras biológicas é baseado na sua reação com ácido tiobarbitúrico (TBARS). Nesta reação, duas moléculas de TBARS reagem estequiometricamente com uma molécula de MDA para formar um cromóforo róseo que tem absorbância máxima em solução ácida entre 532 a 535 nm. O coeficiente de extinção deste cromóforo num comprimento de onda de 535nm, pH 1,0, é $1,53 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$. Após o período de incubação, o sobrenadante foi descartado e as células foram lisadas com 1mL de Triton X-100. Então, 250 μL do plasma foram adicionados a tubos de vidro e incubados em banho-maria a 37 °C por 1 h, seguido por adição de 400 μL de ácido perclórico a 35% para precipitar as proteínas. A mistura foi centrifugada a 1400 g por 10 minutos e 600 μL do sobrenadante serão adicionados a 200 μL de uma solução de tiobarbiturato de sódio a 1,2%. A mistura foi levada a banho-maria e aquecida a 95 °C por 30 min. Após resfriada, a absorbância foi medida em um leitor de microplacas a 560 nm (Draper, Hadley, 1990).

3.10.2 Dosagens hormonais

Para a verificação do estado hormonal foram dosados, em cada tempo, T4 livre, T3 total e TSH séricos.

T4 livre: O teste T4 livre foi realizado a partir do ensaio ADVIA Centaur, que se trata de um imunoenensaio competitivo que utiliza tecnologia quimioluminescente direta. A T4 livre presente na amostra do paciente compete com a T4 marcada com éster de acridínio no reagente Lite por uma quantidade limitada de anticorpo anti-T4 policlonal de coelho marcado com biotina. O anti-T4 marcado com biotina liga-se à avidina, que está covalentemente associada às partículas paramagnéticas na Fase sólida. Foram considerados normais (eutireoidismo) para o teste T4 livre os valores entre 0,61-1,48 ng/dL

T3 total: O teste de T3 total foi realizado a partir do método de quimioluminescência direta utilizando o ADVIA Centaur®. Trata-se de um imunoenensaio competitivo, o qual T3 na amostra do paciente compete com a T3 análoga, que está ligada por covalência a partículas paramagnéticas na Fase Sólida, por uma quantidade limitada de anticorpo

monoclonal anti-T3 de rato marcado com éster de acridina no Reagente Lite. Existe uma relação inversa entre a quantidade de T3 presente na amostra do paciente e a quantidade de unidades relativas de luz (RLUs) detectadas pelo sistema. Foram considerados normais (eutireoidismo) para o teste T3 os valores entre 0,70-2,04 ng/dL.

TSH: Foi dosado a partir do método de quimioluminescência utilizando o ensaio ADVIA Centaur XP, que se trata de um imunoenensaio do tipo sanduíche efetuado em dois locais, a qual utiliza quantidades constantes de dois anticorpos. O primeiro anticorpo, no Reagente Lite, é um anticorpo monoclonal anti-TSH de rato marcado com éster de acridina. O segundo anticorpo, na Fase Sólida, é um anticorpo policlonal anti-TSH de ovelha que está ligado por covalência a partículas paramagnéticas. A dosagem é calculada uma vez que existe relação direta entre a quantidade de TSH presente na amostra do paciente e a quantidade de unidades relativas de luz (RLUs) detectadas pelo sistema. Foram considerados normais (eutireoidismo) para o teste TSH os valores entre 0,34 – 5,60 mUI/L.

3.10.3 Dosagens bioquímicas

Para a verificação do perfil bioquímico dos pacientes foram dosados em cada tempo glicose (hexoquinase), colesterol total e triglicerídeos (enzimático), TGO, TGP (ISPC modificado). A determinação do HDL foi baseada na reação de precipitação das lipoproteínas de baixa densidade (LDL E VLDL), sendo dosado no HDL do sobrenadante. O valor de LDL foi calculado pela reação de Friedwald: $LDL = CT - HDL - (TG/5)$. O valor do VLDL foi calculado a partir dos triglicerídeos: $VLDL = TG/5$.

3.10.4 Perfil hematológico

Para a verificação do perfil hematológico foi dosado, em cada tempo, o hemograma dos pacientes, usando o método de citometria de fluxo.

3.11 Descarte do material biológico

O descarte do material biológico foi realizado segundo a resolução da diretoria colegiada – RDC 306, de 7 de dezembro de 2004 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

3.12 Análise Estatística

Foi realizada mediante a utilização do programa estatístico GraphPad Prism 6.0. Para analisar diferenças entre variáveis quantitativas contínuas nos dois tempos foi utilizado o teste t de Student pareado ou Wilcoxon, conforme o apropriado pela distribuição da variável. O nível de significância estatística considerado para todas as análises foi $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

4.1 Características Clínicas, Bioquímicas e Função Tireoidiana

Foram analisadas 25 mulheres diagnosticadas com hipotireoidismo primário. A média de idade foi $42 \pm 8,46$. As características clínicas ao início do estudo estão citadas no quadro 6.

Quadro 6. Características clínicas.

Variáveis	N	Média	Desvio padrão	Mínimo	Máximo
IDADE (anos)	25	42,00	8,46	23,00	56,00
TEMPO (semanas)	25	11,95	8,89	5,57	35,86
CA (cm)	24	90,35	9,17	70,00	105,00
IMC (Kg/m ²)	25	27,15	4,16	19,78	35,72
PAS (mmHg)	24	122,29	19,22	90,00	170,00
PAD (mmHg)	24	78,96	12,16	50,00	110,00
FC (bpm)	24	75,29	8,43	62,00	96,00

TEMPO: tempo médio de tratamento com LT4; CA: circunferência abdominal; IMC: índice de massa corporal; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; FC: frequência cardíaca.

Com relação ao diagnóstico do hipotireoidismo, 72% (18/25) dos casos foram por tireoidite de Hashimoto e 28% (7/25) pós-procedimento (iodo radioativo ou cirurgia). Quanto ao grau do hipotireoidismo, 32% (8/25) possuem TSH<10 mUI/L e 68% (17/25) possuem TSH>10mUI/L.

Com relação às comorbidades associadas, 48% apresentam síndrome metabólica, 28% obesidade e 12,5% HAS.

Quanto ao estilo de vida, 40% não praticam atividade física, não consomem bebida alcoólica 80%, 88% nunca fumaram e 76% negaram contato com fumaça de cigarro (fumante passivo). Quanto ao ciclo menstrual 80% (20/25) ainda não atingiram o climatério.

Quanto aos hormônios tireoidianos (TSH, T4L e T3), observa-se normalização dos níveis séricos com diferença estatística entre os valores antes e após o tratamento com L-T4 (tabela 1). O mesmo ocorre ao estratificarmos o grupo em hipotireoidismo moderado (TSH<10mUI/L; tabela 2) e grave (TSH>10mUI/L; tabela 3).

Tabela 1. Hormônios tireoidianos no hipotireoidismo e eutireoidismo.

	HIPO	EU	Valor de p
TSH (mUI/L)	31,75 ± 30,05	1,80 ± 1,18	<0,001*
T4L (ng/dL)	0,65 ± 0,28	1,07 ± 0,26	<0,001*
T3(ng/dL)	0,81 ± 0,33	1,01 ± 0,19	0,005*

Média ± desvio padrão. HIPO: Hipotireoidismo primário; EU: eutireoidismo; p: diferença entre as médias. TSH:tireotrofina; T4L:tiroxina livre; T3: triiodotironina. Valor de referência: TSH=0,34-5,6; T4L=0,61-1,48; T3=0,7-2,04. *Valor significativo p<0,05.

Tabela 2. Hormônios tireoidianos no hipotireoidismo com TSH<10mUI/L e em eutireoidismo.

	HIPO	EU	Valor de p
TSH (mUI/L)	7,73 ± 1,21	1,76 ± 1,12	<0,001*
T4L (ng/dL)	0,82 ± 0,10	1,04 ± 0,29	0,04*
T3(ng/dL)	1,01 ± 0,19	1,01 ± 0,16	0,98

Média ± desvio padrão. HIPO: Hipotireoidismo primário; EU: eutireoidismo; p: diferença entre as médias. TSH:tireotrofina; T4L:tiroxina livre; T3: triiodotironina. Valor de referência: TSH=0,34-5,6; T4L=0,61-1,48; T3=0,7-2,04. *Valor significativo p<0,05.

Tabela 3. Hormônios tireoidianos no hipotireoidismo com TSH>10mUI/L e em eutireoidismo.

	HIPO	EU	Valor de p
TSH (mUI/L)	40,66 ± 31,28	1,71 ± 1,12	<0,001*
T4L (ng/dL)	0,54 ± 0,32	1,02 ± 0,36	<0,001*
T3(ng/dL)	0,67 ± 0,37	0,95 ± 0,30	0,005*

Média ± desvio padrão. HIPO: Hipotireoidismo primário; EU: eutireoidismo; p: diferença entre as médias. TSH:tireotrofina; T4L:tiroxina livre; T3: triiodotironina. Valor de referência: TSH=0,34-5,6; T4L=0,61-1,48; T3=0,7-2,04. *Valor significativo p<0,05.

Quanto aos exames bioquímicos, observa-se que o tratamento do hipotireoidismo provocou redução significativa do colesterol total, LDL, triglicerídeos (tabela 4).

Tabela 4. Exames bioquímicos antes e depois do tratamento.

	HIPO	EU	Valor de p
GLI (mg/dL)	97,2 ± 19,9	97,72 ± 15,4	0,809
CT (mg/dL)	219,6 ± 44,3	181,92 ± 37,8	<0,0001*
HDL (mg/dL)	55,84 ± 12,65	52,84 ± 11,2	0,054
LDL(mg/dL)	131,26 ± 41,3	102,2 ± 28	<0,0001*
VLDL(mg/dL)	34,6 ± 16,98	28,03 ± 15,02	0,005*
TG(mg/dL)	187,41 ± 108,9	144,5 ± 76,45	0,006*
TGO(U/L)	37,56 ± 22,54	31 ± 14,66	0,179
TGP(U/L)	29,76 ± 18,38	30,12 ± 25,23	0,935
HB (g/dL)	12,68 ± 1,15	12,62 ± 1,08	0,73
LEUC (cel/mm ³)	6550 ± 2053	6354 ± 2026	0,4
NEUT (cel/mm ³)	3778 ± 1699	3733 ± 1727	0,85

Média ± desvio padrão. HIPO: hipotireoidismo; EU: eutireoidismo; GLI: glicose; CT: colesterol total, HDL: Lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; VLDL: lipoproteína de muito baixa densidade; TG: triglicerídeos; TGO: transaminase glutâmica oxalacética TGP: transaminase glutamina pirúvica; HB: hemoglobina; LEUC: leucócitos; NEUT: neutrófilos.

Valores de referência: GLI=60-99mg/dL, CT=desejável<200mg/dL, limítrofe=200-240mg/dL; HDL>60mg/dL; LDL= desejável<130mg/dL, limítrofe= 130-159mg/dL; VLDL<30mg/dL; TG= desejável=<130 mg/dL, limítrofe= 150-200 mg/dL; TGO=11-39 U/L; TGP=5-38 U/L; HB=11,5-15,7 g/dL; LEUC= 3.600-11.000 cel/mm³. NEUT=1.600-8.000 cel/mm³.

*Significância: p<0,05;

4.2 Estresse oxidativo

Os testes realizados para avaliar o estresse oxidativo foram CAT, MDA, SOD e nitrito/nitrato. Ao analisarmos os níveis dos marcadores no momento de hipotireoidismo e compararmos com eutireoidismo, observamos que a catalase foi a única que apresentou diferença estatística ($p=0,03$; tabela 5).

Tabela 5. Marcadores do estresse oxidativo no momento do hipotireoidismo e eutireoidismo (n=25).

	HIPO	EU	Valor de p
CAT (atv/min)	50,25 ± 12,75	63,77 ± 23,8	0,03*
MDA (10 ⁻³ M)	2,95 ± 0,52	2,79 ± 0,62	0,67
SOD (U/mL)	1305,5 ± 285,15	1297 ± 438	0,93
NO (mg/L)	36,57 ± 17,53	34,07 ± 14,90	0,18

Média ± desvio padrão. HIPO: hipotireoidismo; EU: eutireoidismo; valor de p: diferença entre as médias. CAT: catalase; MDA: malonaldeído; SOD: superóxido dismutase; NO: nitrito/nitrato. *Valor significativo $p<0,05$.

Ao considerarmos apenas os pacientes com TSH<10 mUI/L, observa-se que a catalase continua aumentada no grupo do eutireoidismo (tabela 6).

Tabela 6. Marcadores do estresse oxidativo no momento do hipotireoidismo com TSH<10mUI/L e eutireoidismo (n=8).

	HIPO	EU	Valor de p
CAT (atv/min)	52,46 ± 12,41	65,84 ± 19,28	0,04*
SOD (U/mL)	1355 ± 550	1390 ± 353,8	0,74
NO (mg/L)	27,28 ± 12,20	29,16 ± 10,97	1,0

Média ± desvio padrão. HIPO: hipotireoidismo; EU: eutireoidismo; valor de p: diferença entre as médias. CAT: catalase; MDA: malonaldeído; SOD: superóxido dismutase; NO: nitrito/nitrato. *Valor significativo $p<0,05$.

Ao considerarmos o grupo com TSH>10 mUI/L, observa-se que a catalase apresenta uma tendência de maiores concentrações no hipotireoidismo (tabela 7).

Tabela 7. Marcadores do estresse oxidativo no momento do hipotireoidismo com TSH>10mUI/L e eutireoidismo (n=17).

	HIPO	EU	Valor de p
CAT (atv/min)	46,48 ± 17,23	59,31 ± 29,34	0,07
SOD (U/mL)	1231,2 ± 397,4	1199,3 ± 483,2	0,79
NO (mg/L)	38,66 ± 20,15	34,96 ± 20,87	0,13

Média ± desvio padrão. HIPO: hipotireoidismo; EU: eutireoidismo; valor de p: diferença entre as médias. CAT: catalase; MDA: malonaldeído; SOD: superóxido dismutase; NO: nitrito/nitrato.

Quando analisamos o grupo com hipotireoidismo e síndrome metabólica (n=11), observamos que a catalase e NO apresentam diferença estatística entre os momentos de hipotireoidismo e eutireoidismo (tabela 8).

Tabela 8. Marcadores do estresse oxidativo no momento do hipotireoidismo e eutireoidismo no subgrupo com síndrome metabólica (N=11).

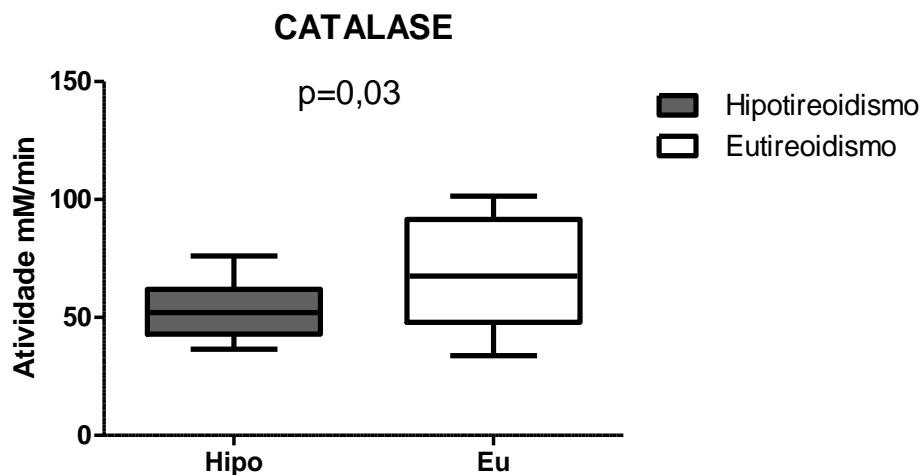
	HIPO	EU	Valor de p
CAT (atv/min)	53,67 ± 11,37	66,66 ± 24,44	0,04*
NO (mg/L)	34,07 ± 10,89	30,12 ± 10,12	0,03*
SOD (U/mL)	1314,5 ± 256,24	1338,4 ± 310,7	0,27

Média ± desvio padrão. HIPO: hipotireoidismo; EU: eutireoidismo; valor de p: diferença entre as médias. CAT: catalase; MDA: malonaldeído; SOD: superóxido dismutase; NO: nitrito/nitrato.

*Valor significativo p<0,05.

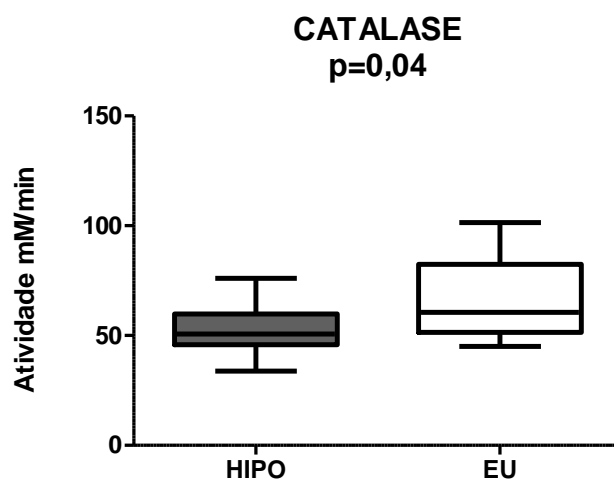
Observou-se que a atividade de CAT encontra-se significativamente reduzida no hipotireoidismo (gráfico 1).

Gráfico 1. Atividade da catalase em hipotireoidismo e em eutireoidismo (n=25)



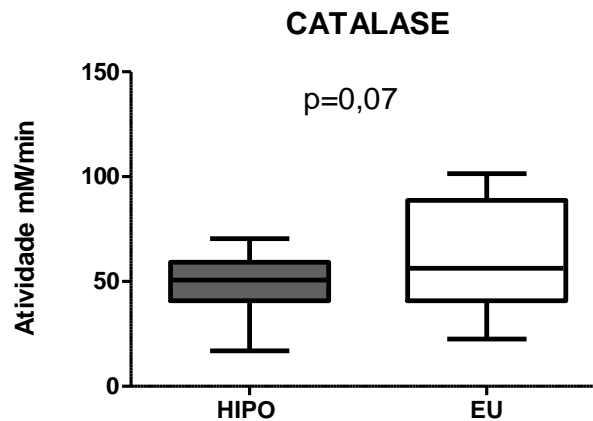
A atividade da catalase também encontra-se reduzida em pacientes com TSH<10 mUI/L quando comparado com o eutireoidismo (N=8; p=0,04) (Gráfico 02).

Gráfico 2. Atividade da catalase em hipotireoidismo moderado (TSH<10mUI/L) e em eutireoidismo (n=8).



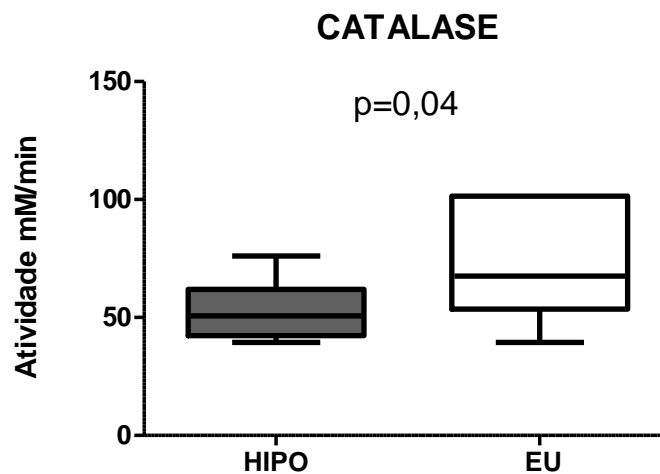
No grupo com TSH>10mUI/L, a atividade da catalase mostrou um comportamento semelhante, apresentando tendência a ser maior em eutireoidismo (N=17; p=0,072).

Gráfico 3. Atividade da catalase em hipotireoidismo grave (TSH>10mUI/L) e em eutireoidismo (n=17).



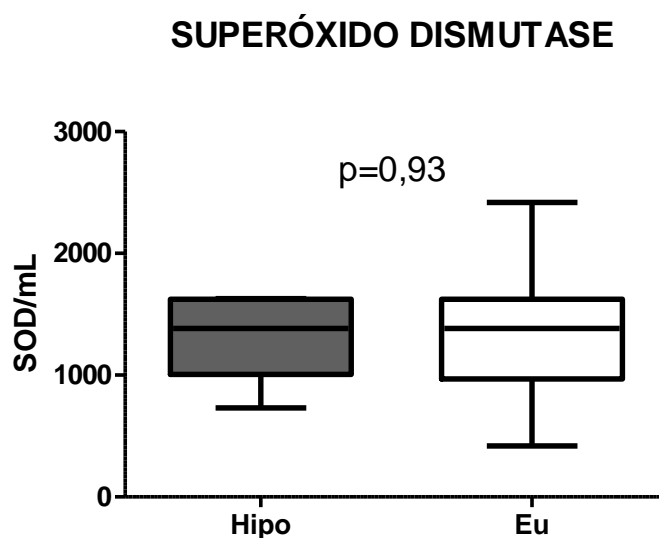
No grupo de pacientes diagnosticados com síndrome metabólica, a catalase apresentou-se significativamente diminuída no momento do hipotireoidismo (n=11; p=0,04) (Gráfico 4).

Gráfico 4. Atividade da catalase no momento de hipotireoidismo e eutireoidismo no grupo diagnosticado com Síndrome Metabólica (n=11).



A atividade da SOD não apresentou diferença nos momentos de hipotireoidismo e eutireoidismo (n=25; p=0,933)

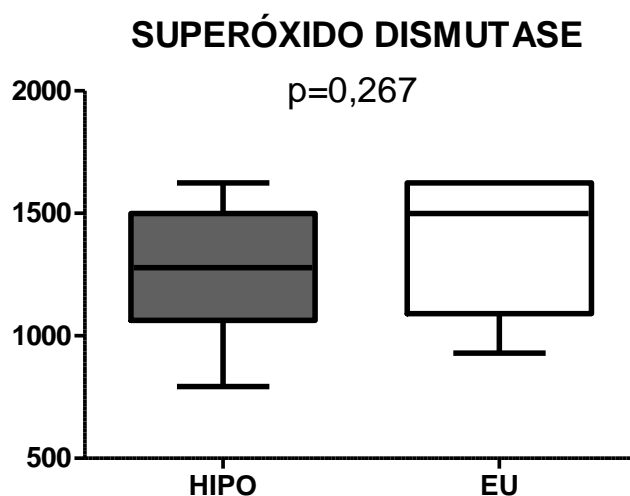
Gráfico 5. Atividade da superóxido dismutase em hipotireoidismo e em eutireoidismo (n=25).



A atividade da SOD também não foi diferente nos subgrupos com TSH<10mUI/L (n=8; p=0,74) e com TSH>10mUI/L (n=17; p=0,79).

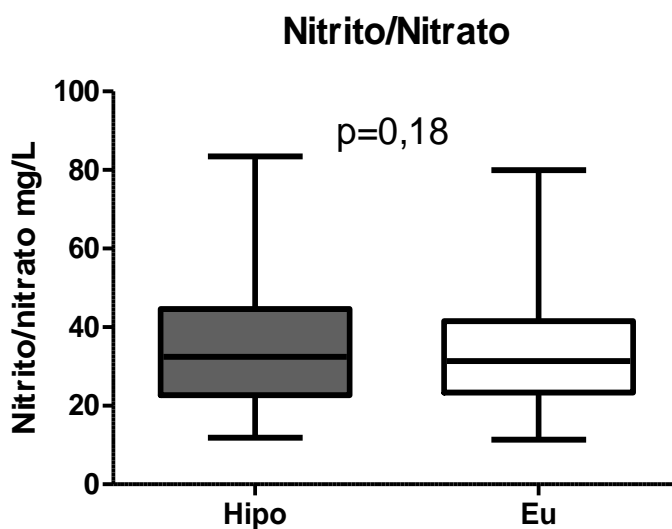
No grupo de hipotireoidismo com diagnóstico de síndrome metabólica a SOD também não apresentou diferença estatística entre os momentos de hipotireoidismo e eutireoidismo (n=11; p=0,267) (Gráfico 6).

Gráfico 6. Atividade da superóxido dismutase em pacientes com hipotireoidismo e síndrome metabólica (n=11).



Quanto à concentração de nitrito/nitrato, não houve diferença estatística entre os níveis presentes no hipotireoidismo e eutireoidismo (Gráfico 7).

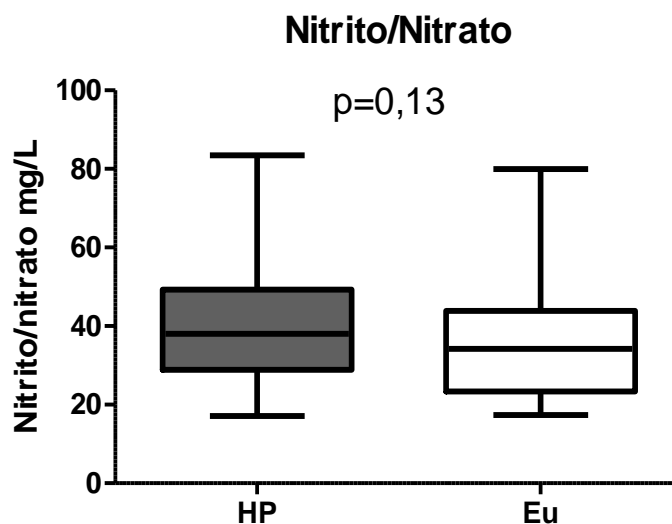
Gráfico 7. Nitrito/nitrato em hipotireoidismo e em eutireoidismo (n=25).



No subgrupo com TSH < 10 mUI/L não houve alteração nos níveis de NO (n=8; p=1,00). No grupo com TSH > 10 mUI/L não houve alteração significativa no valor de

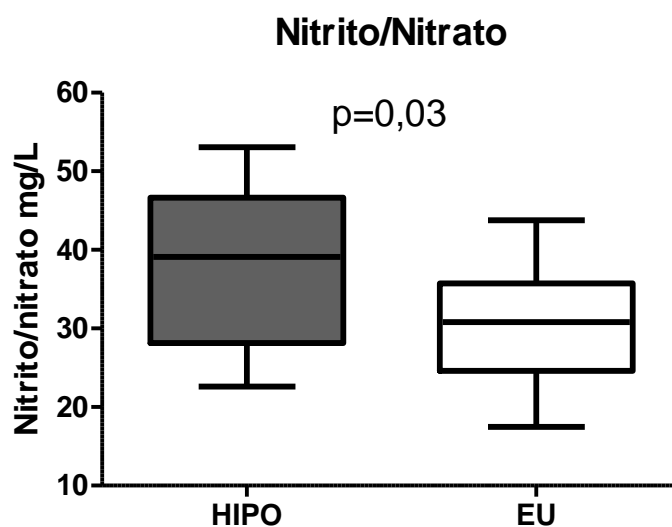
NO, porém observa-se uma tendência de aumento dos níveis de NO no hipotireoidismo (n=17; p=0,13).

Gráfico 8. Concentração de nitrito/nitrato no hipotireoidismo grave (TSH>10mUI/L) e no eutireoidismo (n=17).



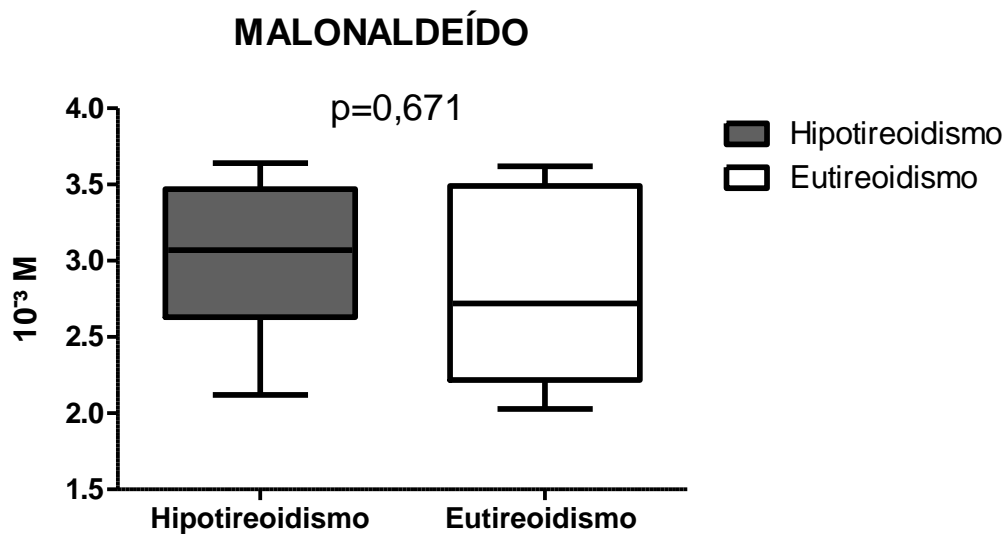
Quando analisamos a concentração de NO nos pacientes com hipotireoidismo e síndrome metabólica, observamos que os níveis de NO encontram-se significativamente aumentados no hipotireoidismo (Gráfico 9).

Gráfico 9. Concentração de nitrito/nitrato em pacientes com síndrome metabólica nos momentos de hipotireoidismo e eutireoidismo (n=11).



Para o teste do MDA, não se observou diferença entre as médias nos dois momentos ($p=0,671$; $N=8$; gráfico 10).

Gráfico 10. Malonaldeído no hipotireoidismo e no eutireoidismo.



5 DISCUSSÃO

Nossos dados sugerem que o marcador mais sensível do aumento do estresse oxidativo no hipotireoidismo é a atividade da catalase, ao passo que os outros marcadores dosados, SOD, NO, MDA, não apresentaram diferença conforme o estado tireoidiano no grupo inteiro estudado. Nosso estudo é um dos poucos que avaliou o estresse oxidativo nos mesmos pacientes em hipotireoidismo e em eutireoidismo.

Quanto ao NO, observa-se que não houve diferença estatística entre os momentos de hipotireoidismo e eutireoidismo ($p=0,18$), porém, ao dividirmos o grupo de acordo com o TSH, observa-se uma tendência de aumento nos níveis de NO no grupo com hipotireoidismo grave ($TSH>10\text{mUI/L}$, $p=0,13$). Quando dividimos o grupo por pacientes que possuem sinais clínicos de síndrome metabólica, observamos que os níveis de NO estão significativamente aumentados ($p=0,03$) no momento do hipotireoidismo. Esses fatos sugerem que a concentração de NO é melhor preditora de estresse oxidativo em situação de hipotireoidismo grave e síndrome metabólica.

Com relação à atividade da superóxido dismutase, não se observou diferença estatística entre os grupos em hipotireoidismo e em eutireoidismo. O mesmo ocorre ao subdividir o grupo de acordo com o hipotireoidismo em $TSH<10\text{mUI/L}$ e $TSH>10\text{mUI/L}$, o que demonstra que independente do grau de apresentação da doença, o hipotireoidismo não altera a atividade da SOD.

Com relação ao MDA, nossos dados demonstram que não houve diferença estatística entre os grupos. No entanto, a amostra de pacientes cujo MDA foi dosado foi menor ($n=8$).

5.1 Características clínicas

De acordo com as características clínicas, observa-se que o grupo estudado de pacientes com hipotireoidismo apresentou prevalência aumentada de fatores que predispõem ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares, como circunferência abdominal elevada, IMC compatível com sobrepeso, CT elevado e dislipidemia, além da elevada ocorrência de síndrome metabólica. Esses dados corroboram com estudos anteriores, os quais demonstraram uma correlação positiva entre TSH e IMC (NYRNES

et al., 2005). Assim, no hipotireoidismo há elevado risco de desenvolvimento de diabetes tipo 2, hipertensão e doenças cardiovasculares.

Quanto ao valor médio de circunferência abdominal, a população estudada apresentou elevados valores de CA, o que predispõe ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Um estudo publicado na Inglaterra demonstrou que mulheres em hipotireoidismo apresentam CA significativamente maior que mulheres em eutireoidismo (BOEKHOLDT *et al.*, 2010). No entanto, o valor médio de CA encontrado no nosso estudo foi superior aos demonstrados anteriormente e apresentou valores acima do considerado seguro pela AHA (HEALTH SERVICES, 2000).

Quanto à pressão arterial, a AHA considera como valor seguro para pacientes ≤ 60 anos, PA=140/90mmHg (TOUYZ ;DOMINICZAK, 2016). Em nosso estudo a PA média foi 122/79mmHg, demonstrando que o nosso grupo estava com a PA controlada espontaneamente ou por uso de anti-hipertensivo. A frequência cardíaca também encontra-se dentro do valor recomendado para idade e sexo no grupo estudado.

Nossos dados demonstram que o hipotireoidismo está associado a elevados níveis de colesterol total, LDL e triglicérides e que o tratamento é eficaz na redução desses níveis. No caso do CT e LDL, o tratamento reduziu aos valores recomendados. Um estudo realizado na Turquia demonstrou que o tratamento com LT4 em pacientes com hipotireoidismo diminuiu significativamente os níveis de CT, porém sem alteração significativa nos demais parâmetros (ATES *et al.*, 2016). Outros estudos compararam os exames bioquímicos de pacientes com hipotireoidismo ao grupo controle, demonstrando que a doença está relacionada com elevados níveis de CT, LDL e TG (BOEKHOLDT *et al.*, 2010; SANTI *et al.*, 2012).

5.2 Catalase

Em nosso estudo a atividade da catalase foi menor no hipotireoidismo. Nossos resultados corroboram com estudos anteriores, os quais demonstram que no hipotireoidismo o sistema de defesa antioxidante está diminuído, como no estudo realizado na Índia, o qual demonstrou menor atividade de CAT em pacientes com hipotireoidismo ao comparar com o grupo controle, bem como no estudo realizado em

Israel, o qual demonstrou menores níveis de CAT em homens com hipotireoidismo em relação ao grupo controle (CARMELI *et al.*, 2008; PASUPATHI ;LATHA, 2008).

A catalase é um antioxidante que está presente na maioria das células, órgãos e tecidos e em elevadas concentrações no fígado e eritrócitos. Quando encontra-se em elevadas concentrações, ela age neutralizando o H₂O₂ formado em O₂ e H₂O, assim, evita o dano provocado pelo peróxido, sobretudo a peroxidação lipídica, que provoca danos na membrana da célula. O mecanismo de ativação e inativação da catalase ainda não encontra-se bem elucidado. No caso de concentrações diminuídas, pode estar relacionada ao dano primário no retículo endoplasmático das células. Nesse contexto, uma vez que no hipotireoidismo a atividade da catalase encontra-se reduzida, nós hipotetizamos que isso se deve a uma falha no sistema de defesa antioxidante, provocada como resposta à redução do metabolismo em decorrência de TSH elevado.

5.3 Superóxido dismutase

Em nosso estudo o hipotireoidismo, independente do grau de apresentação da doença, não alterou a atividade da SOD. Resultados semelhantes foram encontrados em outros estudos (BASKOL, G *et al.*, 2007; ERDAMAR *et al.*, 2008; SANTI *et al.*, 2012). No entanto, há dados discordantes na literatura, os quais demonstraram redução de SOD no hipotireoidismo (CARMELI *et al.*, 2008; PASUPATHI ;LATHA, 2008), e outros demonstraram aumento de SOD no hipotireoidismo quando comparado com o momento do eutireoidismo (Baskol, G. *et al.*, 2007).

A SOD faz parte do sistema de antioxidantes enzimático e é classificada como um antioxidante de primeira linha que age catalisando a reação do radical superóxido, iniciador da cascata oxidativa, em H₂O₂. O mecanismo de ativação da SOD no hipotireoidismo ainda não está bem elucidado, uma vez que diferentes estudos demonstram dados discordantes. Não encontramos na literatura trabalhos semelhantes ao nosso estudo, no qual comparamos a atividade da SOD antes e após o tratamento e apenas em mulheres, o que diminui a interferência de outros aspectos. Nesse contexto, nós hipotetizamos que a SOD, apesar de compor a primeira linha de defesa, não é estimulada pelo hipotireoidismo, uma vez que trata-se de uma enzima constitutiva, a qual é estimulada apenas em concentrações elevadas de radical superóxido, assim, o hipotireoidismo não provocaria dano suficiente para o estímulo de SOD.

5.4 Nitrito/Nitrato

Com relação ao NO, em nosso estudo não houve diferença estatística entre os grupos com hipotireoidismo e eutireoidismo ($p=0,18$). No entanto, ao analisarmos o grupo com $TSH>10mUI/L$, percebemos uma tendência de maiores níveis de NO no hipotireoidismo grave ($p=0,13$). Esses dados corroboram com um estudo realizado na Argentina que demonstrou aumento nos níveis de NO em mulheres em hipotireoidismo clínico ao comparar tanto com um grupo controle (eutireoidismo), como com um grupo em hipotireoidismo subclínico. No caso do hipotireoidismo subclínico, porém, o aumento de NO não foi significativamente estatístico, aparecendo apenas como tendência (CORIA *et al.*, 2009). Outro estudo não encontrou diferença estatística entre os níveis de NO pré e pós-tratamento, porém, encontrou diferença ao comparar o grupo de hipotireoidismo com um grupo controle (BASKOL, G *et al.*, 2007).

Nossos dados demonstram que a concentração de NO no grupo com hipotireoidismo e síndrome metabólica encontra-se significativamente aumentada em relação ao momento de eutireoidismo ($p=0,03$). Estudos demonstram a relação entre os aspectos presentes na síndrome metabólica, como hipertensão arterial, dislipidemia, IMC e CA elevados e o estresse oxidativo. De modo que esses fatores aumentam a produção de oxidantes pelos adipócitos e por mediadores inflamatórios induzidos.

O NO é gerado partir da reação da L-arginina com a enzima oxido nítrico sintetase (NOS), presente em diversas células, incluindo plaquetas, células endoteliais, neutrófilos e macrófagos. Estudos demonstram que em situações inflamatórias há aumento de NO. O NO formado não possui toxicidade acentuada, porém, reage rapidamente com o radical superóxido, iniciador da cascata oxidativa, gerando o radical peroxinitrito, o qual é altamente reativo e está relacionado com dano celular (STICHTENOTH ;FRÖLICH, 1998; EVEREKLIOGLU *et al.*, 2002).

De acordo com esses resultados, nós hipotetizamos que o hipotireoidismo na sua forma grave $TSH>10mUI/L$ e na síndrome metabólica, está relacionado com uma condição inflamatória crônica, o que provoca o aumento dos níveis de NO. Nesse contexto, o tratamento com LT4 promove redução da concentração de NO, sugerindo que, do ponto de vista do estresse oxidativo, o tratamento é benéfico sobretudo nos casos mais graves. Além disso, esses dados sugerem que os mecanismos pelos quais o hipotireoidismo e a síndrome metabólica aumentam o estresse oxidativo sejam diferentes.

5.5 Malonaldeído (MDA)

Em nosso estudo os níveis de MDA não apresentaram diferença estatística entre os momentos de hipotireoidismo e eutireoidismo. Os dados presentes na literatura sobre os níveis de MDA em pacientes com hipotireoidismo são discordantes, com casos em que há aumento significativo de MDA (ÖZTÜRK *et al.*, 2012; SANTI *et al.*, 2012) e outros com redução significativa (BASKOL, G *et al.*, 2007; ERDAMAR *et al.*, 2008).

O MDA é um produto de decomposição da peroxidação lipídica, que ocorre a partir da reação de radicais livres com os ácidos graxos presentes na membrana celular. Assim, os níveis de MDA são diretamente proporcionais ao dano oxidativo (HALLIWELL ;CHIRICO, 1993). De acordo com os nossos resultados, nós hipotetizamos que o hipotireoidismo não aumenta a peroxidação lipídica. No entanto, esse resultado deve ser visto com cautela devido ao pequeno grupo estudado (n=8).

5.6 Vantagens e limitações do estudo


Os critérios de inclusão do nosso estudo foram mais rigorosos que a maioria dos trabalhos da literatura, o que resultou em um grupo de pacientes mais homogêneo. Analisamos apenas mulheres adultas, excluindo tabagistas, uso de antioxidantes, etilistas, grávidas e lactantes, ou que tivessem apresentado doença infecciosa nos últimos três meses. Além disso, a maioria dos estudos comparou grupos diferentes de indivíduos, ou seja, um grupo sadio e um grupo de pacientes com hipotireoidismo. O desenho do nosso estudo, avaliando os mesmos indivíduos nas duas situações, minimiza a influência de outros fatores que interferem no estresse oxidativo como obesidade e diabetes.

A maior limitação do nosso trabalho foi o número reduzido de pacientes e de testes dosados, sendo necessários novos estudos prospectivos realizados apenas em mulheres com um maior número de participantes na pesquisa. Outro fator importante seria a análise do perfil inflamatório, o que elucidaria a nossa hipótese de que o estresse oxidativo é secundário à inflamação crônica presente no hipotireoidismo grave.

6 CONCLUSÕES

De acordo com os nossos resultados, pode-se concluir que o hipotireoidismo aumenta o estresse oxidativo, sendo que a atividade da catalase é o marcador mais sensível. Quando o hipotireoidismo ocorre na forma grave e com síndrome metabólica, os níveis de NO aumentam, sugerindo mecanismos diferentes para o aumento do estresse oxidativo nessas duas condições clínicas. A terapia medicamentosa individualizada com LT4 melhorou o perfil lipídico, com redução do CT, LDL e TG e contribuiu para melhora do estresse oxidativo. Não houve impacto na função hematológica.

APÊNDICE

	UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ MESTRADO EM PATOLOGIA QUESTIONÁRIO PADRÃO PARA “AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO EM MULHERES DIAGNOSTICADAS COM HIPOTIREOIDISMO PRIMÁRIO”
---	--

-Objetivo: Avaliar os níveis de estresse oxidativo em mulheres diagnosticadas com hipotireoidismo primário.

DADOS GERAIS – N° do Prontuário:
Iniciais do paciente:
Idade:
Telefone(s):
Endereço:

Diagnóstico: () Hashimoto () Hipotireoidismo Pré-Radioiodoterapia

() Hipotireoidismo pós- cirúrgico

Condições clínicas relacionadas:

Co-morbidades relacionadas? () Sim () Não

*Se sim, quais?

() Diabetes () Dislipidemia () Hepatite

() Lúpus () Doença Autoimune –exceto Hashimoto

() Insuficiência Arterial Clínica () Síndrome Metabólica () Síndrome de Down

() Hipertensão () Síndrome de Turner () Outra _____

Peso: _____ Kg Altura: _____ cm IMC: _____

Circunferência abdominal: _____ cm Frequência cardíaca: _____ bpm

Pressão arterial sistólica: _____ mmHg Pressão arterial diastólica: _____ mmHg

Paciente já iniciou a fase de climatério?

() Sim, no ano _____. () Não

Paciente está gestante? () Sim () Não

Possui menstruação regular? () Sim () Não

*Se sim, qual a data da última menstruação? _____

Hábitos e estilo de vida

Faz uso de algum antioxidante?

() Sim _____

() Não

Realiza alguma atividade física? () Sim () Não

*Se sim, qual a frequência?

() 1x na semana () 2x na semana () 3x na semana

() 4x na semana () 5x ou mais na semana

Faz uso de bebida alcoólica? () Sim () Não

*Se sim, qual a frequência?

() Todos os dias () 1-4 x por semana () 1-3x no mês () Menos de 1x no mês

É Tabagista? () Sim () Não

Já fez uso de tabaco? () Sim () Não

*Se sim, responda as perguntas abaixo:

Por quanto tempo? _____

Há quanto tempo não faz mais uso de tabaco? _____

O paciente possui contato direto com a fumaça do cigarro (fumante passivo)? ()Sim ()Não

ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
CEARÁ/ PROPEAQ



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO NO HIPOTIREOIDISMO CLÍNICO E SUBCLÍNICO

Pesquisador: LAIS FARIAS MASULLO

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 49898015.9.0000.5054

Instituição Proponente: Departamento de Patologia

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.320.557

Apresentação do Projeto:

O estudo será tipo coorte com a finalidade de avaliar os níveis de estresse oxidativo em pacientes com hipotireoidismo acompanhados no serviço de Endocrinologia do HUWC ou provenientes do Hospital Haroldo Juaçaba (HHJ), no período de outubro 2015 a dezembro de 2016. O manejo clínico desses pacientes seguirá o protocolo padrão. Serão utilizadas amostras provenientes de 45 pacientes com hipotireoidismo, do sexo feminino acompanhados no ambulatório de Endocrinologia do HUWC ou provenientes do Hospital Haroldo Juaçaba (HHJ), após a obtenção do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) e preenchimento do questionário em anexo.

Critério de Inclusão:

Serão convidados a participar do estudo todos os pacientes do sexo feminino, com faixa etária de 18-59 anos, e em acompanhamento no ambulatório de Endocrinologia do Serviço de Endocrinologia e Diabetes do Hospital Universitário Walter Cantídio, da Universidade Federal do Ceará ou do HHJ com o diagnóstico de hipotireoidismo.

Critério de Exclusão:

Impossibilidade de obtenção do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE); tabagistas; etilistas; grávidas; lactantes e pacientes que estejam fazendo uso de algum antioxidante.

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000
Bairro: Rodolfo Teófilo CEP: 60.430-275
UF: CE Município: FORTALEZA
Telefone: (85)3366-8344 Fax: (85)3223-2003 E-mail: comape@ufc.br

7 REFERÊNCIAS

AL-GUBORY, K. H.; FOWLER, P. A.; GARREL, C. The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes. **Int J Biochem Cell Biol**, v. 42, n. 10, p. 1634-50, Oct 2010. ISSN 1357-2725.

ALI, I. et al. Gender differences in cancer susceptibility: role of oxidative stress. **Carcinogenesis**, v. 37, n. 10, p. 985-992, October 1, 2016 2016. Disponível em: < <http://carcin.oxfordjournals.org/content/37/10/985.abstract> >.

ANDERSON, R. A. et al. The relationships between post-prandial lipaemia, endothelial function and oxidative stress in healthy individuals and patients with type 2 diabetes. **Atherosclerosis**, v. 154, n. 2, p. 475-483, 2/1/ 2001. ISSN 0021-9150. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021915000004998> >.

ATES, I. et al. The impact of levothyroxine sodium treatment on oxidative stress in Hashimoto's thyroiditis. **European Journal of Endocrinology**, v. 174, n. 6, p. 727-734, June 1, 2016 2016. Disponível em: < <http://www.eje-online.org/content/174/6/727.abstract> >.

BAE, J.-H. et al. Postprandial hypertriglyceridemia impairs endothelial function by enhanced oxidant stress. **Atherosclerosis**, v. 155, n. 2, p. 517-523, 4// 2001. ISSN 0021-9150. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021915000006018> >.

BASKOL, G. et al. Oxidative stress and enzymatic antioxidant status in patients with hypothyroidism before and after treatment. **Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes**, v. 115, n. 8, p. 522-526, 2007. ISSN 0947-7349.

BASKOL, G. et al. Oxidative Stress and Enzymatic Antioxidant Status in Patients with Hypothyroidism before and after Treatment. **Exp Clin Endocrinol Diabetes**, v. 115, n. 08, p. 522-526, //

12.09.2007 2007. ISSN 0947-7349.

BAUMGARTNER, C.; BLUM, M. R.; RODONDI, N. Subclinical hypothyroidism: summary of evidence in 2014. **Swiss Med Wkly**, v. 144, p. w14058, 2014. ISSN 0036-7672.

BECKMAN, K. B.; AMES, B. N. The free radical theory of aging matures. **Physiol Rev**, v. 78, n. 2, p. 547-81, Apr 1998. ISSN 0031-9333 (Print)

0031-9333 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9562038> >.

BIONDI, B.; COOPER, D. S. The clinical significance of subclinical thyroid dysfunction. **Endocr Rev**, v. 29, n. 1, p. 76-131, Feb 2008. ISSN 0163-769X (Print)

0163-769x.

BLOCK, G. et al. Factors Associated with Oxidative Stress in Human Populations. **American Journal of Epidemiology**, v. 156, n. 3, p. 274-285, August 1, 2002. Disponível em: < <http://aje.oxfordjournals.org/content/156/3/274.abstract> >.

BOEKHOLDT, S. M. et al. Initial thyroid status and cardiovascular risk factors: The EPIC-Norfolk prospective population study. **Clinical endocrinology**, v. 72, n. 3, p. 404-410, 2010. ISSN 1365-2265.

BRABANT, G. et al. Physiological Regulation of Circadian and Pulsatile Thyrotropin Secretion in Normal Man and Woman. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 70, n. 2, p. 403-409, 1990. Disponível em: < <http://press.endocrine.org/doi/abs/10.1210/jcem-70-2-403> >.

BRENT, G. A.; WEETMAN, A. P. Chapter 13 - Hypothyroidism and Thyroiditis A2 - Melmed, Shlomo. In: POLONSKY, K. S.; LARSEN, P. R., et al (Ed.). **Williams Textbook of Endocrinology (Thirteenth Edition)**. Philadelphia: Content Repository Only!, 2016. p.416-448. ISBN 978-0-323-29738-7.

BRENTA, G. et al. Clinical practice guidelines for the management of hypothyroidism. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 57, p. 265-291, 2013. ISSN 0004-2730. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-27302013000400003&nrm=iso >.

BUONOCORE, G.; PERRONE, S.; TATARANNO, M. L. Oxygen toxicity: chemistry and biology of reactive oxygen species. **Semin Fetal Neonatal Med**, v. 15, n. 4, p. 186-90, Aug 2010. ISSN 1878-0946 (Electronic)

1744-165X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20494636> >.

CANARIS, G. J. et al. The Colorado thyroid disease prevalence study. **Archives of internal medicine**, v. 160, n. 4, p. 526-534, 2000. ISSN 0003-9926.

CANO-EUROPA, E. et al. Hypothyroidism induces selective oxidative stress in amygdala and hippocampus of rat. **Metab Brain Dis**, v. 23, n. 3, p. 275-87, Sep 2008. ISSN 0885-7490 (Print)

0885-7490 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18683039> >.

CARMELI, E. et al. Antioxidant status in the serum of persons with intellectual disability and hypothyroidism: a pilot study. **Res Dev Disabil**, v. 29, n. 5, p. 431-8, Sep-Oct 2008. ISSN 1873-3379 (Electronic)

0891-4222 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17869479> >.

CHIAMOLERA, M. I.; WONDISFORD, F. E. Thyrotropin-Releasing Hormone and the Thyroid Hormone Feedback Mechanism. **Endocrinology**, v. 150, n. 3, p. 1091-1096, 2009. Disponível em: < <http://press.endocrine.org/doi/abs/10.1210/en.2008-1795> >.

CHINNERY, P. F.; SCHON, E. A. Mitochondria. **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, v. 74, n. 9, p. 1188-1199, September 1, 2003 2003. Disponível em: < <http://jnnp.bmj.com/content/74/9/1188.abstract> >.

CORIA, M. J.; PASTRAN, A. I.; GIMENEZ, M. S. Serum oxidative stress parameters of women with hypothyroidism. **Acta Biomed**, v. 80, n. 2, p. 135-9, Aug 2009. ISSN 0392-4203 (Print)

0392-4203.

DA ROSA ARAUJO, A. S. et al. Increased resistance to hydrogen peroxide-induced cardiac contracture is associated with decreased myocardial oxidative stress in hypothyroid rats. **Cell Biochem Funct**, v. 28, n. 1, p. 38-44, Jan 2010. ISSN 0263-6484.

DANDONA, P. et al. The Suppressive Effect of Dietary Restriction and Weight Loss in the Obese on the Generation of Reactive Oxygen Species by Leukocytes, Lipid Peroxidation, and Protein Carbonylation. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 86, n. 1, p. 355-362, 2001. Disponível em: < <http://press.endocrine.org/doi/abs/10.1210/jcem.86.1.7150> >.

DIAMANTI-KANDARAKIS, E. et al. MECHANISMS IN ENDOCRINOLOGY: Nutrition as a mediator of oxidative stress in metabolic and reproductive disorders in women. **European Journal of Endocrinology**, September 27, 2016 2016. Disponível em: < <http://www.eje-online.org/content/early/2016/09/27/EJE-16-0616.abstract> >.

DU, X.-L. et al. Hyperglycemia-induced mitochondrial superoxide overproduction activates the hexosamine pathway and induces plasminogen activator inhibitor-1 expression by increasing Sp1 glycosylation. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 97, n. 22, p. 12222-12226, October 24, 2000 2000. Disponível em: < <http://www.pnas.org/content/97/22/12222.abstract> >.

DUNTAS, L. H. Thyroid disease and lipids. **Thyroid**, v. 12, n. 4, p. 287-93, Apr 2002. ISSN 1050-7256 (Print)

1050-7256.

ERDAMAR, H. et al. The effect of hypothyroidism, hyperthyroidism, and their treatment on parameters of oxidative stress and antioxidant status. **Clin Chem Lab Med**, v. 46, n. 7, p. 1004-10, 2008. ISSN 1434-6621 (Print)

1434-6621.

EVEREKLIOGLU, C. et al. Increased nitric oxide production in patients with Behcet's disease: is it a new activity marker? **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 46, n. 1, p. 50-54, 2002. ISSN 0190-9622.

FAHR, G. MYxedema heart. **Journal of the American Medical Association**, v. 84, n. 5, p. 345-349, 1925. ISSN 0002-9955. Disponível em: <
<http://dx.doi.org/10.1001/jama.1925.02660310019006>>.

FINAUD, J.; LAC, G.; FILAIRE, E. Oxidative Stress: Relationship with Exercise and Training. **Sports Medicine**, v. 36, n. 4, p. 327-358, 2006. ISSN 01121642. Disponível em: <
<http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=s3h&AN=20503303&lang=pt-br&site=ehost-live>>.

FLYNN, R. W. et al. Serum thyroid-stimulating hormone concentration and morbidity from cardiovascular disease and fractures in patients on long-term thyroxine therapy. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 95, n. 1, p. 186-93, Jan 2010. ISSN 0021-972x.

FLYNN, R. W. et al. Serum Thyroid-Stimulating Hormone Concentration and Morbidity from Cardiovascular Disease and Fractures in Patients on Long-Term Thyroxine Therapy. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 95, n. 1, p. 186-193, 2010. Disponível em: <
<http://press.endocrine.org/doi/abs/10.1210/jc.2009-1625>>.

FURUKAWA, S. et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. **Journal of Clinical Investigation**, v. 114, n. 12, p. 1752-1761, 03/17/received 10/19/accepted 2004. ISSN 0021-9738. Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC535065/>>.

GENCER, B. et al. <div xmlns="http://www.w3.org/1999/xhtml" xmlns:hwp="http://schema.highwire.org/Journal">Subclinical Thyroid Dysfunction and the Risk of Heart Failure EventsClinical Perspective</div>. **An Individual Participant Data Analysis From 6 Prospective Cohorts**, v. 126, n. 9, p. 1040-1049, 2012.

GERSCHMAN, R. et al. Oxygen Poisoning and X-irradiation: A Mechanism in Common. **Science**, v. 119, n. 3097, p. 623-626, 1954. Disponível em: <
<http://science.sciencemag.org/content/sci/119/3097/623.full.pdf>>.

GORRINI, C.; HARRIS, I. S.; MAK, T. W. Modulation of oxidative stress as an anticancer strategy. **Nat Rev Drug Discov**, v. 12, n. 12, p. 931-947, 12/print 2013. ISSN 1474-1776. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/nrd4002> >.

GROTTO, D. et al. Rapid quantification of malondialdehyde in plasma by high performance liquid chromatography-visible detection. **J Pharm Biomed Anal**, v. 43, n. 2, p. 619-24, Jan 17 2007. ISSN 0731-7085 (Print)

0731-7085 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16949242> >.

HALLIWELL, B.; CHIRICO, S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. **The American journal of clinical nutrition**, v. 57, n. 5, p. 715S-724S, 1993. ISSN 0002-9165.

HARMAN, D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. 1955.

_____. Role of Free Radicals in Aging and Disease. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 673, n. 1, p. 126-141, 1992. ISSN 1749-6632. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1749-6632.1992.tb27444.x> >.

HEALTH, U. D. O.; SERVICES, H. The practical guide: identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults. **Bethesda, MD, National Institutes of Health (NIH publ. no. 004084)**, 2000.

HOLLOWELL, J. G. et al. Serum TSH, T(4), and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). **J Clin Endocrinol Metab**, v. 87, n. 2, p. 489-99, Feb 2002. ISSN 0021-972X (Print) 0021-972x.

HUBER, G. et al. Prospective study of the spontaneous course of subclinical hypothyroidism: prognostic value of thyrotropin, thyroid reserve, and thyroid antibodies. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 87, n. 7, p. 3221-3226, 2002. ISSN 0021-972X.

JENA, S.; BHANJA, S. Hypothyroidism alters antioxidant defence system in rat brainstem during postnatal development and adulthood. **Neurol Sci**, v. 35, n. 8, p. 1269-74, Aug 2014. ISSN 1590-3478 (Electronic)

1590-1874 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24595920> >.

JOFFE, R. T. et al. Subclinical hypothyroidism, mood, and cognition in older adults: a review. **Int J Geriatr Psychiatry**, v. 28, n. 2, p. 111-8, Feb 2013. ISSN 0885-6230.

LIU, D. et al. A cross-sectional survey of relationship between serum TSH level and blood pressure. **J Hum Hypertens**, v. 24, n. 2, p. 134-8, Feb 2010. ISSN 0950-9240.

MARNETT, L. J. Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. **Mutat Res**, v. 424, n. 1-2, p. 83-95, Mar 8 1999. ISSN 0027-5107 (Print)

0027-5107 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10064852> >.

MCQUADE, C. et al. Hypothyroidism and Moderate Subclinical Hypothyroidism Are Associated with Increased All-Cause Mortality Independent of Coronary Heart Disease Risk Factors: A PreCIS Database Study. **Thyroid**, v. 21, n. 8, p. 837-843, 2011/08/01 2011. ISSN 1050-7256. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1089/thy.2010.0298> >. Acesso em: 2016/10/03.

MESSARAH, M. et al. Influence of thyroid dysfunction on liver lipid peroxidation and antioxidant status in experimental rats. **Exp Toxicol Pathol**, v. 62, n. 3, p. 301-10, May 2010. ISSN 0940-2993.

MINAMI, Y. et al. Association of thyroid hormones with obesity and metabolic syndrome in Japanese children. **J Clin Biochem Nutr**, v. 57, n. 2, p. 121-8, Sep 2015. ISSN 0912-0009 (Print)

0912-0009.

MOHANTY, P. et al. Both lipid and protein intakes stimulate increased generation of reactive oxygen species by polymorphonuclear leukocytes and mononuclear cells. **Am J Clin Nutr**, v. 75, n. 4, p. 767-72, Apr 2002. ISSN 0002-9165 (Print)

0002-9165.

MONZANI, F. et al. Effect of levothyroxine on cardiac function and structure in subclinical hypothyroidism: a double blind, placebo-controlled study. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 86, n. 3, p. 1110-5, Mar 2001. ISSN 0021-972X (Print)

0021-972x.

NISHIKAWA, T. et al. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. **Nature**, v. 404, n. 6779, p. 787-790, 04/13/print 2000. ISSN 0028-0836. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/35008121> >.

NYRNES, A.; JORDE, R.; SUNDSFJORD, J. Serum TSH is positively associated with BMI. **Int J Obes Relat Metab Disord**, v. 30, n. 1, p. 100-105, 09/27/online 2005. ISSN 0307-0565. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/sj.ijo.0803112> >.

O'BRIEN, T. et al. Hyperlipidemia in patients with primary and secondary hypothyroidism. *Mayo Clinic Proceedings*, 1993, Elsevier. p.860-866.

OCHS, N. et al. Meta-analysis: Subclinical Thyroid Dysfunction and the Risk for Coronary Heart Disease and Mortality. **Annals of Internal Medicine**, v. 148, n. 11, p. 832-845, 2008. ISSN 0003-4819. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.7326/0003-4819-148-11-200806030-00225> >.

ÖZTÜRK, Ü. et al. Oxidative stress parameters in serum and low density lipoproteins of Hashimoto's thyroiditis patients with subclinical and overt hypothyroidism. **International immunopharmacology**, v. 14, n. 4, p. 349-352, 2012. ISSN 1567-5769.

PASUPATHI, P.; LATHA, R. Free radical activity and antioxidant defense mechanisms in patients with hypothyroidism. **Thyroid Sci**, v. 3, n. 12, p. 1-6, 2008.

PEARCE, S. H. et al. 2013 ETA Guideline: Management of Subclinical Hypothyroidism. **Eur Thyroid J**, v. 2, n. 4, p. 215-28, Dec 2013. ISSN 2235-0640 (Print)

2235-0640 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24783053> >.

RODONDI, N. et al. Subclinical Thyroid Dysfunction, Cardiac Function, and the Risk of Heart FailureThe Cardiovascular Health Study. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 52, n. 14, p. 1152-1159, 2008. ISSN 0735-1097. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2008.07.009> >.

ROSARIO, P. W. et al. Thyroid nodules and differentiated thyroid cancer: update on the Brazilian consensus. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 57, n. 4, p. 240-64, Jun 2013. ISSN 1677-9487 (Electronic)

0004-2730 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23828432> >.

ROSENTHAL, M. J. et al. Thyroid failure in the elderly: microsomal antibodies as discriminant for therapy. **Jama**, v. 258, n. 2, p. 209-213, 1987. ISSN 0098-7484.

SALEHIDOOST, R. et al. The impact of acute hypothyroidism on lipid levels in athyreotic patients. **Journal of Research in Medical Sciences : The Official Journal of Isfahan University of Medical Sciences**, India, v. 17, n. 8, p. 724-727, 06/15/received

07/01/revised

07/07/accepted 2012. ISSN 1735-1995

1735-7136. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3687877/> >.

SALVATORE, D. et al. Chapter 11 - Thyroid Physiology and Diagnostic Evaluation of Patients With Thyroid Disorders. In: (Ed.). **Williams Textbook of Endocrinology (Thirteenth Edition)**. Philadelphia: Content Repository Only!, 2016. p.333-368. ISBN 978-0-323-29738-7.

SANTI, A. et al. Association of Lipids with Oxidative Stress Biomarkers in Subclinical Hypothyroidism. **International Journal of Endocrinology**, v. 2012, p. 856359, 11/29

07/05/received

10/17/accepted 2012. ISSN 1687-8337

1687-8345. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3517852/> >.

SAWIN, C. T. et al. The aging thyroid: increased prevalence of elevated serum thyrotropin levels in the elderly. **Jama**, v. 242, n. 3, p. 247-250, 1979. ISSN 0098-7484.

SHINOHARA, R. et al. Lipid peroxidation levels in rat cardiac muscle are affected by age and thyroid status. **J Endocrinol**, v. 164, n. 1, p. 97-102, Jan 2000. ISSN 0022-0795 (Print)

0022-0795.

SIES, H. Oxidative stress: introductory remarks. **Oxidative stress**, p. 1-8, 1985.

STICHTENOTH, D.; FRÖLICH, J. Nitric oxide and inflammatory joint diseases. **Rheumatology**, v. 37, n. 3, p. 246-257, 1998. ISSN 1462-0324.

TAN, Z. S.; VASAN, R. S. Thyroid function and Alzheimer's disease. **J Alzheimers Dis**, v. 16, n. 3, p. 503-7, 2009. ISSN 1387-2877 (Print)

1387-2877.

TOPIC, A. et al. Gender-related differences in susceptibility to oxidative stress in healthy middle-aged Serbian adults. **Biomarkers**, v. 21, n. 2, p. 186-193, 2016. ISSN 1354-750X.

TOUYZ, R. M.; DOMINICZAK, A. F. Hypertension Guidelines. **Is It Time to Reappraise Blood Pressure Thresholds and Targets?**, 2016. Disponível em: < <http://hyper.ahajournals.org/content/hypertensionaha/early/2016/01/25/HYPERTENSIO NAHA.116.07090.full.pdf> >.

TUNBRIDGE, W. et al. The spectrum of thyroid disease in a community: the Wickham survey. **Clinical endocrinology**, v. 7, n. 6, p. 481-493, 1977. ISSN 1365-2265.

VALENTE, O. V., FOF. Tratamento do hipotireoidismo baseado em evidência. **Diagn. Tratamento**, 2009.

VANDERPUMP, M. P. J. et al. The incidence of thyroid disorders in the community: a twenty-year follow-up of the Whickham Survey. **Clinical Endocrinology**, v. 43, n. 1, p. 55-68, 1995. ISSN 1365-2265. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2265.1995.tb01894.x> >.

VASCONCELOS, S. M. L. et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v. 30, p. 1323-1338, 2007. ISSN 0100-4042. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422007000500046&nrm=iso >.

VILLANUEVA, I.; ALVA-SANCHEZ, C.; PACHECO-ROSADO, J. The role of thyroid hormones as inductors of oxidative stress and neurodegeneration. **Oxid Med Cell Longev**, v. 2013, p. 218145, 2013. ISSN 1942-0994 (Electronic). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24386502> >.

WIERSINGA, W. M. Adult Hypothyroidism. In: DE GROOT, L. J.; BECK-PECCOZ, P., et al (Ed.). **Endotext**. South Dartmouth (MA), 2000.