

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPIRITO SANTO

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

ALANA ROCHA PUPPIM FRAGA

Análise histopatológica e ecográfica *post mortem* das tireóides de pacientes infectados pelo Vírus da Imunodeficiência Humana

Vitória

2011

ALANA ROCHA PUPPIM FRAGA

Análise histopatológica e ecográfica *post mortem* das tireóides de pacientes infectados pelo Vírus da Imunodeficiência Humana

Dissertação de mestrado apresentada ao Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo para obtenção do título de mestre em Doenças Infecciosas

Área de Concentração: Doenças Infecciosas

Orientador: Prof. Dr. Carlos Musso

Co-Orientador: Prof. Dr. Fausto Edmundo Lima Pereira

Vitória

2011

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)

(Biblioteca Setorial de Ciências da Saúde,

Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

---

Fraga, Alana Rocha Puppim, 1979-

F811a      Análise histopatológica e econográfica post mortem das  
tireóides de pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência  
humana / Alana Rocha Puppim Fraga. – 2011.

90f. : ilus.

Orientador: Carlos Musso.

Co-Orientador: Fausto Edmundo Lima pereira.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Espírito  
Santo, Centro de Ciências da Saúde.

1. Tireóide. 2. HIV. 3. Imunohistoquímica. 4. Inflamação. I.  
Musso, Carlos. II. Pereira, Fausto Edmundo Lima Pereira. III.  
Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências da  
Saúde. IV. Título.

CDU:61

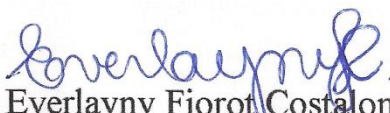
Nome: Fraga, Alana Rocha Puppim

Título: Análise histopatológica e ecográfica *post mortem* das tireóides de pacientes infectados pelo Vírus da Imunodeficiência Humana.

Dissertação de mestrado apresentada ao  
Centro de Ciências da Saúde da  
Universidade Federal do Espírito Santo  
para obtenção do título de mestre em  
Doenças Infecciosas

Aprovado em 22 de Agosto de 2011.

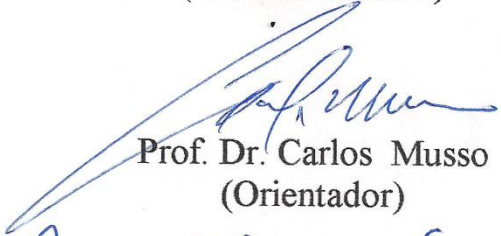
Banca Examinadora



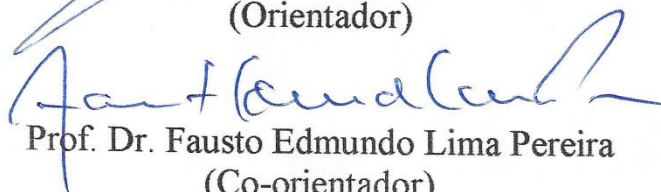
Prof. Dra. Everlayny Fioroti Costalonga  
(Membro Externo)



Prof. Dra. Angelica Espinosa Barbosa Miranda  
(Membro Interno)



Prof. Dr. Carlos Musso  
(Orientador)



Prof. Dr. Fausto Edmundo Lima Pereira  
(Co-orientador)

Ao meu irmão, pelo entusiasmo incessante e vigoroso incentivo;

Ao meu querido esposo, por todo carinho, atenção e compreensão fundamentais  
nessa jornada;

A minha tão amada mãe, pelo amor incondicional,  
pelas renúncias em favor dos meus sonhos e, principalmente, pelo exemplo de vida.

## **AGRADECIMENTO**

---

À Deus, sem o qual nada é possível.

A todos os Professores, médicos e funcionários do Departamento de Patologia do HUCAM pela cordialidade e profissionalismo.

Aos funcionários do SAME, em especial, Sandra e Tânia pela atenção e simpatia.

A Fátima e demais funcionários do Mestrado pelo acolhimento.

Aos membros do Centro de Ciências da Saúde e a todo corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Doenças infecciosas por tornarem possível esta realização.

A Diego pelo precioso empenho.

A Dra. Cléa pelo apoio, simpatia e bondade que irradiam a alma.

A Maria Carmen, por transmitir força com um simples olhar e pelas palavras de incentivo nos momentos certos.

E, principalmente, ao prezado Prof. Dr. Carlos Musso. Pela dedicação e competência ímpar, o meu mais sincero reconhecimento; por toda paciência e atenção dispensadas, minha eterna gratidão.

“ Uma mente que se rende a uma nova idéia nunca retorna ao seu estado original.”

Albert Einstein

## SUMÁRIO

|                                          |  |
|------------------------------------------|--|
| Lista de abreviaturas, símbolos e siglas |  |
| Lista de tabelas                         |  |
| Lista de gráficos                        |  |
| Lista de figuras                         |  |
| Resumo                                   |  |
| Summary                                  |  |

### 1 INTRODUÇÃO

|       |                                                                                        |    |
|-------|----------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1.1   | Alterações tireoidianas durante a infecção pelo HIV.....                               | 1  |
| 1.1.1 | Alterações funcionais antes da era HAART.....                                          | 1  |
| 1.1.2 | Alterações infecciosas.....                                                            | 4  |
| 1.1.3 | Alterações na era HAART.....                                                           | 6  |
| 1.2   | Imunidade e tireóide.....                                                              | 9  |
| 1.3   | Disfunção imune e infecção pelo HIV.....                                               | 12 |
| 1.4   | Avaliação histológica das doenças inflamatórias da Tireóide.....                       | 15 |
| 1.5   | Métodos de investigação da ecogenicidade tireoidiana para detecção de tireoidites..... | 18 |
| 1.6   | Métodos de estimativa do volume tireoidiano.....                                       | 21 |
| 2     | OBJETIVOS.....                                                                         | 23 |

### 3 MÉTODOS

|       |                                                              |    |
|-------|--------------------------------------------------------------|----|
| 3.1   | População e métodos.....                                     | 24 |
| 3.1.1 | Investigação prontuário.....                                 | 25 |
| 3.1.2 | Ultra-sonografia e análise da ecogenicidade da tireóide..... | 26 |
| 3.1.3 | Estimativa do volume tireoidiano.....                        | 28 |
| 3.1.4 | Biópsia e análise histológica da tireóide.....               | 28 |
| 3.1.5 | Método Imuno-histoquímico.....                               | 29 |
| 3.1.6 | Dimensão da área folicular.....                              | 32 |
| 3.1.7 | Quantificação do colágeno tipo I e colágeno tipo III.....    | 33 |

|     |                          |    |
|-----|--------------------------|----|
| 3.2 | Análise estatística..... | 35 |
|-----|--------------------------|----|

## 4 RESULTADOS

|      |                                                                                          |    |
|------|------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.1  | Sexo e faixa etária.....                                                                 | 36 |
| 4.2  | Fatores de Risco para doenças tireoidianas e função tireoidiana.....                     | 37 |
| 4.3  | Evidência sorológica de infecção crônica pelo vírus da hepatite B e C.....               | 39 |
| 4.4  | Status imune, uso de HAART e infecções oportunistas do grupo de infectados pelo HIV..... | 40 |
| 4.5  | Causas de óbito.....                                                                     | 42 |
| 4.6  | Tireoidite.....                                                                          | 45 |
| 4.7  | Detecção de microrganismos na tireóide .....                                             | 48 |
| 4.8  | Método Imuno-histoquímico.....                                                           | 51 |
| 4.9  | Alterações histopatológicas não inflamatórias.....                                       | 55 |
| 4.10 | Volume tireoidiano.....                                                                  | 59 |
| 4.11 | Ecogenicidade.....                                                                       | 60 |
| 4.12 | Dimensão área folicular.....                                                             | 62 |
| 4.13 | Quantificação do colágeno tipo I e colágeno tipo III.....                                | 64 |

## 5 DISCUSSÃO

|     |                                                                                          |    |
|-----|------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 5.1 | Análise crítica das amostras estudadas.....                                              | 67 |
| 5.2 | Fatores de Risco para doenças tireoidianas e função tireoidiana.....                     | 68 |
| 5.3 | Status imune, uso de HAART e infecções oportunistas do grupo de infectados pelo HIV..... | 69 |
| 5.4 | Causas de óbito.....                                                                     | 70 |
| 5.5 | Avaliação histológica da inflamação.....                                                 | 70 |
| 5.6 | Detecção de microrganismos na tireóide.....                                              | 72 |
| 5.7 | Método Imuno-histoquímico para antígeno CD4.....                                         | 73 |
| 5.8 | Método Imuno-histoquímico para antígeno CD8.....                                         | 73 |
| 5.9 | Método Imuno-histoquímico para antígeno CD20.....                                        | 74 |

|      |                                                           |    |
|------|-----------------------------------------------------------|----|
| 5.10 | Método Imuno-histoquímico para antígeno p24.....          | 75 |
| 5.11 | Alterações histopatológicas não inflamatórias.....        | 75 |
| 5.12 | Volume tireoidiano.....                                   | 76 |
| 5.13 | Ecogenicidade tireoidiana.....                            | 76 |
| 5.14 | Dimensão área folicular.....                              | 77 |
| 5.15 | Quantificação de colágeno tipo I e colágeno tipo III..... | 78 |
| 5.16 | Considerações finais.....                                 | 78 |
| 6    | CONCLUSÕES.....                                           | 80 |
| 7    | REFERÊNCIAS.....                                          | 81 |

## LISTAS DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

|                 |                                                |
|-----------------|------------------------------------------------|
| *               | estatisticamente significativa                 |
| Ag              | antígeno                                       |
| APC             | célula apresentadora de antígenos              |
| AVC             | Acidente Vascular Encefálico                   |
| BAAR            | bacilo álcool-ácido resistente                 |
| Ca              | câncer                                         |
| CDC             | Center for Disease Control                     |
| CID             | Código Internacional de Doenças                |
| cm              | centímetro                                     |
| CMV             | Citomegalovírus                                |
| D               | profundidade                                   |
| DNA             | ácido desoxirribonucleico                      |
| gp              | glicoproteína                                  |
| HAART           | terapia antir-retroviral altamente ativa       |
| H&E             | hematoxilina e eosina                          |
| HIV             | Vírus da imunodeficiência humana               |
| HUCAM           | Hospital Universitário Cassiano Antonio Moraes |
| ICC             | Insuficiência cardíaca                         |
| L               | largura                                        |
| LES             | Lupus Eritematoso Sistêmico                    |
| mL              | mililitro                                      |
| mm              | milímetro                                      |
| mm <sup>2</sup> | milímetro quadrado                             |
| MO              | microscópio óptico                             |
| ns              | estatisticamente não significativa             |

|       |                                              |
|-------|----------------------------------------------|
| OMS   | Organização Mundial de Saúde                 |
| PAAF  | punção aspirativa por agulha fina            |
| P     | probabilidade de erro                        |
| PBS   | tampão fosfato-salino                        |
| rT3   | 3,5,3' triiodotironina reversa               |
| SAME  | Serviço de Arquivo Médico e Estatística      |
| SARA  | Síndrome da Angústia Respiratória do Adulto  |
| SIDA  | Síndrome da Imunodeficiência Adquirida       |
| ssRNA | fita única de ácido ribonucleico             |
| T3    | 3,5,3' triiodotironina                       |
| T4    | 3,5,3',5' tetraiodotironina                  |
| T4L   | 3,5,3',5' tetraiodotironina livre            |
| TEP   | trombo-embolismo pulmonar                    |
| TBG   | globulina ligadora da tiroxina               |
| Tg    | tireoglobulina                               |
| Th    | T helper                                     |
| TPO   | tireoperoxidase                              |
| Trab  | anticorpo contra o receptor de TSH           |
| TSH   | hormônio estimulador da tireóide             |
| TSH-R | receptor do hormônio estimulador da tireóide |
| W     | comprimento                                  |

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                      |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1: Marcadores de função tireoidiana e <i>Status</i> imunológico nos infectados pelo HIV e portadores da Síndrome do Eutireoidiano Doente..... | 3  |
| Tabela 2: Casos reportados de envolvimento tireoidiano por agentes oportunistas em pacientes infectados pelo HIV.....                                | 6  |
| Tabela 3: Principais fármacos que alteram o funcionamento da glândula Tireóide com mecanismo de ação.....                                            | 8  |
| Tabela 4: Prevalência estimada de anticorpos antitireoidianos.....                                                                                   | 9  |
| Tabela 5: Principais anormalidades imunológicas presentes na AIDS.....                                                                               | 14 |
| Tabela 6: Correlação histológica funcional para tireoidite crônica.....                                                                              | 17 |
| Tabela 7: Sexo e Faixa etária dos grupos Infectados pelo HIV e Controle, números absolutos e percentuais.....                                        | 36 |
| Tabela 8: Resultados (p-valores) do teste de Shapiro-Wilk para a variável Idade.....                                                                 | 37 |
| Tabela 9: Fatores de risco para doenças tireoidianas segundo grupos.....                                                                             | 38 |
| Tabela 10: Fármacos que afetam a tireóide segundo grupos.....                                                                                        | 38 |
| Tabela 11: Marcadores de função tireoidiana segundo grupos.....                                                                                      | 39 |
| Tabela 12: Evidência sorológica de infecção crônica pelos Vírus da Hepatite B e C, números absolutos, percentuais e comparação entre grupos.....     | 39 |
| Tabela 13: Status imune dos Infectados pelo HIV, números absolutos e percentuais.....                                                                | 40 |
| Tabela 14: Uso de HAART no grupo HIV, números absolutos e percentuais.....                                                                           | 41 |
| Tabela 15: Anti-retrovirais utilizados.....                                                                                                          | 41 |
| Tabela 16: Infecções oportunistas no grupo HIV, números absolutos e percentuais.....                                                                 | 42 |
| Tabela 17: Distribuição e comparação das causas de óbito agrupadas no grupo infectados pelo HIV e controle.....                                      | 43 |
| Tabela 18: Sinais Microscópicos de tireoidite segundo grupos.....                                                                                    | 45 |
| Tabela 19: Categorização dos sinais inflamatórios segundo grupos.....                                                                                | 45 |

|                                                                                                                                                                                      |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 20: Distribuição de sinais microscópicos de inflamação no grupo de infectados pelo HIV segundo uso de HAART.....                                                              | 46 |
| Tabela 21: Categorização dos sinais de inflamação no grupo de infectados pelo HIV segundo uso de HAART, números absolutos e percentuais.....                                         | 46 |
| Tabela 22: Microrganismos suspeitos detectados em todas as tireóides da amostra.....                                                                                                 | 49 |
| Tabela 23: Resultados do teste de Shapiro-Wilk para as células CD4+, CD8+ interfolicular, CD8+ intraepitelial e CD20+.....                                                           | 53 |
| Tabela 24: Resultado do teste de Mann-Whitney para comparação das células CD4+, CD20+, CD8+ de distribuição interfolicular e CD8+ de distribuição intraepitelial segundo grupos..... | 53 |
| Tabela 25: Distribuição e comparação das alterações morfológicas foliculares segundo grupos.....                                                                                     | 55 |
| Tabela 26: Distribuição e comparação das alterações morfológicas colóide segundo grupos.....                                                                                         | 56 |
| Tabela 27: Distribuição e comparação de outras alterações histopatológicas dignas de nota segundo grupos.....                                                                        | 56 |
| Tabela 28: Resultados (p-valores) do teste de ShapiroWilk para a variável Volume tireoidiano.....                                                                                    | 59 |
| Tabela 29: Resultados dos testes de comparação do volume tireoidiano segundo grupos pelo teste t.....                                                                                | 60 |
| Tabela 30: Resultados dos testes de comparação do volume tireoidiano segundo sexo pelo teste t.....                                                                                  | 60 |
| Tabela 31: Resultados (p-valores) do teste de Shapiro-Wilk para a variável Ecogenicidade.....                                                                                        | 61 |
| Tabela 32: Resultados dos testes de comparação da ecogenicidade segundo grupos pelo teste t.....                                                                                     | 61 |
| Tabela 33: Resultados (p-valores) do teste de Shapiro-Wilk para a dimensão folicular.....                                                                                            | 62 |
| Tabela 34: Resultados dos testes de comparação da área folicular segundo grupos - Teste t para médias.....                                                                           | 63 |
| Tabela 35: Resultados da correlação da ecogenicidade com percentual de ocupação folicular pelo teste de Spearmen.....                                                                | 63 |
| Tabela 36: Resultados dos testes de comparação da dimensão de área folicular segundo sexo no grupo controle e HIV - Teste de Mann-Whitney.....                                       | 63 |

Tabela 37: Resultados (p-valores) do teste de Shapiro-Wilk para as variáveis Colágeno tipo I e Colágeno Tipo III.....65

Tabela 38: Resultados dos testes de comparação de Colágeno tipo I e colágeno tipo III segundo grupos - Teste não paramétrico de Mann-Whitney.....65

Tabela 39: Resultados da correlação da ecogenidade com quantidade de colágeno tipo I e colágeno tipo III pelo teste de Spearmen.....65

Tabela 40: Resultados dos testes de comparação de colágeno tipo I e colágeno tipo III segundo Sexo nos grupos - Teste não paramétrico de Mann-Whitney.....66

## LISTA DE GRÁFICOS

|                                                                                                  |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Gráfico 1: Distribuição da idade segundo grupos.....                                             | 37 |
| Gráfico 2: Distribuição percentual das 18 primeiras causas isoladas de morte segundo grupos..... | 44 |
| Gráfico 3: Distribuição células CD4+ segundo grupos.....                                         | 51 |
| Gráfico 4: Distribuição células CD8+ de localização interfolicular segundo grupos...             | 51 |
| Gráfico 5: Distribuição células CD8+ de localização intraepitelial segundo grupos..              | 52 |
| Gráfico 6: Distribuição células com o marcador CD20 segundo grupos.....                          | 52 |
| Gráfico 7: Distribuição do Volume segundo grupos.....                                            | 60 |
| Gráfico 8: Distribuição da Ecogenicidade segundo grupos.....                                     | 61 |
| Gráfico 9: Distribuição da área folicular segundo grupos.....                                    | 62 |
| Gráfico 10: Distribuição do Colágeno tipo I segundo grupos.....                                  | 64 |
| Gráfico 11: Distribuição do Colágeno tipo III segundo grupos.....                                | 64 |

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                         |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1. Patogênese das doenças tireoidianas auto-imunes.....                                                                                                                                          | 11 |
| Figura 2. Estrutura protéica e genética básica da partícula HIV.....                                                                                                                                    | 13 |
| Figura 3. História Natural da Infecção pelo HIV.....                                                                                                                                                    | 15 |
| Figura 4. Ecogenicidade tireoidiana em histograma de escala de cinza.....                                                                                                                               | 20 |
| Figura 5. Utra-sonografia da tireóide (corte axial) demonstrando região de interesse (marcada em amarelo) - área a ser analisada pelo image J.....                                                      | 27 |
| Figura 6. Histograma de análise de escala de cinza gerada pelo Image J a partir da área de interesse selecionada.....                                                                                   | 27 |
| Figura 7. Confecção do microarray.....                                                                                                                                                                  | 30 |
| Figura 8. Imagem tireóide ao microscópio óptico sob luz polarizada.....                                                                                                                                 | 32 |
| Figura 9. Área selecionada pelo Image J para aferição da área folicular a partir da Figura anterior.....                                                                                                | 33 |
| Figura 10. Imagem de tireóide ao microscópio óptico sob luz polarizada.....                                                                                                                             | 34 |
| Figura 11. Área processada pelo Image J para quantificação de colágeno a partir da área da Figura anterior.....                                                                                         | 34 |
| Figura 12A .Discreto infiltrado inflamatório de células mononucleares com distribuição predominantemente perivascular. H&E 400X.....                                                                    | 47 |
| Figura 12B .Granuloma epitelióide não necrosante em região interfolicular. H&E 400X.....                                                                                                                | 47 |
| Figura 12C. Intenso infiltrado inflamatório de células mononucleares com distribuição predominantemente interfolicular. H&E 400X.....                                                                   | 47 |
| Figura 12D. Linfócitos intraepiteliais esparsos no epitélio folicular. H&E 400X.....                                                                                                                    | 47 |
| Figura 12E. Foco inflamatório de células mononucleares com distribuição predominantemente perivascular. H&E 400X.....                                                                                   | 47 |
| Figura 12F. Foco inflamatório de células mononucleares com distribuição predominantemente interfolicular e associado a hipotrofia folicular e metaplasia oxifílica do epitélio folicular. H&E 400X..... | 47 |
| Figura 12G. Granuloma tuberculóide necrosante em região interfolicular. H&E. 400X.....                                                                                                                  | 47 |
| Figura 12H. Área de fibroesclerose interfolicular com escasso infiltrado de células mononucleares e acentuada hipotrofia folicular. H&E. 400X.....                                                      | 47 |

|                                                                                                                                                                                                                                |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 13A. Folículo tireoideano mostrando duas células foliculares com efeito citopático do CMV. H&E (400X).....                                                                                                              | 50 |
| Figura 13B. Detalhe de inclusões citomegálicas H&E (1000X).....                                                                                                                                                                | 50 |
| Figura 13C. Área de necrose liquefativa com diversas colônias de cocos hiperbasófilos consistentes com <i>Estafilococo</i> . H&E (40X).....                                                                                    | 50 |
| Figura 13D. Granuloma tuberculóide necrosante com algumas estruturas leveduriformes consistentes com <i>Paracoccidioides brasiliensis</i> . Granulomas com halo linfocitário indistinto. H&E (400X).....                       | 50 |
| Figura 13E. Numerosas hifas septadas permeando o interstício perivascular e penetrando nos folículos tireoideanos. Escassa ou nenhuma reação inflamatória exsudativa. H&E (400X).....                                          | 50 |
| Figura 13F. Detalhe do mesmo caso documentado na Figura 13E mostrando êmbolo séptico. H&E (1000X).....                                                                                                                         | 50 |
| Figura 13G. Numerosas estruturas leveduriformes com características de <i>Cryptococcus</i> sp. ocupando o interstício e o colóide. Granulomas frouxos, mal constituídos e com escasso componente linfocitário. H&E (400X)..... | 50 |
| Figura 13H. Impregnação argêntica pelo método de Grocott no mesmo caso descrito na figura 13G. (400X).....                                                                                                                     | 50 |
| Figura 13I. Impregnação argêntica pelo método de Grocott no mesmo caso descrito na figura E. (400X).....                                                                                                                       | 50 |
| Figura 13J. Estruturas leveduriformes intravasculares, algumas gemulantes, formando pequenos agrupamentos, sugestivos de <i>Candida</i> sp. Grocott (1000X).....                                                               | 50 |
| Figura 13K. Impregnação argêntica pelo método de Grocott no mesmo caso descrito na figura 13D revelando estrutura gemulante em “roda-de-leme”.(400X).....                                                                      | 50 |
| Figura 14A. Infiltrado inflamatório intersticial de células mononucleares mostrando negatividade para o antígeno p24. Método de imuno-histoquímica para Ag p24 do HIV. 400X.....                                               | 54 |
| Figura 14B. Mastócito intersticial corado pelo método de Giemsa. 1000X.....                                                                                                                                                    | 54 |
| Figura 14C. Mastócito mostrando marcação inespecífica no método de imuno-histoquímica para Ag p24. 1000X.....                                                                                                                  | 54 |
| Figura 14D. Células parafofoliculares com citoplasma granular mostrando marcação inespecífica no método de imuno-histoquímica para Ag p24. 400X.....                                                                           | 54 |
| Figura 14E. Células oxifílicas foliculares com citoplasma granular mostrando marcação inespecífica no método de imuno-histoquímica para Ag p24. 400X.....                                                                      | 54 |

|                                                                                                                                                                                              |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 14F. Célula interfolicular CD20+. 400X. Método de imuno-histoquímica para CD20.....                                                                                                   | 54 |
| Figura 14G. Agregado de células interfoliculares CD20+. 400X. Método de imuno-histoquímica para CD20.....                                                                                    | 54 |
| Figura 14H. Células interfoliculares perivasculares CD20+ e imunomarcção inespecífica nos cristais de oxalato no canto inferior da imagem. 400X. Método de imuno-histoquímica para CD20..... | 54 |
| Figura 14I. Células interfoliculares CD4+. 400X. Método de imuno-histoquímica para CD4.....                                                                                                  | 54 |
| Figura 14J. Células interfoliculares CD4+; detalhe da figura I. 1000X. Método de imuno-histoquímica para CD4.....                                                                            | 54 |
| Figura 14K. Célula intraepitelial CD4+. 1000X Método de imuno-histoquímica para CD4.....                                                                                                     | 54 |
| Figura 14L. Células interfoliculares CD8+. 1000X. Método de imuno-histoquímica para CD8.....                                                                                                 | 54 |
| Figura 14M. Célula intraepitelial CD8+. 1000X Método de imuno-histoquímica para CD8.....                                                                                                     | 54 |
| Figura 15A. Predomínio de folículos regulares na forma e tamanho e totalmente preenchidos por colóide homogêneo. H&E. 40X.....                                                               | 57 |
| Figura 15B. Predomínio de folículos com colóide denso e retraído. H&E. 40X.....                                                                                                              | 57 |
| Figura 15C. Folículos tireoidianos contendo colóide com aspecto “em alvo”. H&E. 400x.....                                                                                                    | 57 |
| Figura 15D. Folículos tireoidianos contendo colóide com grumos mais densos de aspecto granular e aparentemente sedimentados no interior do folículo.”. H&E. 400X.....                        | 57 |
| Figura 15E. Folículos tireoidianos contendo colóide de aspecto granular basofílico. H&E. 400x.....                                                                                           | 57 |
| Figura 15F. Colóide com diversos cristais espiculados de oxalato. H&E 400X.....                                                                                                              | 57 |
| Figura 15G. Folículos tireoidianos com epitélio folicular totalmente dissociado e “flutuando” no colóide. H&E. 400X.....                                                                     | 57 |
| Figura 15H. Foliculo tireoidiano contendo colóide granular e epitélio folicular com diverso grânulos castanho-escuros. H&E. 1000X.....                                                       | 57 |
| Figura 15I. Folículos tireoidianos contendo numerosos macrófagos espumosos. H&E. 400X.....                                                                                                   | 57 |

|                                                                                                                       |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 15J. Folículos tireoidianos contendo colóide vacuolizado na periferia. H&E. 400x.....                          | 57 |
| Figura 16A. Linfangite carcinomatosa em caso de carcinoma de células escamosas de pulmão. H&E.400X.....               | 58 |
| Figura 16B. Infiltração adiposa do interstício tireoidiano. H&E. (400X).....                                          | 58 |
| Figura 16C. Acentuada infiltração adiposa intersticial. H&E. (40X).....                                               | 58 |
| Figura 16D. Adenocarcinoma metastático, primitivo do ovário. H&E. 400X.....                                           | 58 |
| Figura 16E. Hiperplasia adenomatóide da tireóide. H&E. 400X.....                                                      | 58 |
| Figura 16F. Hiperplasia papilar do epitélio folicular em folículo dilatado. H&E. 400X.....                            | 58 |
| Figura 16G. Remanescentes do corpo último branquial. H&E. 400x.....                                                   | 58 |
| Figura 16H. Granuloma do tipo corpo estranho circundando folículo roto. H&E. 400X.....                                | 58 |
| Figura 16I. Folículo hipotróficos e alguns revestidos por epitélio folicular com metaplasia oxifílica. H&E. 400X..... | 58 |

## RESUMO

---

Fraga AR. *Análise histopatológica e ecográfica post mortem das tireóides de pacientes infectados pelo Vírus da Imunodeficiência Humana* [tese]. Vitória: Universidade Federal do Espírito Santo; 2011.

A célula folicular tireoidiana apresenta estreita interação com o sistema imune e é frequentemente agredida por diversos fatores que determinam resposta inflamatória crônica, geralmente do tipo autoimune. A imunodepressão provocada pela infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) determina alterações em diversos sistemas orgânicos, incluindo o endócrino. Para avaliar as consequências dessa imunodepressão sobre a reação inflamatória tireoidiana, foram estudadas 63 tireóides provenientes de autópsia de indivíduos infectados pelo HIV, dos quais 46 foram pareadas por idade e sexo com controles sem infecção pelo HIV. Além de dados de prontuário, fragmentos representativos da glândula tireoide foram analisados ao microscópio óptico associando-se a imuno-histoquímica para a identificação de antígeno viral p24, células CD4, CD8 e CD20. Foram aferidas medidas de volume e ecogenicidade glandular buscando correlacionar a estes achados as alterações histológicas. Não foi encontrada diferença estatística nas medidas de volume e ecogenicidade entre os grupos. Não se identificou marcação para o antígeno p24 em nenhuma das glândulas estudadas. Sessenta e sete por cento das tireóides, tanto do grupo HIV como do grupo controle, apresentaram infiltrado inflamatório com diminuição significativa de células CD4+ no grupo HIV. Observou-se a presença de microrganismos na tireoide do grupo HIV em 19% das amostras e em 3% do grupo controle. Células CD8+ intraepiteliais e interfoliculares foram identificadas em todas as glândulas estudadas. Células CD20+ foram identificadas sem diferença significativa entre os grupos. A detecção de inflamação pode estar relacionada, nos dois grupos estudados, à ocorrência de sepse e uso de drogas tireotóxicas. Concluímos que no grupo HIV a diminuição de células CD4+ no infiltrado inflamatório contribui para modificações da resposta inflamatória tireoidiana. A presença de células CD8+ intraepiteliais em todas as glândulas estudadas com discreto aumento no grupo HIV sugere que a migração destas células pode estar relacionada com alteração na relação das células CD4+/CD8+ semelhante ao que já se observa em outros sistemas orgânicos. A aferição do volume e ecogenicidade tireoidianas não foram capazes de identificar a ocorrência específica dos diferentes processos patológicos entre os grupos estudados.

DESCRITORES: 1.Tireóide 2.Vírus da Imunodeficiência Humana 3.Inflamação 4.Imuno-histoquímica 5.Ultra-sonografia

## SUMMARY

---

Fraga AR. *Thyroid ultrasound and histopathological postmortem analysis of HIV infected patients*. [dissertation]. Vitória: Universidade Federal do Espírito Santo; 2011.

The thyroid follicular cells have a close interaction with the immune system and are often injured by several factors determining autoimmune inflammatory response. Immunosuppression caused by Human Immunodeficiency Virus (HIV) infection provides changes in diverse organic systems, including the endocrine system. To assess the consequences of immunosuppression on the thyroid inflammation response, were examined 63 autopsy thyroid glands from patients infected with HIV, of whom 46 were matched by age and gender with patients without HIV infection. In addition to the medical records, representative thyroid gland fragments were analyzed under optic microscope. Also immunohistochemistry for identification of antigens p24, CD4, CD8 and CD20 were performed. Volume measures and glandular ecogenicity were taken correlating with microscopic findings in order to detect pathologic processes. There was no statistical difference in ecogenicity and volume measurements between the groups. The antigen p24 was not identified in any glands. Sixty seven per cent of thyroids sampled, either HIV group or control group, showed inflammatory infiltrate. There was a significant decrease in CD4+ cells in inflammatory infiltrate of HIV group. Microorganisms in thyroid tissue were observed in 19,04% of HIV group and 3% of control group. CD8+ intraepithelial and interfollicular cells were identified in all glands. CD20+ cells were identified with no significant difference between groups. The inflammatory response may be related, in both groups, of the occurrence of sepsis and thyrotoxic drugs. The reduction of CD4+ cells contributes to changes in the thyroid inflammatory response. The CD8+ intraepithelial cells detected in all glands with little predominance in HIV group may indicate changes in CD4+/CD8+ cells as observed in other organic systems. The measurement of thyroid volume and ecogenicity were not able to identify the specific occurrence of pathological processes between the groups.

DESCRIPTORS: 1.Human Immunodeficiency Virus2.Thyroid 3.Inflammation  
4.Immunohistochemistry 5.Ultrasound

## **1.1 Alterações tireoidianas durante a infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV)**

Os primeiros estudos de autópsia de pacientes com Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) realizados em São Francisco no ano de 1984 já evidenciavam alterações tireoidianas.<sup>1</sup> Naquela época, Dr. Kevin Welch, na Universidade de Medicina da Califórnia, conduziu o primeiro estudo com material de 36 autópsias de pacientes com SIDA buscando identificar as alterações provocadas por esta doença.<sup>1</sup> Na maioria, eram lesões de natureza infecciosa provocadas por agentes oportunistas, inclusive na glândula tireóide. As infecções oportunistas permaneceram como a principal causa de óbito nos indivíduos infectados pelo HIV até a instituição da Terapia Anti-retroviral Altamente Ativa também conhecida como era TARV (*Highly Active Antiretroviral Treatment*).<sup>2</sup>

### **1.1.1 Alterações funcionais antes da era TARV**

O estudo da função glândula tireóide de pacientes infectados pelo HIV foi motivo de interesse científico precoce. Os primeiros estudos sobre as alterações da função tireoidiana dos indivíduos infectados HIV foram publicados no final da década de 1980.<sup>3</sup> Naquela época, também na Universidade da Califórnia, Jonathan S. Lopresti descreveu um padrão característico de alteração da função tireoidiana: a) declínio progressivo dos níveis de Triiodotironina Reversa (rT3); b) elevação da Globulina Ligadora de Tiroxina (TBG) e c) manutenção dos valores do Hormônio Estimulador da Tireóide (TSH).<sup>3</sup> Esses dados, confirmados por estudos posteriores,<sup>4</sup> aumentaram a curiosidade sobre as alterações tireoidianas no curso da infecção pelo HIV.

Ao serem liberados pela tireóide, os hormônios tireoidianos circulam ligados a várias proteínas plasmáticas ou proteínas carreadoras, sendo a principal a Globulina Ligadora da Tiroxina (TBG) que, apesar de ter maior afinidade pela Tetraiodotironina

(T4), pode carrear também a Triiodotironina (T3).<sup>5</sup> Apenas cerca de 0,03% do T4 e 0,5% do T3 circulam na sua forma livre, ou seja, não ligada à proteínas plasmáticas.<sup>5,6</sup> São estas frações livres que, ao se ligarem aos receptores presentes nas células alvo, induzem a modificações de diversas atividades biológicas em vários tecidos orgânicos.<sup>7,8,9</sup>

Estudos prospectivos observacionais demonstraram que a tendência de elevação dos níveis da TBG durante o curso da infecção pelo HIV parece apresentar relação inversa com os níveis sanguíneos de linfócitos CD4.<sup>3,10</sup> Esse dado inclusive pode ser usado, segundo alguns autores, como um marcador específico da evolução da infecção pelo HIV.<sup>4,11,12,13,14</sup>

Os tecidos periféricos possuem um complexo enzimático capaz de transformar o T4 secretado no hormônio ativo T3.<sup>7</sup> A maior parte da atividade biológica dos hormônios tireoidianos se deve aos efeitos celulares do T3 livre (T3L) pois este possui afinidade até dez vezes maior pelo receptor do hormônio tireoidiano quando comparado ao T4. Existe ainda o T3 reverso (rT3) que é metabolicamente inativo.<sup>5</sup> As enzimas responsáveis pelo processamento ou metabolismo periférico dos hormônios tireoidianos são as Desiodases Tipo 1, Tipo 2 e Tipo 3.<sup>5</sup>

Com a evolução da imunodepressão provocada pela infecção pelo HIV, estudos apontam que o padrão de alteração funcional tireoidiana pode se assemelhar ao encontrado na Síndrome do Eutireoidiano Doente.<sup>11</sup> Nos indivíduos com SIDA em estágio avançado e que apresentavam níveis menores de T3 foi observado aumento da mortalidade. A partir de então, sugeriu-se a utilização da dosagem sérica do T3 como um marcador prognóstico para esse grupo de indivíduos.<sup>11</sup>

A patogênese da Síndrome do Eutireoidiano Doente possivelmente está relacionada à reações inflamatórias sistêmicas que levam à disfunção do metabolismo periférico dos hormônios tireoidianos. O mecanismo provável é a interferência na ação das Desiodases. Esta síndrome, inicialmente, se caracteriza por altos níveis de rT3 e, posteriormente, pode progredir para baixos níveis de T3L, T4L e T4 total. Nas fases finais da doença, baixos níveis de TSH também podem ser

observados e se relacionam ao aumento de mortalidade, inclusive nos portadores de SIDA.<sup>15</sup>

Existem diferenças entre as alterações funcionais tireoidianas nos infectados pelo HIV e naqueles com a Síndrome do Eutireoidiano Doente, principalmente em relação aos níveis rT3. Estes níveis encontram-se diminuídos nos infectados pelo HIV e elevados nos gravemente enfermos por outras causas. Possivelmente, nos infectados pelo HIV, existe uma diferença no metabolismo periférico dos hormônios tireoidianos ainda não elucidada.<sup>11</sup>

Quanto aos níveis de TSH, a maioria dos estudos da era pré TARV não evidenciou alteração significativa nos infectados pelo HIV ainda sem SIDA,<sup>16,17</sup> embora tenham sido relatados casos de hipotireoidismo central.<sup>18</sup> Estudos mais recentes revelam que há uma tendência de elevação dos níveis de TSH, ainda que dentro da faixa de normalidade, com a evolução da imunodepressão. Isto parece ser explicado pelo aumento da amplitude do pulso de secreção do TSH.<sup>11,19,20,21</sup>

As alterações da função tireoidiana nos portadores de infecção pelo HIV comparadas às alterações comuns à Síndrome do Eutireoidiano Doente estão resumidas na Tabela 1.

Tabela 1 –Marcadores de função tireoidiana e *Status* imunológico nos infectados pelo HIV e portadores da Síndrome do Eutireoidiano Doente.

|            | Síndrome Eutireoidiano Doente     | HIV estável   | HIV –SIDA           |
|------------|-----------------------------------|---------------|---------------------|
| <b>TSH</b> | Normal ou aumentado (recuperação) | Sem alteração | Sem alteração       |
| <b>T3</b>  | Muito aumentado                   | Sem alteração | Muito aumentado     |
| <b>T3R</b> | Aumentado                         | Aumentado     | Diminuído ou normal |
| <b>T4</b>  | Diminuído ou normal               | Sem alteração | Sem alteração       |
| <b>TBG</b> | Diminuído                         | Aumentado     | Muito aumentado     |

Adaptado de Sellmeyer, DE.<sup>15</sup>

### 1.1.2 Alterações infecciosas

A detecção de agentes oportunistas na tireóide é pouco relatada na literatura médica. A maioria dos estudos consiste em pequenas séries de casos de autópsia sem documentação *ante mortem* de função tireoidiana.<sup>21</sup> Quando investigada, os pacientes encontravam-se eutireoideus.<sup>21</sup>

No estudo realizado por Dr. Kevin Welch em 1984, das 35 tireóides analisadas, cinco apresentavam inclusão citomegálica, todas associadas a achados semelhante em pulmão.<sup>1</sup>

No ano seguinte, começaram a surgir relatos de casos de ocorrência de tireoidite diagnosticada em pacientes com SIDA cujo material obtido por punção aspirativa por agulha fina (PAAF) de tireóide revelou presença de agentes oportunistas tireoidianos de como *Cryptococcus sp.* confirmado por cultura.<sup>22,23</sup> No mesmo ano, houve um caso relatado de detecção de *Toxoplasma* em tireóide numa autópsia de uma mulher de 57 anos com infecção concomitante em Sistema Nervoso Central cursando com pan-hipopituitarismo.<sup>18</sup>

Em 1987, o estudo da Dra. Virgínia Livolsi demonstrou a presença de inclusão citomegálica típica em células foliculares tireoidianas em 4 casos de óbito por SIDA associados a citomegalovirose sistêmica.<sup>24</sup>

A partir de 1988, surgiram os primeiros relatos de caso de tireoidite por *Pneumocystis jiroveci*, sendo inicialmente descritos por Joel Gallant no Centro Médico de Connecticut.<sup>25</sup> Tratava-se de um caso de detecção do *Pneumocystis jiroveci* por punção aspirativa com agulha fina (PAAF) da tireóide. A paciente, de 38 anos e portadora de SIDA, referia edema e dor na topografia tireoidiana. Existem outros relatos de caso de tireoidite por *Pneumocystis jiroveci* em portadores de infecção pelo HIV.<sup>27</sup> Na sua maioria, estavam relacionados a presença de Pneumocistose sistêmica e, em alguns deles, também existia disfunção tireoidiana, principalmente com evolução para hipotireoidismo.<sup>14</sup> Até o ano de 2007, foram relatados 15 casos de tireoidite por *Pneumocystis jiroveci*.<sup>27,28,29</sup>

Em 1991 foi relatado, em exame de autópsia de um paciente com SIDA e infecção disseminada por *Aspergillus fumigatus*, o comprometimento da tireóide pelo fungo.<sup>28</sup> Em 1993 houve o primeiro relato de identificação desse fungo por PAAF de tireóide.<sup>30</sup>

Abscesso tireoidiano hematogênico foi descrito em uma mulher de 35 anos com SIDA causado por *Rhodococcus equi* isolado em cultura de secreção obtida por PAAF.<sup>20</sup>

Em 1998, foi publicado um estudo brasileiro<sup>19</sup> que analisou sistematicamente 47 tireóides obtidas de autópsias de pacientes que faleceram por SIDA entre os anos de 1994 a 1996. Nenhum paciente apresentava manifestações clínicas de doença tireoidiana. Nesse estudo foi detectado acometimento tireoidiano por agentes oportunista em 14 (29,7%) tireóides sendo mais frequentemente a Micobacteriose em 5 (17,2%) seguida por Histoplasmose em 4 (13,7%), Criptococose em 4 (13,7%) e 1 caso de Paracoccidioidomicose tireoidiana (3,4%).

Não se conhece a prevalência exata do acometimento tireoidiano por agentes oportunistas nos pacientes com SIDA. As séries de poucos casos revelam uma prevalência estimada que varia de 14 a 28%.<sup>2,15,19,21,27</sup>

Um outro estudo brasileiro publicado no ano 2000<sup>2</sup> analisou dados prospectivos de 100 autópsias de paciente portadores de SIDA antes da era TARV. Foram descritos vários de agentes infecciosos comprometendo a tireóide sendo os principais: a) *Mycobacterium tuberculosis* (23%); b) *Cytomegalovirus* (17%); c) *Mycobacterium avium* (5%); d) *Cryptococcus* (5%); e) *Pneumocystis jiroveci* (4%); f) *Histoplasma sp*; (2%) e g) *Candida albicans* (2%).

A Tabela 2 demonstra os casos de envolvimento tireoidiano por agentes oportunistas em pacientes com SIDA.

Tabela 2- Casos reportados de envolvimento tireoidiano por agentes oportunistas em pacientes infectados pelo HIV.

| Referência   | Microrganismo                                                     | Tipo material                               |
|--------------|-------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|
| 1,2,24       | <i>Cytomegalovirus</i>                                            | Glândula de Autópsia                        |
| 2,19,22,23   | <i>Cryptococcus sp</i>                                            | PAAF <i>in vivo</i>                         |
| 18           | <i>Toxoplasma</i>                                                 | Glândula de Autópsia                        |
| 2,14, 25, 27 | <i>Pneumocystis jiroveci</i>                                      | PAAF <i>in vivo</i><br>Glândula de Autópsia |
| 28,30        | <i>Aspergillus fumigatus</i>                                      | Glândula de Autópsia<br>PAAF <i>in vivo</i> |
| 20           | <i>Rhodococcus equi</i>                                           | PAAF <i>in vivo</i>                         |
| 2,19         | <i>Mycobacterium tuberculosis</i> ,<br><i>Mycobacterium avium</i> | Glândula de Autópsia                        |
| 2,19         | <i>Histoplasma capsulatum</i>                                     | Glândula de Autópsia                        |
| 19           | <i>Paracoccidioides brasiliensis</i>                              | Glândula de Autópsia                        |
| 2            | <i>Candida Albicans</i>                                           | Glândula de Autópsia                        |

Com o início da era TARV, os relatos de doenças oportunistas na tireóide tem se tornado menos freqüentes<sup>21</sup>, embora ainda sejam descritas entre os pacientes com infecções resistentes aos antirretrovirais e os que abandonam tratamento.<sup>29</sup>

### 1.1.3 Alterações na era TARV

O uso da TARV contribuiu para o declínio na incidência de infecção da glândula tireóide por agentes oportunistas mas, curiosamente, não alterou a incidência das alterações funcionais.<sup>29</sup> Isso tem gerado ainda maior atenção para as complicações endócrinas e metabólicas da terapia TARV incluindo a resistência periférica à insulina, dislipidemia, alterações na distribuição da gordura corporal e alterações reprodutivas.<sup>31</sup>

Os primeiros relatos de comprometimento da glândula tireóide na era TARV começaram a ser publicados a partir do ano de 1999.<sup>31</sup> Os estudos indicavam não apenas, a evolução para franco hipotireoidismo<sup>31,32,33,34</sup> como também o

hipertireoidismo.<sup>29,33,35,36</sup> Em 2003 foi conduzido, na França, um estudo transversal realizado com 350 pacientes com SIDA. Esse estudo evidenciou uma maior prevalência de hipotireoidismo subclínico na população de infectados pelo HIV. Nessa época, sugeriu-se a inclusão de investigação periódica da função tireoidiana nos pacientes infectados pelo HIV.<sup>37</sup>

Outros estudos também indicam uma maior prevalência de hipotireoidismo subclínico na população de infectados pelo HIV.<sup>38,39,40,41</sup> Os fatores de risco mais freqüentemente apontados são: a) sexo masculino; b) baixos níveis hematimétricos de linfócitos CD4<sup>32,42</sup> (geralmente menores do que 50 células/mm<sup>3</sup>) e c) infecção oportunista em atividade.

O uso de antirretrovirais também foi identificado como possível fator de risco para o desenvolvimento de disfunção tireoidiana.<sup>11,31,35,38,39,40</sup> Os antirretrovirais mais freqüentemente relacionados são Estavudine<sup>32,38,39</sup> e Efavirenz.<sup>34</sup> Apesar disso, ainda não há consenso sobre a influência direta do HIV ou dos antirretrovirais na função tireoidiana.<sup>40,42,43</sup>

Vários fármacos podem afetar direta ou indiretamente a função da tireóide. Os fármacos podem causar inibição de síntese ou secreção dos hormônios tireoidianos, alterar as proteínas carreadoras dos hormônios tireoidianos, causar disfunção do metabolismo extratireoidiano ou até afetar a secreção de TSH.

Os agentes que mais freqüentemente afetam a síntese ou secreção dos hormônios tireoidianos são: a) antitireoidianos (como Propiltiouracil e Metimazol); b) iodo em altas doses; c) lítio; d) etionamida; e) sulfonamidas (como Acetazolamida e Sulfadiazina); f) sulfoniluréias como a Clorpropamida, Salicilamidas, Cetoconazol, Talidomida, Interleucina-2 e g) Interferon.<sup>44</sup>

Fármacos que afetam o transporte dos hormônios tireoidianos no soro por alterarem o mecanismo de ligação com as proteínas carreadoras são: a) estrogênio; b) outros esteróides anabólicos; c) glicocorticóides; d) metadona; e) 5-fluorouracil; f) ácido nicotínico; g) salicilatos; h) sulfoniluréias; i) furosemida e j) heparina.<sup>44</sup>

A Tabela 3 sintetiza os principais fármacos com potencial de alterar o funcionamento da tireóide e seus respectivos mecanismos de ação.

Tabela 3 - Principais fármacos que alteram o funcionamento da glândula Tireóide com mecanismo de ação.

| Mecanismo Ação                                                                  | Fármacos                                                                                                                                                                                         |
|---------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Afetam a síntese ou secreção dos Hormônios Tireoidianos                         | Propiltiouracil, Metimazol, Iodo (em altas doses), Lítio, Etionamida, Sulfonamidas, Sulfoniluréias, Salicilamidas, Cetoconazol, Talidomida, Interleucina-2, Interferon                           |
| Afetam mecanismo de ligação dos Hormônios Tireoidianos às proteínas carreadoras | Estrogênio, Esteróides anabólicos, Glicocorticóides, Metadona, 5-fluorouracil, Ácido nicotínico, Salicilatos, Sulfoniluréias, Furosemida e Heparina                                              |
| Afetam ação Desiodases                                                          | Propranolol, Amiodarona, Iodo, Glicocorticóides, Clomipramina, Fenitoína, Carbamazepina, Fenobarbital, Colestiramina, Rifampicina, Sulfato ferroso, Hidróxido de alumínio, Sucralfato, Ritonavir |
| Alteram a secreção de TSH                                                       | Agentes dopaminérgicos, Cimetidina, Clomifeno, Espironolactona, Anfetaminas, Clopromazina, Biperideno, Haloperidol e Glicocorticóides                                                            |

Adaptado de Groot, LJ.<sup>44</sup>

Alguns estudos sugerem que as causas das alterações tireoidianas nos indivíduos infectados pelo HIV não são os fármacos mas, a ação do próprio sistema imune.<sup>42</sup> Admite-se que a reconstituição imune que ocorre com o tratamento do HIV, poderia levar a piora de doenças autoimunes antes quiescentes, por exemplo Lupus Eritematoso Sistêmico.<sup>31,45,46,47</sup> Atualmente tais manifestações são denominadas sinais da Síndrome da Reconstituição Imune.<sup>47,48</sup>

A manifestação mais comum da Síndrome da Reconstituição Imune é a reativação inflamatória de doenças infecciosas tais como: a) infecção pelos vírus B e C da hepatite; b) infecção pelo *Mycobacterium avium*; c) infecção pelo *Mycobacterium tuberculosis* e d) infecção pelo *citomegalovirus*.<sup>49</sup> Atualmente, acredita-se que esta síndrome ocorra em aproximadamente 30-40% dos indivíduos que iniciam esquema TARV, principalmente aqueles que possuem níveis hematimétricos de linfócitos CD4+ menores do que 50 células/mm<sup>3</sup>, antes do início do tratamento.<sup>47</sup> A segunda manifestação mais comum da Síndrome de Reconstituição Imune são aquelas relacionadas às doenças autoimunes.<sup>49</sup>

A recuperação imunológica após o tratamento com TARV é incompleta não resultando na restauração completa da resposta imune, podendo ocorrer a ativação de clones autoimunes com o potencial de agressão à tireóide.

A interação entre agressão pelo HIV, agentes oportunistas, tireotoxicidade por drogas e disfunções geradas por fatores ambientais e a disfunção imune torna complexo o entendimento de como podem se apresentar as repercussões tireoidianas dos pacientes infectados pelo HIV.

## 1.2 Imunidade e tireóide

O papel do sistema imunológico humano normal é varrer diariamente um universo antigênico, com milhares de possibilidades discernindo o *self* (próprio) e o *non-self* (não próprio). Para a maioria dos órgãos, normalmente não deve ocorrer o desenvolvimento de clones imunológicos auto-reativos mas, para outros, como a tireóide, esta observação é reconhecidamente comum.<sup>50,51</sup> A prevalência de autoanticorpos contra a glândula estão demonstrados na Tabela 4.<sup>52,53,54,55</sup>

Tabela 4 - Prevalência estimada de anticorpos anti-tireoidianos.

| Grupo                                                  | Anti-receptor TSH (%) | Anti-tireoglobulina (%) | Anti-TPO (%) |
|--------------------------------------------------------|-----------------------|-------------------------|--------------|
| População geral                                        | 0                     | 5-20                    | 8-27         |
| Grávidas                                               | 0                     | 14                      | 14           |
| Parentes de portadores de doença tireoidiana autoimune | 0                     | 30-50                   | 30-50        |
| Portadores de doença tireoidiana autoimune             | 10-20                 | 80-90                   | 90-100       |

Adaptado de Davies, TF.<sup>52</sup>

Os fatores de risco para agressão autoimune da tireóide são: a) tabagismo; b) ingestão excessiva de iodo; c) gravidez; d) radiação ionizante; e) predisposição genética; f) estresse e g) excesso de hormônios sexuais.<sup>52</sup>

Quando se correlaciona a presença desses autoanticorpos no soro com a identificação de lesão tireoidiana, observa-se infiltrado linfocitário na tireóide em cerca de 95% dos indivíduos com positividade para 2 anticorpos.<sup>9,56</sup> Em inquéritos populacionais observa-se que 4-10% da população global apresenta tireoidite autoimune clinicamente evidente pelo quadro de hipotireoidismo.<sup>52,54,57</sup> Cerca de 90% do parênquima tireoidiano deve estar comprometido para que esteja instalado o hipotireoidismo.<sup>9</sup>

A tireoidite autoimune é a causa mais comum de hipotireoidismo nas regiões iodo-suficientes, afetando mais freqüentemente mulheres e idosos.<sup>52</sup>

A complexa interação entre fatores genéticos e ambientais pode resultar na ativação de células B ou T autorreativas determinando resposta inflamatória excessiva e inapropriada que, dependendo do perfil de citocinas produzidas, pode ser predominantemente T helper (Th) 1 ou Th2.<sup>55</sup> Na tireoidite de Hashimoto, por exemplo, pode existir predominância de resposta Th1, favorecendo a imunidade celular<sup>56</sup> e desenvolvimento da apoptose da célula folicular. Na doença de Graves, pode existir predomínio de resposta humoral com perfil de resposta Th2.<sup>54,57</sup> Tais mecanismos estão resumidos na Figura 1.

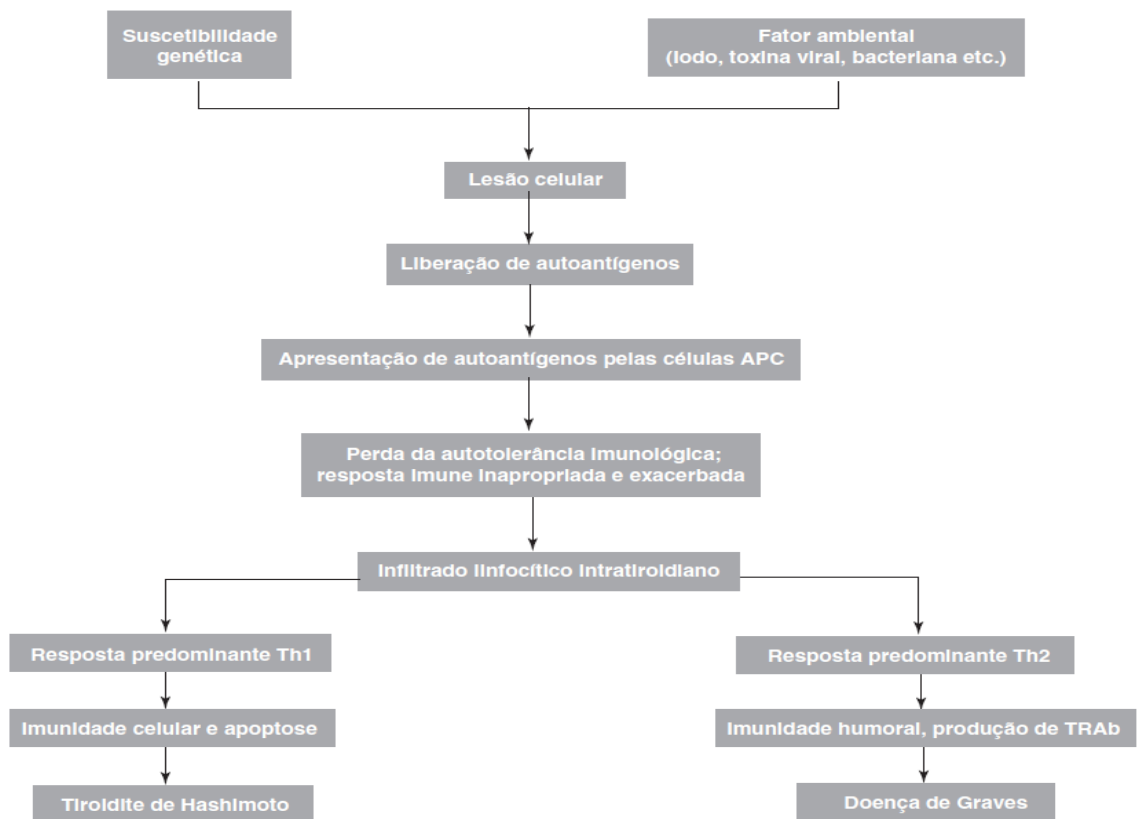


Figura 1. Patogênese das doenças tireoidianas autoimunes. APC: Célula apresentadora de antígeno. Th: T helper. Trab: anticorpo contra receptor do TSH. Sgarbi,JA; Maciel, RM.<sup>54</sup>

Mesmo para as formas mais estudadas de doenças tireoidianas autoimunes, o mecanismo determinante da agressão e destruição da célula folicular ainda não foi totalmente elucidado. Acredita-se que a destruição possa ser mediada por três mecanismos básicos.<sup>6</sup> O primeiro, via ação direta de perforinas derivadas das células T, leva a formação de poros na superfície da célula folicular culminando com sua morte. O segundo, por ativação por linfócitos CD8 expressando Fas ligante com indução da apoptose pelo sistema Fas ou, ainda, indução dessa mesma via apoptótica por interleucinas (principalmente interleucina-1). O terceiro mecanismo proposto seria por ação direta de citocinas levando a incapacidade funcional das células foliculares tireoidianas.<sup>6</sup>

A célula folicular tireoidiana é capaz de expressar moléculas do complexo de histocompatibilidade de classe II em algumas situações.<sup>58</sup> Isso permite que, em alguns momentos, a célula folicular funcione de forma semelhante a uma célula apresentadora de antígeno (APC). Entretanto, sendo uma APC não-clássica, não

pode fornecer todos os sinais necessários de co-estimulação para ativação adequada de certos linfócitos T.<sup>6</sup> As consequências desse fenômeno ainda não são totalmente conhecidas.

### **1.3 Disfunção imune e infecção pelo HIV**

Desde o início da epidemia da infecção pelo HIV mais de 60 milhões de pessoas foram infectadas e quase 30 milhões de pessoas morreram de causas relacionadas ao vírus.<sup>59</sup>

Com a introdução da TARV, tanto a mortalidade da SIDA quanto as internações diminuíram em 60 a 80 por cento.<sup>60</sup> Apesar da ausência de uma cura, a história natural da doença foi radicalmente alterada.<sup>61</sup>

A estrutura da partícula do HIV é semelhante a de outros Retrovírus cujo genoma é composto por duas cópias de moléculas de fita única de ácido ribonucleico (ssRNA) carreando os genes gag, pol, env.<sup>62,63,64,65</sup>

Também à semelhança de outros Retrovírus, o gene gag é responsável pela tradução das proteínas que matém a estrutura do núcleo (p24, p7, p6) e matriz (p17) e o gene env codifica as glicoproteínas (gp) gp120 e gp41, presentes no envelope viral com função de reconhecimento de receptores celulares de superfície. O gene pol codifica enzimas essenciais para a replicação viral.<sup>62,65</sup> A Figura 2 demonstra a estrutura básica do HIV.

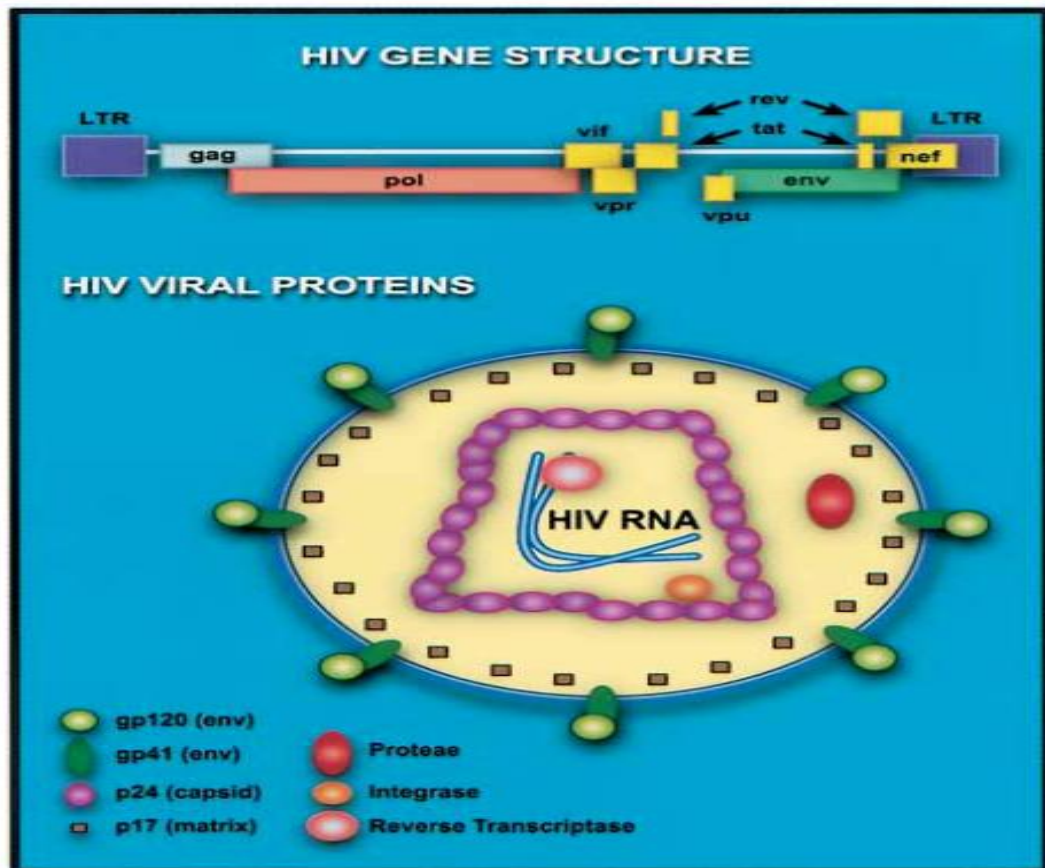


Figura 2. Estrutura protéica e genética básica do HIV. Fanales-Belasio,E.<sup>62</sup>

As proteínas estruturais do HIV como, por exemplo a p24, podem ser detectadas por vários métodos diagnósticos, incluindo o método imuno-histoquímico que serve como método de diagnóstico tecidual dessa infecção.<sup>66,67,68,69,70</sup>

O HIV tem tropismo por células que possuem a glicoproteína CD4, que é expressa na superfície celular de cerca de 60% dos linfócitos T circulantes, em células T precursoras, em monócitos/macrófagos, eosinófilos, células dendríticas e células da microglia do sistema nervoso central.<sup>62</sup> A ligação da gp120 com o CD4 permite a invasão do HIV nas células hospedeiras.<sup>62,63,65,71</sup>

Após a entrada do vírus, ocorre a transcrição reversa do material genético viral em DNA e integralização do seu genoma ao genoma da célula hospedeira.<sup>62,65</sup> Pode ocorrer um grande período de latência ou pronta utilização do maquinário enzimático da célula hospedeira para fabricação de novos vírus. Esse último processo culminará com a morte da célula.<sup>72</sup>

O resultado, a longo prazo, dessa infecção será o decréscimo numérico das células do sistema imune, principalmente as que expressam CD4, o que contribui decisivamente para a imunodeficiência. A imunodeficiência é potencializada pela disfunção dos demais componentes do sistema imune, que são interdependentes, resultando em diversas anormalidades imunológicas resumidas pela Tabela 5.<sup>65</sup>

Tabela 5- Principais anormalidades imunológicas presentes na SIDA.

| <b>Celular</b>                                                                |
|-------------------------------------------------------------------------------|
| Decréscimo do teste de resposta cutânea de hipersensibilidade retardada.      |
| Linfócitos CD4: linfopenia, decréscimo no número do subtipo não diferenciado. |
| Monócitos: diminuição fagocitose, quimiotaxia, expressão citocinas.           |
| Neutrófilos: neutropenia, diminuição fagocitose.                              |
| <i>Natural killers</i> : diminuição da citotoxicidade.                        |
| <b>Humoral</b>                                                                |
| Linfócitos B: diminuição                                                      |
| Perda resposta anticorpo específica                                           |

Adaptado de Chinen, JC.<sup>65</sup>

A SIDA é então o resultado da replicação continuada do HIV e consequente destruição imune mediada principalmente pelo decréscimo de células CD4, sendo a carga viral o mais importante preditor de progressão da doença nos estágios iniciais da infecção; e a contagem de células CD4 é um prognosticador importante na fase tardia da doença.<sup>62</sup> Classicamente, a história natural desse processo pode ser ilustrada pela Figura 3.

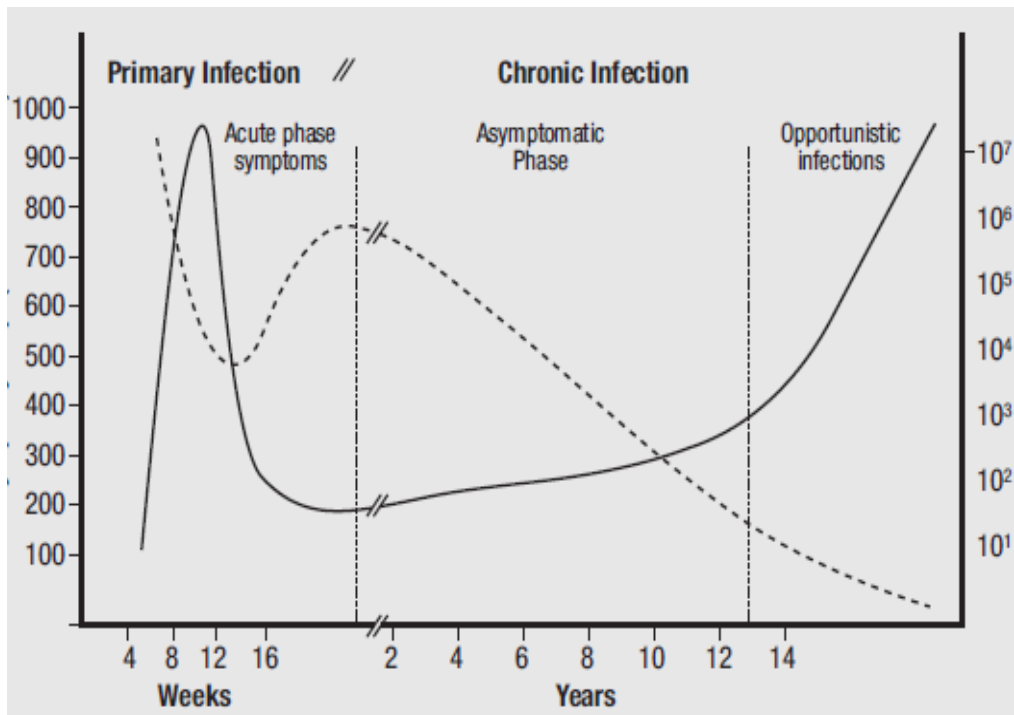


Figura 3. História Natural da Infecção pelo HIV. Linha tracejada: Linfócitos CD4+(células/μl); Linha contínua: Viremia (cópias/ml). Fanales-Belasio,E.<sup>62</sup>

Essa complexa interação entre infecção viral e destruição imune, com todas as suas conseqüências, como infecções oportunistas e neoplasias, é a base para o entendimento da patogênese da SIDA e suas complicações.<sup>63</sup>

#### 1.4 Avaliação histológica das doenças inflamatórias da Tireóide

Os primeiros estudos realizados na tentativa de caracterização da resposta inflamatória tireoidiana foram realizados em portadores de Doença de Graves. Foi demonstrado que as células presentes no exsudato inflamatório eram mononucleares, principalmente linfócitos T.<sup>73</sup>

Em 1983, ao estudar 15 tireóides de portadores de Doença de Graves estudiosos da Universidade de Nancy, na França, demonstraram que a maior parte das células T eram fenotipicamente do subtipo supressor/citotóxico (OKT8/Leu2a).<sup>74</sup>

Em 1984, um grupo americano liderado por Joseph Margolick analisou a população de linfócitos no parênquima tireoidiano normal paranodular e demonstrou a presença de raros linfócitos interfoliculares e intraepiteliais. Predominaram o tipo CD4+ no estroma e o tipo CD8+ no compartimento intraepitelial. Não foram detectadas células B.<sup>75</sup>

Estudos posteriores demonstraram a presença de células APC na tireóide (que apresentavam marcador OKT6) e que os linfócitos T CD8+ do infiltrado apresentavam propriedades supressoras após serem retirados da glândula e mantidos em cultura.<sup>76</sup>

Na Doença de Graves e na Tireoidite de Hashimoto foi demonstrado que a infiltração linfocitária, apesar de proporcionalmente semelhante, é muito mais intensa na segunda condição<sup>77</sup> e que, na Doença de Graves, existe uma maior predominância de células B.<sup>78</sup>

Sobre a quantificação de linfócitos na tireóide, existe a dificuldade em se estabelecer os critérios de normalidade.<sup>79</sup> Geralmente os linfócitos estão presentes nas regiões subcapsulares e septos interlobulares<sup>80</sup> e o critério histológico para processo inflamatório em fase inicial não está estabelecido. Segundo Mizukami, a presença de linfócitos associados ao parênquima já serviria como critério diagnóstico de tireoidite.<sup>56</sup>

Para outras glândulas, como a salivar, já existem critérios quantitativos melhor definidos sendo aceito como critério de autoimunidade a presença de pelo menos um agregado linfóide com mais de 50 células para cada área de 4 mm<sup>2</sup>.<sup>81,82</sup>

O tipo e intensidade da reação inflamatória estão na dependência de inúmeros fatores ambientais e genéticos. As células CD4+ produzem interleucinas específicas que determinam o tipo de resposta imune.<sup>53</sup> As prováveis interações entre o sistema imune e a célula folicular tireoidiana que contribuem para determinar o tipo de reação inflamatória foram propostas por Wettman.<sup>6</sup>

Quanto aos linfócitos de localização intraepitelial que participam do fenômeno conhecido como emperipoese, sabe-se que tem ocorrência normal em outros órgãos e são mais frequentemente CD8+.<sup>83</sup> Na tireóide estão relacionados ao

fenômeno autoimune. Há aumento da migração intraepitelial e participação no processo de apresentação de autoantígenos tireoidianos ao sistema imune.<sup>6</sup>

As variações histológicas da tireóide podem ser correlacionadas com alterações funcionais.<sup>84</sup> A intensidade da inflamação e as alterações estruturais da glândula estão demonstradas na Tabela 6.

Tabela 6 - Correlação histológica e funcional para tireoidite crônica.

| <b>Grupo Histológico</b>              | <b>Achados Histológicos</b>                                                                                                      | <b>Função Tireoidiana</b>                                        |
|---------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|
| Tireoidite crônica oxifílica          | Infiltrado celular difuso: moderado a severo<br>Alteração epitelial oxifílica: quase toda área<br>Fibrose: moderada a severa     | Hipotireoidismo franco,<br>Hipotireoidismo subclínico            |
| Tireoidite crônica mista              | Infiltrado celular difuso: moderado<br>Alteração epitelial folicular variada: normal, hiperplásica, oxifílica<br>Fibrose: mínima | Eutireoidismo,<br>Hipertireoidismo ou Hipotireoidismo subclínico |
| Tireoidite Crônica focal leve         | Infiltrado celular focal<br><10%                                                                                                 | Eutireoidismo                                                    |
| Tireoidite Crônica focal moderada     | Infiltrado celular focal<br>10-50%                                                                                               | Eutireoidismo ou Hipotireoidismo subclínico                      |
| Tireoidite Crônica focal acentuada    | Infiltrado celular focal<br>>50%                                                                                                 | Eutireoidismo ou Hipotireoidismo subclínico                      |
| Tireoidite Crônica focal hiperplásica | Infiltrado celular focal: leve a moderado<br>Alteração epitelial hiperplásica difusa: moderada a severa                          | Hipertireoidismo                                                 |

Adaptado de Mizukami, Y.<sup>56</sup>

Nos infectados pelo HIV existem evidências indiretas da ocorrência de autoagressão através do acompanhamento dos níveis de autoanticorpos que tem correlação com o grau de infiltração linfocitária tireoidiana.<sup>85,86</sup> Os primeiros estudos que evidenciaram essa correlação em infectados pelo HIV foram publicados em 1993<sup>87,31</sup> e mostraram relação direta entre níveis de anticorpos e tempo de evolução da infecção.

A partir do ano de 2000, os estudos mostrando maior frequência de autoanticorpos tireoidianos em infectados pelo HIV se tornaram mais frequentes principalmente no contexto da Síndrome de Reconstituição Imune.<sup>33,36,39,46,87</sup>

### **1.5 Métodos de investigação da ecogenicidade tireoidiana para detecção de tireoidites**

A localização da tireóide em relação à pele favorece a sua investigação pelo método de ultra-sonografia. Para o estudo da tireóide, transdutores com frequência de 7,5 a 14 megahertz são geralmente adequados, atingindo profundidades em torno de 5 centímetros. Usando frequências mais altas, nódulos tão pequenos quanto dois a três milímetros podem ser identificados.<sup>88,89,90</sup>

A glândula tireóide é um pouco mais eco-densa do que as estruturas adjacentes devido ao seu teor de iodo. A ecogenicidade é um parâmetro importante na avaliação ultrassonográfica tireoidiana.<sup>91</sup> A análise do parênquima tireoidiano é realizada de modo subjetivo ao se comparar a sua ecogenicidade com a dos músculos pré-tireoidianos e da glândula submandibular, classificando-a em isoecogênica, hiperecogênica ou hipoecogênica em relação a tais estruturas. Tipicamente, a glândula tireóide normal apresenta ecogenicidade maior que a dos músculos pré-tireoidianos e semelhante, ou discretamente maior, do que a das glândulas submandibulares.<sup>91,92</sup>

Em lesões com redução do tamanho do folículo, com menor superfície folículo-colóide, haverá geração de uma imagem hipoecóica,<sup>91,92</sup> como ocorre nas doenças autoimunes, neoplasias foliculares e tecidos tireoidianos sem folículos como a variante fibrosa da tireoidite de Hashimoto.<sup>91</sup> Nas lesões macrofoliculares, onde há maior superfície entre o folículo e o colóide, haverá maior quantidade de ondas refletidas, e a imagem gerada será hiperecóica, como no bócio colóide.<sup>90</sup>

Na Doença de Graves, bem como na Tireoidite da Hashimoto, a ecogenicidade do parênquima encontra-se diminuída devido ao aumento da

celularidade e diminuição do conteúdo de colóide nos folículos. A hipoecogenicidade do parênquima é um achado que usualmente precede o aparecimento dos autoanticorpos séricos e outras alterações laboratoriais na tireoidite autoimune.<sup>93</sup>

Apesar da padronização dos procedimentos de utilização do ultra-som, o método ainda é dependente do operador.<sup>93</sup> Na busca de uma avaliação quantitativa mais objetiva da ecogenicidade, foram desenvolvidos programas de computador que atribuem escalas numéricas aos vários tons de cinza do histograma da glândula tireóide. Quanto maior a resolução das imagens, maior o número de tonalidades de cinza identificadas. A cor preta corresponde ao valor 0 e a cor branca corresponde ao maior valor, que depende da resolução da imagem. Tal técnica permite eliminar a subjetividade do método ao quantificar numericamente a ecogenicidade, tornando-a reproduzível e, portanto, capaz de proporcionar análises estatísticas mais precisas.<sup>93</sup> Este método foi empregado na avaliação de doenças da tireóide.<sup>88</sup> Este sistema está ilustrado na Figura 4.

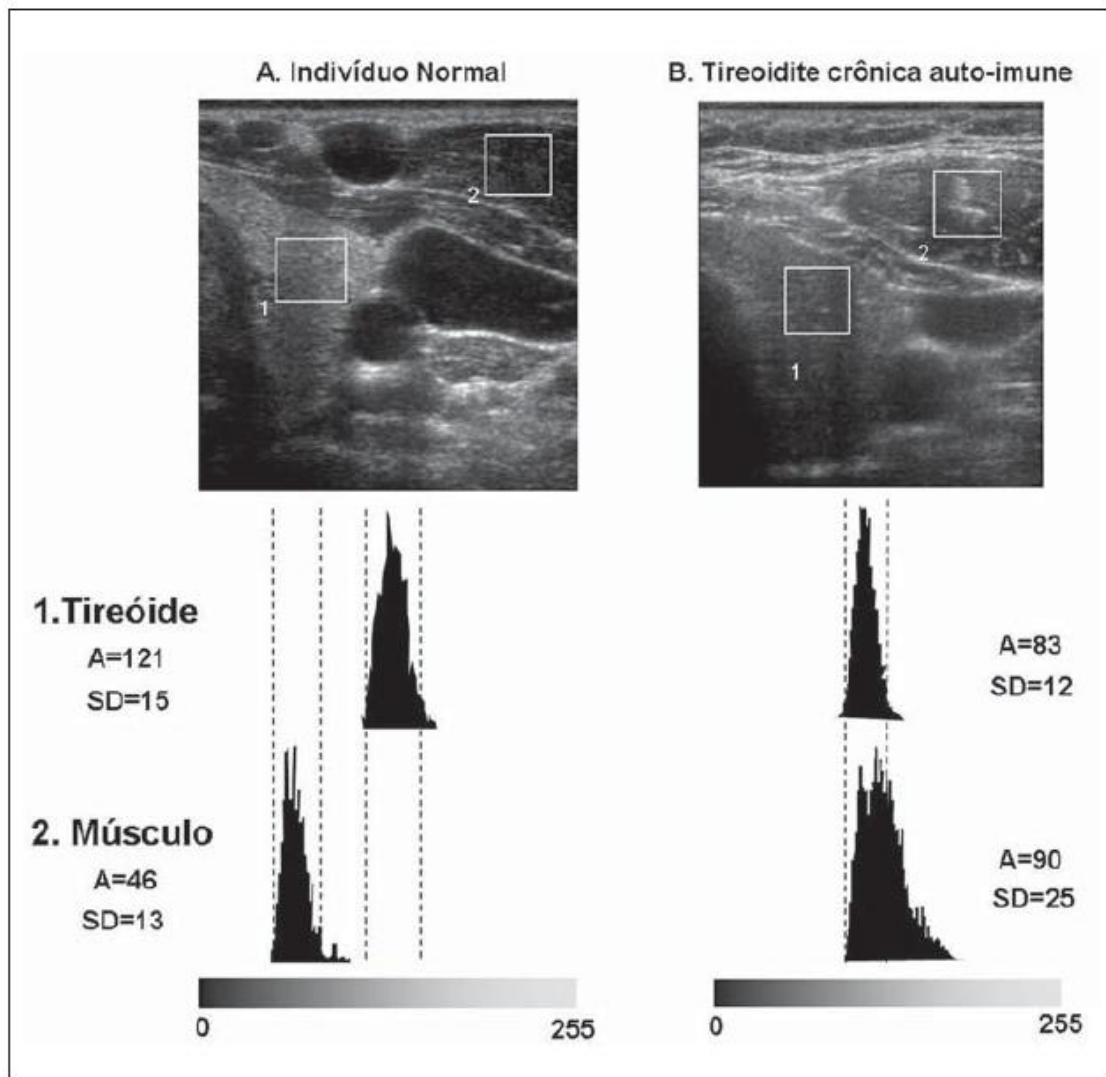


Figura 4. Ecogenicidade tireoidiana em histograma de escala de cinza. Hofling, D<sup>93</sup>

A Figura 4 ilustra um histograma computadorizado obtido por ultras-sonografia cervical. Obteve-se um corte transversal da glândula tireóide e músculos esternocleidomastóideos de um indivíduo normal (A) e com tireoidite crônica autoimune (B). Os gráficos ilustram o padrão de escala de cinza em histogramas da região de interesse selecionada pelos quadrados (1-tireóide e 2-músculo). As linhas tracejadas indicam os valores mínimos e máximos de cada distribuição de escala de cinza contendo dois desvios-padrão. Observa-se que, no indivíduo com ecogenicidade tireoidiana normal não há sobreposição de valores sendo o padrão normal de ecogenicidade tireoidiana discretamente maior (hiperecogênica) em relação ao músculo. No indivíduo portador de tireoidite crônica autoimune existe uma

diminuição da ecogenicidade de forma que os valores de ecogenicidade de ambas as estruturas se aproximam.

Assim, a análise da ecogenicidade da tireóide pode ser considerada uma ferramenta de auxílio no diagnóstico precoce das doenças tireoidianas..

## **1.6 Métodos de estimativa do volume tireoidiano**

Diferenças genéticas, antropométricas, gênero, idade, função tireoidiana e fatores ambientais, como a ingestão de iodo, contribuem para as variações individuais do volume tireoidiano.<sup>91,92,94</sup> Tanto a condição de iodo-deficiência quanto o excesso de iodo podem levar a um aumento do volume da glândula tireóide.<sup>92</sup>

No adulto, admite-se um volume normal variando entre 6 a 15 mililitros.<sup>5</sup> Geralmente maior nos homens do que nas mulheres, o volume tireoidiano apresenta correlação direta com os parâmetros antropométricos e de superfície corpórea e indireta com o aporte de iodo.<sup>92</sup>

Ainda não foram realizados estudos populacionais sistemáticos para aferir o volume tireoidiano normal dos adultos brasileiros (considerando as variações antropométricas, geográficas e de oferta de iodo existentes no Brasil).<sup>92,93</sup> Atualmente a Organização Mundial de Saúde recomenda que sejam utilizados valores de referências obtidos por estudos epidemiológicos locais e que considerem o aporte local de iodo para determinação do volume normal tireoidiano.

O modelo elipsóide é amplamente utilizado para estimar o volume tireoidiano.<sup>95,96,97</sup> Nesse modelo, a altura, largura e profundidade de cada lobo são medidos e multiplicados.<sup>5</sup> Os resultados obtidos são então novamente multiplicados por um fator de correção que, para medidas ultrassonográficas, é geralmente  $\pi/6$ , ou 0,524. O volume da tireóide é a soma dos volumes de ambos os lobos. O volume do istmo geralmente não é incluído.<sup>89</sup>

Não existe fator de correção considerado ideal. Trabalhos feitos com base na medição do volume de tireóides retiradas de cadáveres após imersão em água,

concluíram que a utilização do fator de correção 0,479 resultou em uma avaliação mais precisa do volume da tireóide.<sup>98</sup> Com base nesses resultados, a Organização Mundial de Saúde (OMS) tem utilizado 0,479 como o fator de correção na avaliação do volume tireoidiano.<sup>95,96,97</sup>

Inúmeras outras condições, além das já citadas, contribuem direta ou indiretamente para modificações do volume tireoidiano. Exemplos disso são lesões diretas ao parênquima levando a sua redução volumétrica, ou ainda, alterações inflamatórias no estroma que podem determinar aumento do volume.<sup>91,92,94,95,96</sup>

A epidemia da infecção pelo HIV é um dos assuntos de maior relevância médica da atualidade. As alterações imunológicas, particulares a esta infecção, determinam alterações de diversos sistemas orgânicos e também do sistema endócrino. A glândula tireóide ocupa posição de destaque nesse sistema, cuja produção hormonal contribui para homeostase. Nesse contexto, o reconhecimento e entendimento das disfunções tireoidianas primárias e/ou secundárias são constituintes essenciais para promoção à saúde.

Pelos motivos acima descritos, nós nos propusemos a investigar em tireóides obtidas de autópsias comparadas ao grupo controle:

- a) a ocorrência de tireoidite em pacientes infectados pelo HIV e sua possível associação com a presença do HIV no parênquima glandular;
- b) a frequência do comprometimento da glândula por agentes infecciosos oportunistas;
- c) os tipos de células inflamatórias presentes no parênquima glandular;
- d) a variação de volume e da ecogenicidade glandulares e sua associação com tireoidite e fibrose.

### **3.1 População e métodos**

Foram selecionadas tireóides conservadas em formol a 10% armazenadas no Serviço de Patologia do Hospital Universitário Cassiano Antonio Moraes (HUCAM) da Universidade Federal do Espírito Santo.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Centro de Ciência da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo.

Utilizaram-se as tireóides provenientes de autópsias realizadas no HUCAM, no período de 2000 a 2008, de pacientes cuja causa de morte, registrada em atestado de óbito, foi infecção pelo HIV (CID-10 B24) confirmada por exame laboratorial. Estes dados foram obtidos por busca ativa dos registros do Serviço de Estatística Nosológica do Serviço de Arquivo Médico e Estatística (SAME) do mesmo Hospital seguida de análise de prontuário.

Durante este período ocorreram no HUCAM 285 óbitos tendo como causa básica a infecção pelo HIV, destes, 105 foram autopsiados.

Para cada caso com infecção pelo HIV, foram selecionados, no mesmo serviço, 2 pacientes controle pareados por sexo e idade que faleceram no mesmo período sem evidência clínica ou diagnóstico laboratorial de infecção pelo HIV. Esses dados foram obtidos por investigação de prontuário.

Os critérios de exclusão, em ambos os grupos, foram a não localização da tireóide no arquivo de reserva, tireóides em mau estado de conservação, casos em que o prontuário não continha informações clínicas mínimas ou com informações conflituosas a respeito do sexo e data de nascimento.

Após aplicação dos critérios de exclusão, restaram 63 casos com infecção pelo HIV e 67 controles que foram analisados. Como a amostra ainda continha casos do grupo HIV sem peças pareadas para controle e casos com uma ou duas peças controle; optou-se então, para aumentar o poder estatístico das associações, pelo pareamento 1:1 para análise estatística. O critério de escolha do melhor controle foi a data de nascimento mais próxima ao seu caso par.

Restaram então 46 casos do grupo HIV com seus respectivos controles pareados.

### **3.1.1 Investigação em prontuário**

Foram resgatados os registros de prontuário do arquivo do SAME e das autópsias no arquivo do Serviço de Patologia do HUCAM referentes aos casos e controles selecionados.

A investigação dos prontuários visou à obtenção das informações relativas ao sexo, idade, evidência sorológica de infecção pelo HIV, evidência sorológica de infecção crônica pelo vírus B ou C, fatores de risco para tireoidopatias, uso de fármacos que afetam a tireóide, exames de função tireodiana, anticorpos anti-tireoidianos e outras doenças associadas.

Nos pacientes infectados pelo HIV foram investigados tempo de diagnóstico da infecção pelo HIV, uso de antirretrovirais, carga viral, níveis hematimétricos de linfócitos T CD4+ e presença de infecções oportunistas no último ano.

Foram computados os fármacos que afetam a tireóide utilizados há no mínimo 5 anos e que estavam registrados em prontuário.

A investigação dos registros das autópsias visou a obtenção das causas que levaram ao óbito e também aquelas identificadas pela suspeita clínica e confirmadas pela autópsia. Foram anotadas todas as causas registradas como doença básica e associadas.

### **3.1.2 Ultra-sonografia e estimativa da ecogenicidade da tireóide.**

As tireóides conservadas em monobloco com o segmento de laringe e língua, fixadas por, no mínimo, 30 dias em formol a 10%, foram retiradas do fixador e o exame ultra-sonográfico foi realizado, à temperatura ambiente, com aparelho da marca Esaote modelo Mylab 70xVision equipado com transdutor linear de 18 megahertz.

Para anular as variações de ganho de brilho que pudessem interferir na aferição sistemática da ecogenicidade, todas as imagens foram obtidas com a mesma intensidade de ganho de brilho (de 62%) e registradas pelo mesmo ultra-sonografista. Foram realizados cortes axiais em toda a extensão da glândula com registro das lesões focais e uma imagem do terço médio década lobo da tireóide foi gravada em arquivo digital e transferida para o computador.

A ecogenicidade foi quantificada utilizando-se o software Image J. O Image J é um software de domínio público desenvolvido pelo National Institute of Health projetado para processamento de imagens e possui diversas ferramentas de análise de vários atributos da imagem. A partir da delimitação de uma região de interesse na imagem, são elaborados histogramas de densidade ou escala de cinza que se correlacionam com a ecogenicidade glandular.

A partir da análise da área da imagem selecionada (como demonstrada pela Figura 5) e elaboração do histograma pelo programa (como demonstrada pela Figura 6), foi computado o valor médio correspondente ao valor de escala de cinza de ocorrência mais freqüente, o que corresponde ao pico do histograma.

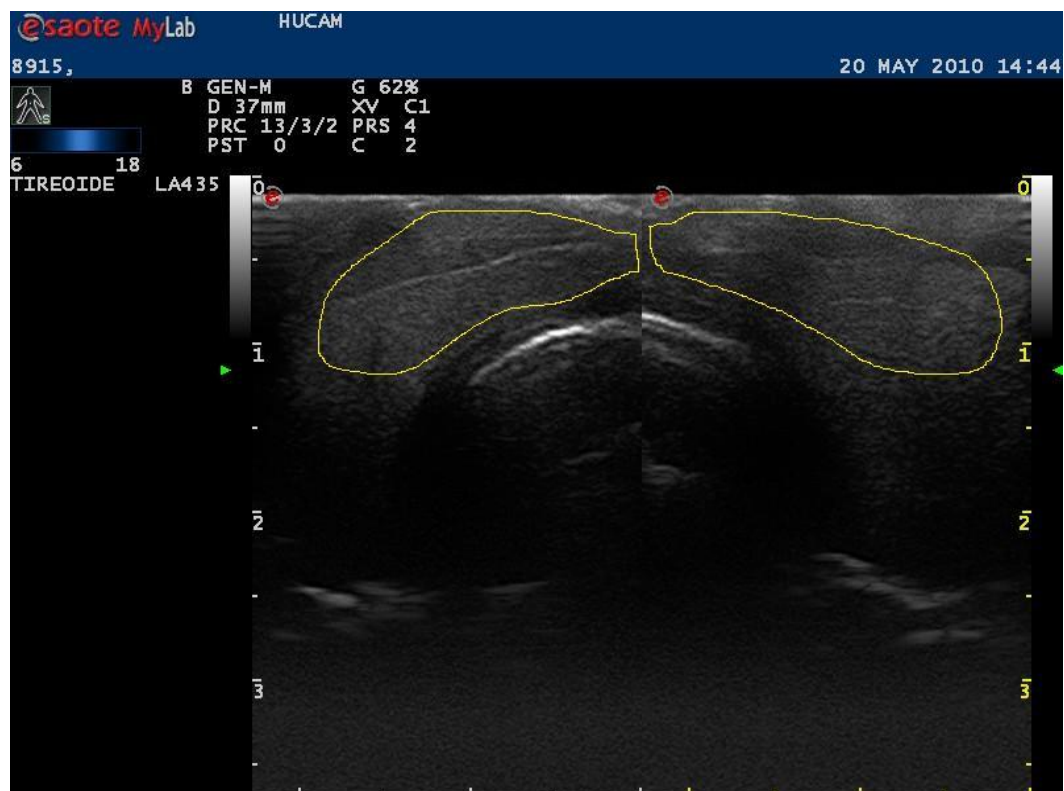


Figura 5. Ultra-sonografia tireóide (corte axial) demonstrando região de interesse (marcada em amarelo) - área a ser analisada pelo image J.

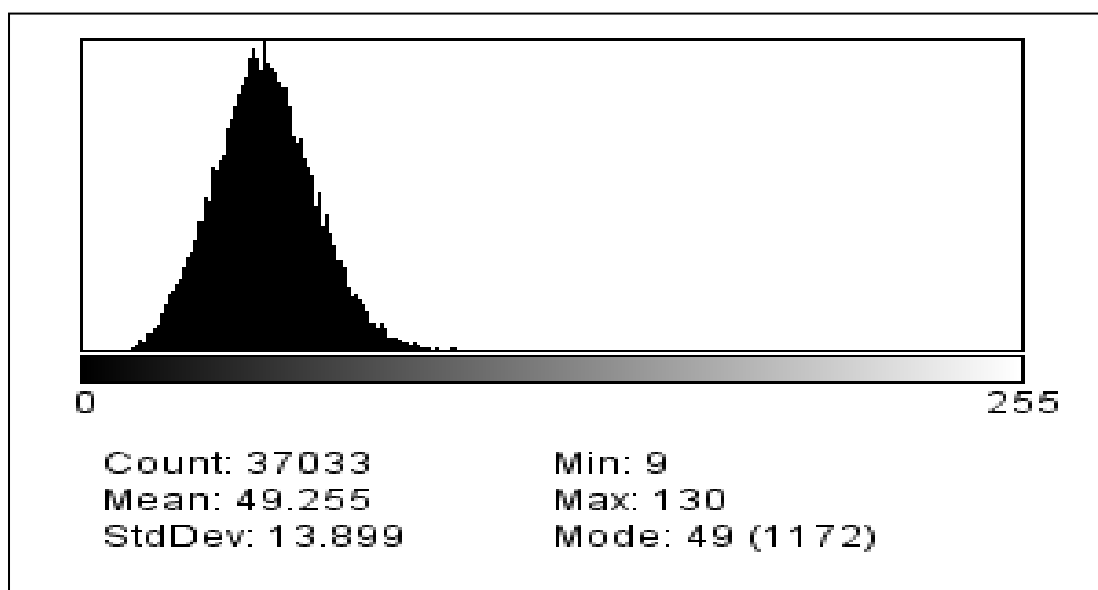


Figura 6. Histograma de análise de escala de cinza gerada pelo Image J a partir da área de interesse selecionada.

### 3.1.3 Estimativa do volume tireoidiano

A aferição das medidas tireoidianas foi realizada com régua metálica com precisão de 1 milímetro, por visualização direta de peça, aferindo-se os maiores eixos: transversal (Largura-L) e longitudinal (comprimento – W). Após registro dos valores em centímetros, foi utilizada fórmula recomendada pela OMS para estimativa do volume tireoidiano pelo modelo elipsóide:  $V(\text{ml}) = 0,479 \times W \times L \times D$  (centímetros). Visando uma aferição mais fidedigna do eixo antero-posterior, ou profundidade (D), optou-se pela medida do comprimento do fragmento obtido na biópsia tireoidiana por *punch*, descrita no tópico seguinte.

### 3.1.4 Biópsia e análise histológica da tireóide

Visando a manutenção da integridade das peças para estudos posteriores, todas as tireóides foram biopsiadas na área central de cada lobo utilizando-se *punch* de 5 milímetros, obtendo-se assim, dois fragmentos cilíndricos de toda a espessura dos lobos tireóideanos. Os dois fragmentos foram processados para inclusão em parafina.

Os blocos de parafina foram submetidos a cortes de 3  $\mu$  de espessura com o uso de micrótomo rotativo. Os cortes histológicos foram estendidos sobre lâminas silanizadas (S3003, DakoCytomation, Carpinteria, CA, USA) e colocados em estufa a 58 °C por 24 horas. Aderidos às lâminas, estes cortes foram desparafinizados em xilol e corados pelos métodos hematoxilina e eosina (H&E) e picrossírius. O método de picrossírius é específico para detecção de colágeno. Os cortes histológicos, corados por este método, podem ser estudados tanto na luz habitual do microscópico como sob luz polarizada. A luz polarizada permite a distinção entre o colágeno tipo I e III. O colágeno tipo I aparece formado por fibras grossas coradas em vermelho ou amarelo e o colágeno tipo III adquire cor verde birrefringente. Os colágenos tipo I e III foram estudados sob luz polarizada.

As análises histológicas foram realizadas pelo mesmo examinador de forma seriada e cega com registro de todas as alterações tiroidianas. Foram analisados o aspecto dos folículos, o aspecto do colóide, presença de agregado inflamatório.

Para os casos onde foi observado infiltrado inflamatório, foi especificada sua localização (intersticial, perivascular ou subcapsular) e distribuição (focal ou difusa). A intensidade da inflamação foi subjetivamente classificada em discreta, moderada ou acentuada.

Considerou-se como foco inflamatório a presença de aglomerado linfóide com de mais de 50 células. Quando presentes foram quantificados pela relação do número de aglomerados por área de tecido inspecionada.

### **3.1.5 Método Imuno-histoquímico**

A partir de cada um dos blocos de parafina originais, foram confeccionados pelo método de microarray oito blocos secundários, cada um deles contendo 34 fragmentos cilíndricos de tecido. Cada cilindro foi sacado da porção intermediária dos fragmentos emblocados em parafina utilizando-se um *punch* dermatológico de 3 milímetros de diâmetro. A haste de plástico do *punch* foi previamente perfurada com broca para permitir a passagem do tubo plástico durante a remoção do cilindro de tecido parafinado do seu interior. Cada um dos cilindros obtidos foi ordenado e aderido sobre uma fita gomada de dupla face e transparente previamente fixada sobre uma etiqueta de papel branco na qual estavam impressas imagens circulares equivalentes ao posicionamento de cada fragmento, permitindo a criação de um mapa de localização de cada caso. Os fragmentos assim fixados sobre a fita gomada eram sobrepostos com um molde metálico para preenchimento com parafina derretida. Dos blocos secundários assim obtidos foram retirados novos cortes histológicos conforme já descrito acima. Na Figura 7 estão demonstradas as ferramentas, os blocos de parafina obtidos e respectivos preparados histológicos.

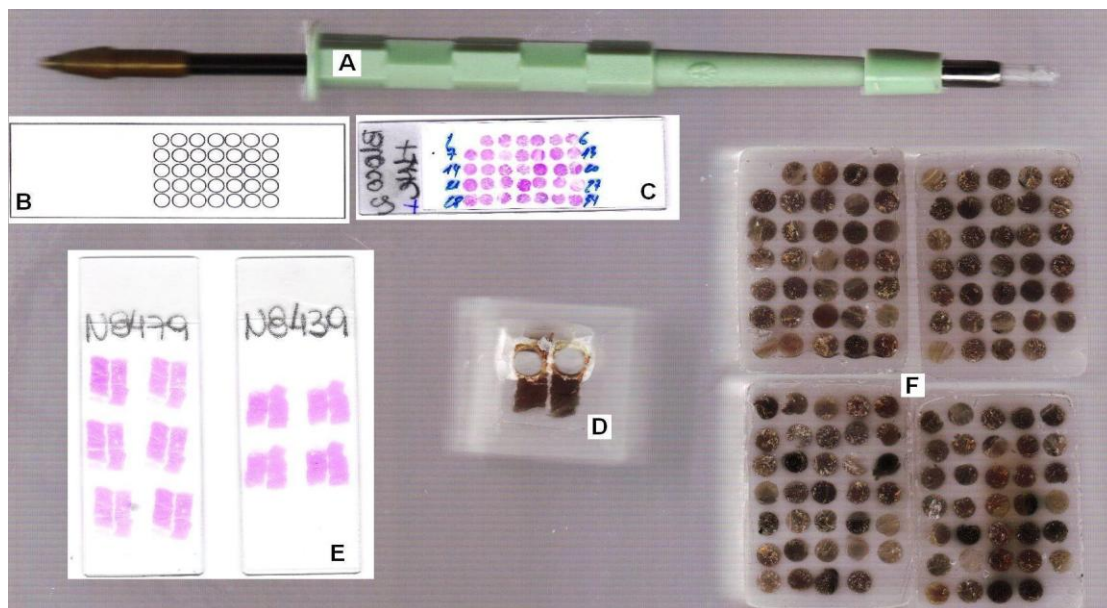


Figura 7. Confeção do microarray. A- Punch dermatológico (3mm) adaptado. B - Base de papel sobreposta com fita adesiva de dupla face, na qual estão impressos os círculos para fixação de cada um dos fragmentos de maneira ordenada. C - Preparado histológico corado pelo método de H&E obtido do microarray e identificado com a sequência numérica dos fragmentos. D - Bloco doador do qual foram sacados dois fragmentos de tecido. E - Dois preparados histológicos obtidos dos fragmentos de tireóide removidos de cada um dos lobos tireoidianos. F - Blocos do microarray finalizados nos quais a posição 0(zero) ou vazia, permite a identificação do início da sequência dos casos.

As lâminas obtidas para imuno-histoquímica foram enviadas para coloração no Laboratório Bacchi, Consultoria em Patologia – SP, onde foram submetidas ao seguinte protocolo de coloração.

Após desparafinização em xilol aquecido a 58 °Celsius, foram reidratadas em banhos sucessivos de álcool absoluto, álcool hidratado e água destilada deionizada.

Os preparados histológicos foram então imersos em solução de recuperação antigênica e tratadas de acordo com a recomendação do fabricante.

Para o bloqueio da peroxidase endógena, os cortes histológicos foram lavados com PBS durante 10 minutos e incubados com água oxigenada a 3%, em temperatura ambiente, por 10 minutos.

Depois de lavados, os cortes histológicos foram incubados a 4 °C com o anticorpo primário, diluído conforme o melhor resultado da titulação obtido para cada um dos anticorpos utilizados. Permaneceram em câmara úmida e então lavados em

solução tampão. O excesso de umidade foi removido com papel absorvente, os cortes tratados com o anticorpo secundário e novamente lavados com solução tampão.

Os cortes histológicos foram revelados utilizando-se o kit LSA/BHRP. Os cortes foram contra-corados com hematoxilina de Harris por 1 minuto, lavadas, diafanizadas e montadas em bálsamo do Canadá.

Para o controle negativo das reações imuno-histoquímicas, omitiu-se o anticorpo primário.

Para detecção de células CD4+ utilizou-se anticorpo monoclonal de coelho Cell Marque (clone SP35). Para detecção de células CD8+ utilizou-se anticorpo monoclonal de camundongo Dako (clone C8-144B). Para detecção de células CD20+ utilizou-se anticorpo monoclonal de camundongo Dako (clone L26 1-4). Para pesquisa do antígeno viral p24 utilizou-se anticorpo monoclonal camundongo Dako (clone Kal-1).

A visualização da reação imuno-histoquímica em microscópio óptico foi realizada pelo mesmo examinador de forma sistemática. Para os marcadores p24, CD4, CD8 e CD20, a reação positiva foi quantificada pela contagem das células marcadas em toda a extensão do fragmento examinado. Para efeito de homogeneidade de critério morfológico só foram contadas as células mononucleares e com a cromatina condensada.

Como, para o marcador CD8, havia a necessidade de discriminação das células marcadas nos compartimentos intraepitelial e interfolicular optou-se por um protocolo sistematizado de escolha de 10 campos microscópicos de grande aumento (400X) e então contados em cada campo o número de células CD8+ interfoliculares e intraepiteliais.

### 3.1.6 Dimensão da área folicular

As imagens dos cortes histológicos corados pela técnica do Picrossírius analisadas sob luz polarizada e aumento de 40 vezes (Figura 8) e foram capturadas usando câmera Sony Cyber-shot P10 com resolução de 5.0 mega pixels.

Foram selecionadas para documentação, as áreas centrais das biópsias dos lobos tireoidianos, uma de cada lado. Os arquivos de imagem com extensão jpg foram, então, transferidos para o computador via cabo USB e a análise morfométrica foi realizada com o programa Image J. Através das ferramentas desse programa, foi possível selecionar toda a área de ocupação folicular da foto obtida. A partir disso o software calculou a porcentagem de ocupação folicular em relação a área total de imagem (Figura 9).

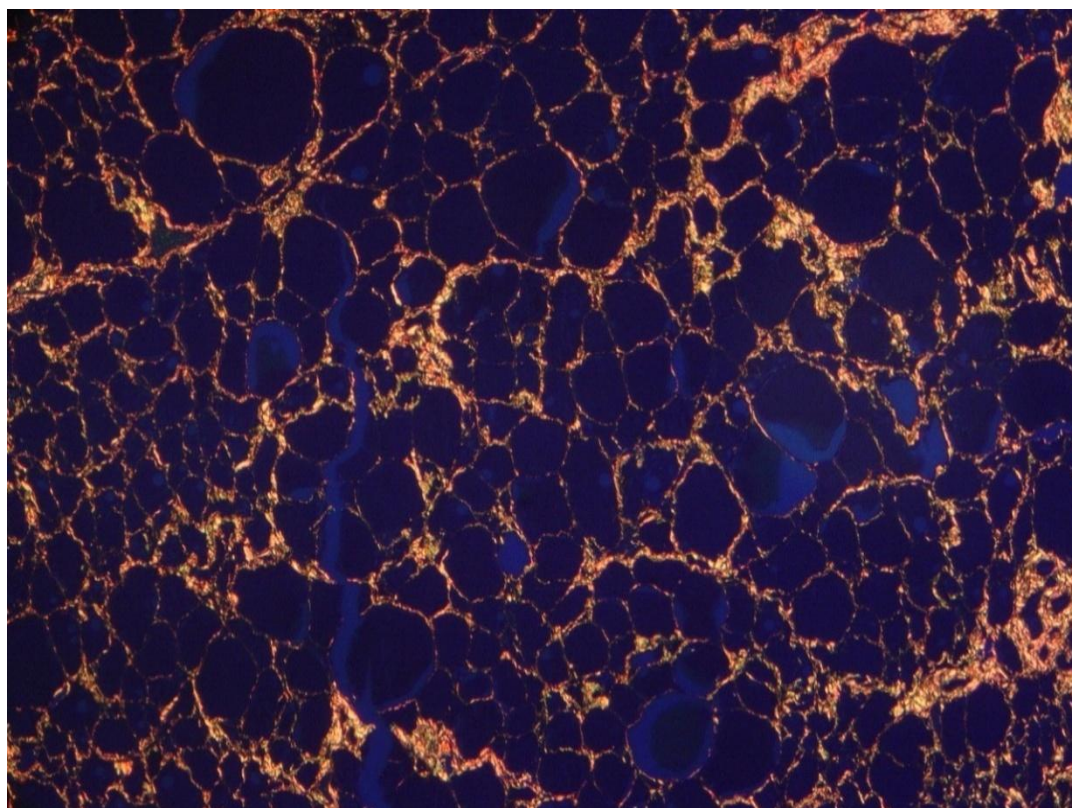


Figura 8. Imagem tireóide ao microscópio óptico sob luz polarizada (40X).

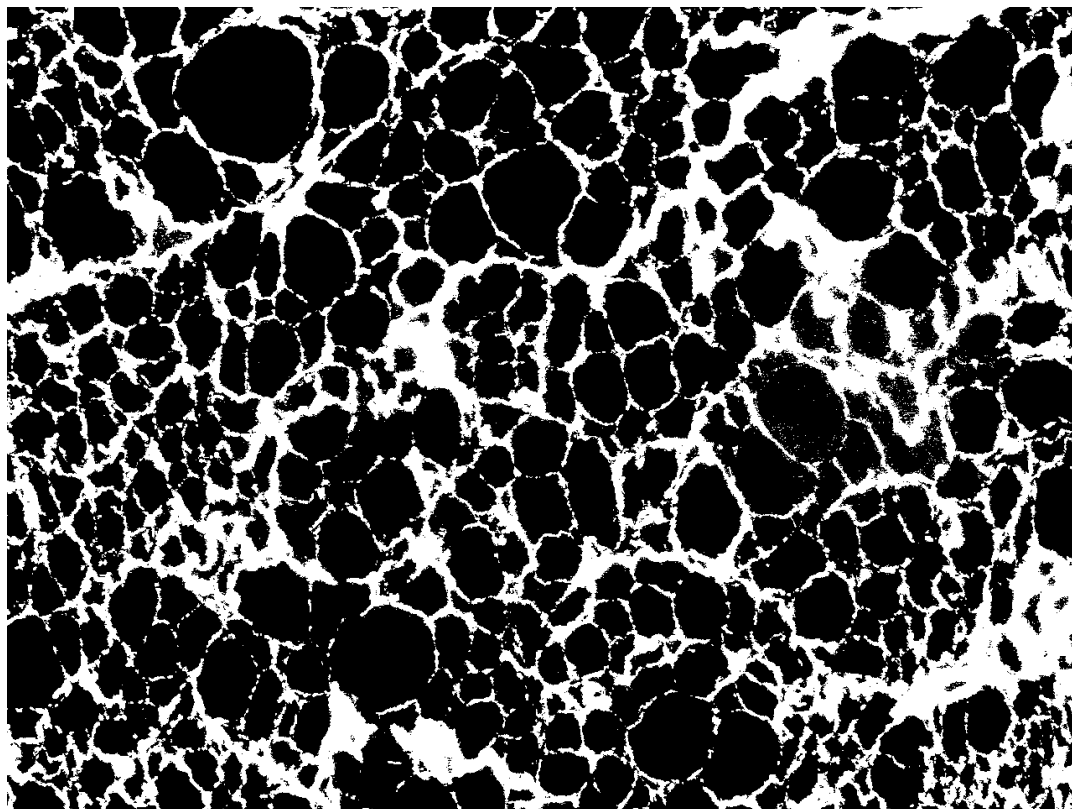


Figura 9. Área processada pelo ImageJ para aferição da área folicular a partir da área da Figura anterior (40X).

### **3.1.7 Quantificação do colágeno tipo I e colágeno tipo III**

Para quantificar o colágeno, foram obtidas imagens utilizando-se a mesma técnica fotográfica descrita no item anterior nos preparados corados com picrossírius observados ao MO sob luz polarizada. As áreas com birrefringência nas cores que variam do amarelo ao vermelho e verde foram fotografadas com aumento de 400 vezes (Figura 10). Os arquivos de imagem foram, então, transferidos para o programa Image J. Após isso, essas áreas birrefringentes foram selecionadas para quantificação do colágeno tipo I e tipo III através da análise da porcentagem de cor vermelha e verde respectivamente, detectada pelo software por área total de imagem analisada (Figura 11).

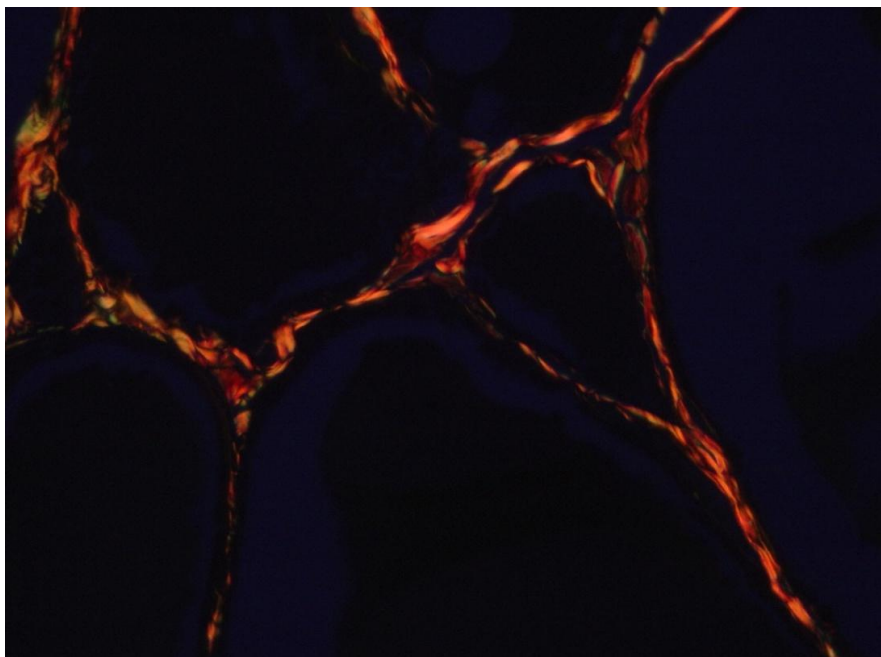


Figura 10. Imagem de tireóide ao microscópio óptico sob luz polarizada (400X).

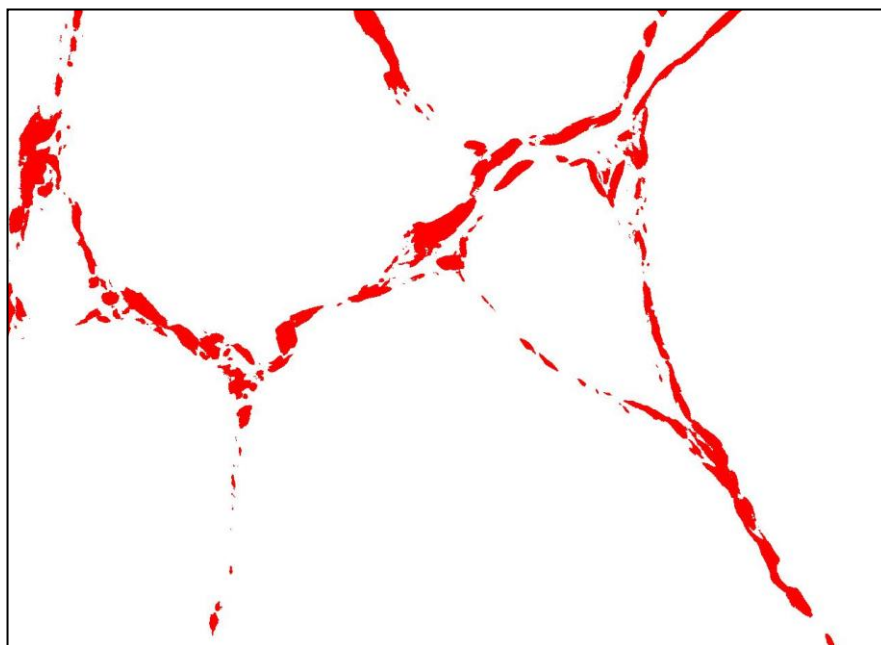


Figura 11. Área processada pelo Image J para quantificação de colágeno a partir da área da Figura anterior (400X).

### 3.2 Análise estatística

O nível de significância adotado foi de 5% ( $\alpha=0,05$ ), de acordo com o padrão geralmente utilizado na área médica e biológica. Desta forma, os valores calculados da probabilidade de erro (p), quando menores que 0,05, foram considerados estatisticamente significantes (\*) e, quando maiores que 0,05, foram tomados como não significantes (ns).

De modo geral, para variáveis numéricas, foram utilizados os cálculos paramétricos. E, para as variáveis de número pequeno de casos e para as categóricas ou nominais e proporções, foram utilizados os cálculos não paramétricos.

Os modelos estatísticos escolhidos são relacionados a seguir:

- 1- Média aritmética, desvio padrão, mediana, valor mínimo e valor máximo dos dados
- 2- Cálculos percentuais
- 3- Teste do qui-quadrado
- 4- Correlação paramétrica de Pearson e ANOVA
- 5- Teste de Shapiro-Wilk
- 6- Teste de Mann-whitney
- 7- Teste paramétrico de t pareado
- 8- Coeficiente de correlação de Spearmen
- 9- Gráficos de distribuição normal
- 10-Gráficos Box-Plot

Os programas estatísticos mais utilizados foram: Microsoft Excel 2010; SPSS for Windows (SPSS Inc.) release 15.0 e Epiinfo.

Foram analisados estatisticamente dados provenientes de 46 tireóides de autópsias de indivíduos infectados pelo HIV e 46 tireóides controles pareadas por sexo e idade.

#### 4.1 Sexo e faixa etária

A Tabela 7 mostra os percentuais de indivíduos do sexo feminino e masculino da amostra. Os grupos contêm mais indivíduos do sexo masculino e na faixa etária de 30 a 39 anos. A média de idade foi de 40,77 anos.

Não houve diferença estatisticamente significativa na comparação das idades entre os grupos masculino e feminino pelo teste de Mann-Whitney.

Tabela 7 – Sexo e Faixa etária dos grupos Infectados pelo HIV e Controle, números absolutos e percentuais.

| Variáveis           | Infectados pelo HIV |              | Controle  |              | Geral     |              |
|---------------------|---------------------|--------------|-----------|--------------|-----------|--------------|
|                     | N                   | %            | n         | %            | N         | %            |
| <b>Sexo</b>         |                     |              |           |              |           |              |
| Masculino           | 31                  | 67,4         | 31        | 67,4         | 62        | 67,4         |
| Feminino            | 15                  | 32,6         | 15        | 32,6         | 30        | 32,6         |
| <b>Faixa etária</b> |                     |              |           |              |           |              |
| 23 a 29 anos        | 7                   | 15,2         | 7         | 15,2         | 14        | 15,2         |
| 30 a 39 anos        | 16                  | 34,8         | 16        | 34,8         | 32        | 34,8         |
| 40 a 49 anos        | 14                  | 30,4         | 14        | 30,4         | 28        | 30,4         |
| 50 anos ou mais     | 9                   | 19,6         | 9         | 19,6         | 18        | 19,6         |
| <b>Total</b>        | <b>46</b>           | <b>100,0</b> | <b>46</b> | <b>100,0</b> | <b>92</b> | <b>100,0</b> |

Pelo Gráfico 1, observa-se que a idade tem uma distribuição simétrica e sem a presença de outliers. O teste de Shapiro-Wilk, cujo resultado foi representado na Tabela 8, confirma essa hipótese.

Gráfico 1 – Distribuição da idade segundo grupos.

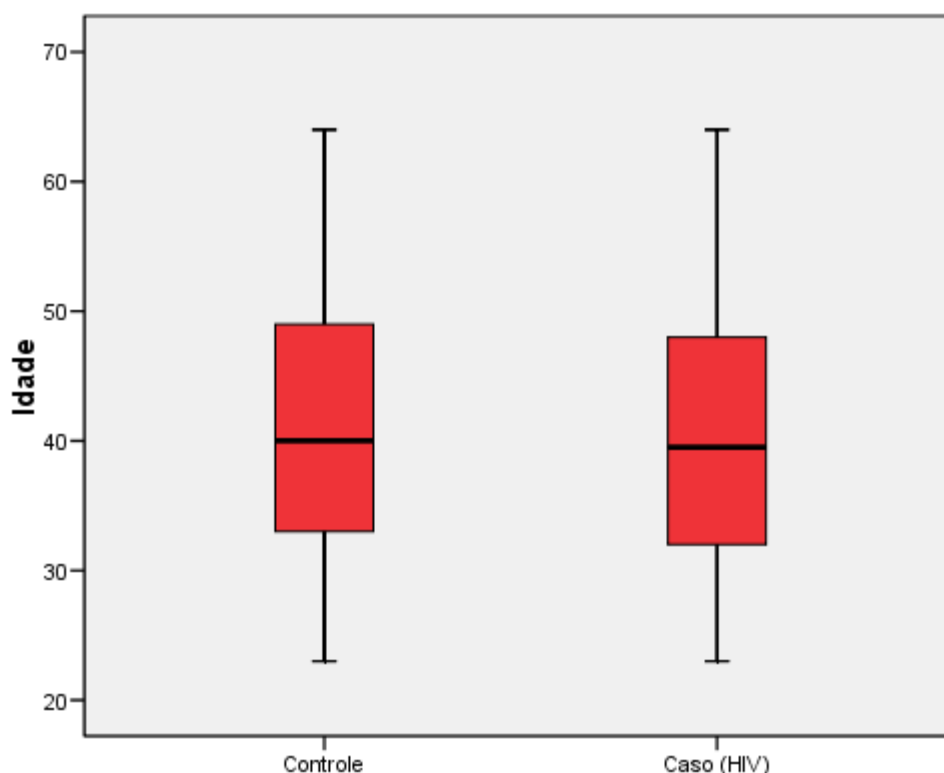


Tabela 8 – Resultados (p-valores) do teste de Shapiro-Wilk para a variável Idade.

| Variáveis | Controle | Infectados pelo HIV |
|-----------|----------|---------------------|
| Idade     | 0,128    | 0,200               |

\* p-valor < 0,050 – rejeita-se a hipótese de normalidade.

## 4.2 Fatores de Risco para doença tireoidiana e função tireoidiana

A Tabela 9 mostra a distribuição dos fatores de risco para doença tireoidiana, descritos em prontuário, segundo grupos. Observa-se diferença estatisticamente significativa na variável “Uso de fármacos que afetam a tireóide”, com maior percentual no grupo de infectados pelo HIV. Para as demais variáveis não foi detectada diferença estatisticamente significativa pelo teste do qui-quadrado. Os

demais fatores de risco listados com maior frequência foram tabagismo e sexo feminino. Não havia dados registrados em prontuário sobre ingestão de iodo.

Tabela 9 – Fatores de risco para doenças tireoidianas segundo grupos.

| Variáveis                           | Infectados pelo HIV |              | Controle  |              | p-valor  |
|-------------------------------------|---------------------|--------------|-----------|--------------|----------|
|                                     | n                   | %            | n         | %            |          |
| Tabagismo                           | 19                  | 41,3         | 17        | 37,0         | 0,835    |
| Sexo feminino                       | 15                  | 32,6         | 15        | 32,6         | 0,824    |
| Uso de fármacos que afetam tireóide | 18                  | 39,1         | 4         | 8,7          | 0,002*   |
| Nenhum                              | 10                  | 21,7         | 16        | 34,8         | 0,245    |
| Gravidez                            | 9                   | 19,6         | 9         | 19,6         | 0,793    |
| Radioterapia                        | 0                   | 0,0          | 2         | 4,3          | 0,482    |
| História familiar tireoidopatias    | 1                   | 2,2          | 1         | 2,2          | 0,477    |
| <b>Total</b>                        | <b>46</b>           | <b>100,0</b> | <b>46</b> | <b>100,0</b> | <b>-</b> |

\*: significância estatística

A Tabela 10 mostra a distribuição dos principais fármacos que afetam a tireóide. Existe diferença estatisticamente significativa entre os grupos para o uso de Amiodarona, sendo utilizado apenas no grupo controle.

Tabela 10 – Fármacos que afetam a tireóide segundo grupos.

| Fármaco      | Infectados pelo HIV |              | Controle |              | p-valor  |
|--------------|---------------------|--------------|----------|--------------|----------|
|              | N                   | %            | N        | %            |          |
| Rifampicina  | 17                  | 94,4         | 2        | 50,0         | 0,125    |
| Amiodarona   | 0                   | 0,0          | 2        | 50,0         | 0,029*   |
| Anfotericina | 1                   | 5,6          | 0        | 0,0          | 0,402    |
| <b>Total</b> | <b>18</b>           | <b>100,0</b> | <b>4</b> | <b>100,0</b> | <b>-</b> |

\* significância estatística

A Tabela 11 mostra a média dos valores dos marcadores de função tireoidiana TSH e T4L segundo grupos. Cinco pacientes no grupo de infectados pelo HIV e três pacientes do grupo controle tinham marcadores aferidos. Observa-se, em ambos os grupos, valores médios de TSH dentro da normalidade e níveis médios de T4L discretamente diminuídos.

Tabela 11 – Marcadores de função tireoidiana segundo grupos.

| Grupo      | Marcadores | N | Mediana | Média | Desvio-Padrão |
|------------|------------|---|---------|-------|---------------|
| Controle   | TSH        | 2 | 2,60    | 2,60  | 1,24          |
|            | T4L        | 1 | 0,83    | 0,83  | -             |
| Caso (HIV) | TSH        | 3 | 2,71    | 4,05  | 3,32          |
|            | T4L        | 2 | 0,84    | 0,84  | 0,11          |

#### 4.3 Evidência sorológica de infecção crônica pelo vírus da hepatite B e C

A Tabela 12 mostra a distribuição de evidências sorológicas, descritas em prontuário, de Hepatites B e C. A maioria dos pacientes não apresentou evidências sorológicas de infecção crônica pelos vírus de hepatite B ou C. Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos pelo teste do qui-quadrado.

Tabela 12 – Evidência sorológica de infecção crônica pelos Vírus da Hepatite B e C, números absolutos, percentuais e comparação entre grupos.

| Variáveis                                                  | Caso (HIV) |       | Controle |       | p-valor |
|------------------------------------------------------------|------------|-------|----------|-------|---------|
|                                                            | n          | %     | n        | %     |         |
| <b>Evidencia de infecção crônica pelo Vírus hepatite B</b> |            |       |          |       |         |
| Sim                                                        | 1          | 2,2   | 1        | 2,2   | 0,477   |
| Não                                                        | 45         | 97,8  | 45       | 97,8  | 0,477   |
| <b>Evidencia de infecção crônica pelo Vírus hepatite C</b> |            |       |          |       |         |
| Sim                                                        | 4          | 8,7   | 0        | 0,0   | -       |
| Não                                                        | 42         | 91,3  | 46       | 100,0 | 0,125   |
| Total                                                      | 46         | 100,0 | 46       | 100,0 | -       |

#### 4.4 Status imune, uso de TARV e infecções oportunistas do grupo de Infectados pelo HIV.

A Tabela 13 mostra a distribuição das variáveis categorizadas: tempo de diagnóstico de infecção pelo HIV, níveis de linfócitos CD4 e carga viral no último ano. A maioria dos pacientes do grupo Infectados pelo HIV apresentava tempo de diagnóstico menor que 6 meses e não realizou exames de detecção de carga viral e contagem de células CD4.

Tabela 13 – Status imune dos Infectados pelo HIV, números absolutos e percentuais.

| Variáveis                                        | Caso (HIV) |              |
|--------------------------------------------------|------------|--------------|
|                                                  | n          | %            |
| <b>Tempo de diagnóstico de infecção pelo HIV</b> |            |              |
| Menor que 1 mês                                  | 18         | 39,1         |
| 1 a 6 meses                                      | 12         | 26,1         |
| 6 a 12 meses                                     | 3          | 6,5          |
| 12 a 24 meses                                    | 2          | 4,3          |
| 24 a 48 meses                                    | 2          | 4,3          |
| 48 a 72 meses                                    | 2          | 4,3          |
| 72 a 120 meses                                   | 6          | 13,0         |
| Maior que 180 meses                              | 1          | 2,2          |
| <b>Última carga viral</b>                        |            |              |
| Não realizada                                    | 32         | 69,6         |
| Indetectável                                     | 3          | 6,5          |
| 501 a 3.000 cópias/mL                            | 1          | 2,2          |
| 30.001 a 100.000 cópias/mL                       | 2          | 4,3          |
| 100.001 a 300.000 cópias/mL                      | 4          | 8,7          |
| 300.000 a 749.999 cópias/mL                      | 1          | 2,2          |
| Maior que 750.000 cópias/mL                      | 3          | 6,5          |
| <b>Último CD4</b>                                |            |              |
| Não realizado                                    | 31         | 67,4         |
| Menos de 100 células/mm <sup>3</sup>             | 5          | 10,9         |
| 100 a 199 células/mm <sup>3</sup>                | 4          | 8,7          |
| 200 a 299 células/mm <sup>3</sup>                | 2          | 4,3          |
| 300 a 499 células/mm <sup>3</sup>                | 3          | 6,5          |
| 500 ou mais células/mm <sup>3</sup>              | 1          | 2,2          |
| <b>Total</b>                                     | <b>46</b>  | <b>100,0</b> |

A Tabela 14 mostra o percentual de uso de TARV entre os Infectados pelo HIV. Observa-se que 60,9% dos pacientes não utilizaram TARV.

Tabela 14 – Uso de TARV no grupo HIV, números absolutos e percentuais.

| Variáveis          | Caso (HIV) |              |
|--------------------|------------|--------------|
|                    | N          | %            |
| <b>Uso de TARV</b> |            |              |
| Sim                | 18         | 39,1         |
| Não                | 28         | 60,9         |
| <b>Total</b>       | <b>46</b>  | <b>100,0</b> |

A Tabela 15 mostra a distribuição dos antirretrovirais utilizados no grupo que utilizou TARV, num total de 18 pacientes. Os antirretrovirais utilizados com maior frequência foram Lamivudina, Zidovudina e Ritonavir.

Tabela 15 – Antirretrovirais utilizados.

| Antirretroviral | Caso (HIV) |              |
|-----------------|------------|--------------|
|                 | N          | %            |
| Lamivudina      | 18         | 100,0        |
| Zidovudina      | 16         | 88,9         |
| Ritonavir       | 11         | 61,1         |
| Estavudina      | 10         | 55,6         |
| Lopinavir       | 7          | 38,9         |
| Didanosina      | 6          | 33,3         |
| Indinavir       | 6          | 33,3         |
| Nelfinavir      | 6          | 33,3         |
| Tenofovir       | 5          | 27,8         |
| Nevirapina      | 3          | 16,7         |
| Atazanavir      | 3          | 16,7         |
| Saquinavir      | 3          | 16,7         |
| Abacavir        | 2          | 11,1         |
| Zalcitabina     | 1          | 5,6          |
| <b>Total</b>    | <b>18</b>  | <b>100,0</b> |

Dos 46 pacientes infectados pelo HIV, 41 (89,1%) apresentavam alguma infecção oportunista no momento do óbito. A Tabela 16 mostra a distribuição das infecções oportunistas. As infecções mais freqüentes foram Pneumocistose e Tuberculose.

Tabela 16 – Infecções oportunistas no grupo HIV, números absolutos e percentuais.

| <b>Infecções<br/>oportunistas</b> | <b>Caso (HIV)</b> |              |
|-----------------------------------|-------------------|--------------|
|                                   | <b>N</b>          | <b>%</b>     |
| Pneumocistose                     | 21                | 51,2         |
| Tuberculose                       | 18                | 43,9         |
| Citomegalovirose                  | 6                 | 14,6         |
| Toxoplasmose                      | 6                 | 14,6         |
| Criptococose                      | 2                 | 4,9          |
| Isosporiase                       | 1                 | 2,4          |
| Criptosporidiose                  | 1                 | 2,4          |
| <b>Total</b>                      | <b>41</b>         | <b>100,0</b> |

#### 4.5 Causas de óbito

A Tabela 17 mostra a distribuição das principais causas de óbito agrupadas. As causas infecciosas predominam no grupo HIV com diferença estatisticamente significativa. Observa-se, no grupo controle, maior percentual de causas agrupadas não infecciosas: doenças do aparelho circulatório, doenças do aparelho digestivo e neoplasias com diferença estatística.

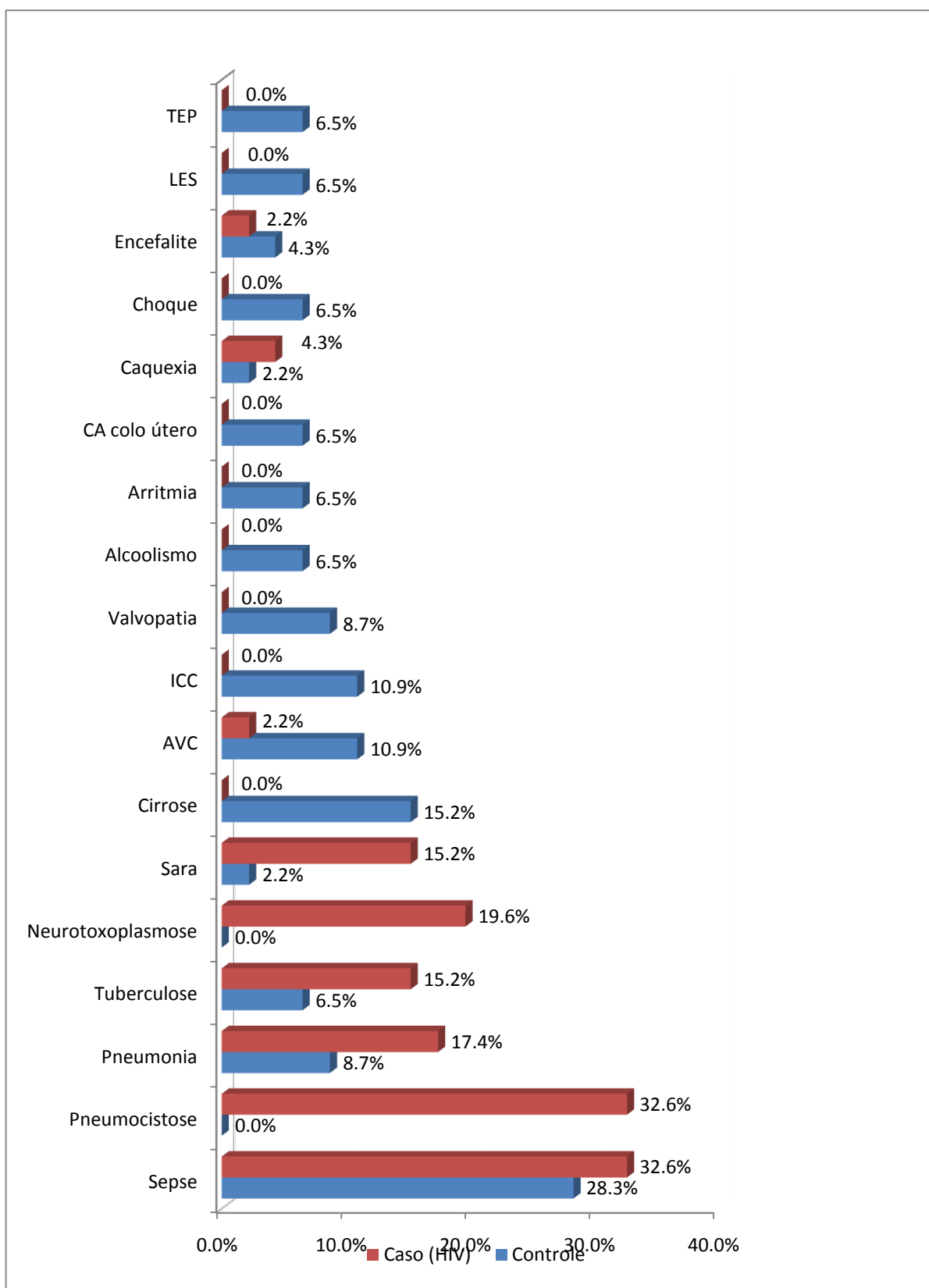
Tabela 17 – Distribuição e comparação das causas de óbito agrupadas no grupo infectados pelo HIV e controle.

| Causa da morte                   | Caso (HIV) |              | Controle  |              | p-valor  | Geral     |              |
|----------------------------------|------------|--------------|-----------|--------------|----------|-----------|--------------|
|                                  | n          | %            | n         | %            |          | N         | %            |
| Doenças infecciosas              | 46         | 100,0        | 20        | 43,5         | 0,000*   | 66        | 71,7         |
| Doenças do aparelho circulatório | 0          | 0,0          | 15        | 32,6         | 0,000*   | 15        | 16,3         |
| Doenças do aparelho digestivo    | 0          | 0,0          | 14        | 30,4         | 0,000*   | 14        | 15,2         |
| Neoplasias                       | 0          | 0,0          | 9         | 19,6         | 0,005*   | 9         | 9,8          |
| Doenças do aparelho respiratório | 7          | 15,2         | 7         | 15,2         | 0,772    | 14        | 15,2         |
| Doenças cerebrovasculares        | 1          | 2,2          | 6         | 13,0         | 0,118    | 7         | 7,6          |
| Doenças endócrinas               | 2          | 4,3          | 5         | 10,9         | 0,423    | 7         | 7,6          |
| Doenças inflamatórias            | 0          | 0,0          | 5         | 10,9         | 0,065    | 5         | 5,4          |
| Doenças do aparelho urinário     | 0          | 0,0          | 3         | 6,5          | 0,242    | 3         | 3,3          |
| <b>Total</b>                     | <b>46</b>  | <b>100,0</b> | <b>46</b> | <b>100,0</b> | <b>-</b> | <b>92</b> | <b>100,0</b> |

\*: significância estatística

O Gráfico 2 mostra a distribuição das 18 causas de morte mais freqüentes analisadas isoladamente. Observa-se que a Sepse é a causa de óbito isolada mais freqüente em ambos os grupos. No grupo HIV, Pneumocistose e Neurotoxoplasmose foram mais freqüentes com diferença estatística em relação ao grupo controle. No grupo controle aparece a Cirrose hepática como segunda causa isolada de óbito mais freqüente também com significância estatística.

Gráfico 2 – Distribuição percentual das causas isoladas de morte segundo grupos.



TEP: Tromboembolismo Pulmonar; LES: Lupus Eritematoso Sistêmico; CA: câncer; ICC: Insuficiência Cardíaca; AVC: Acidente Vascular Encefálico; Sara: Síndrome da Angústia Respiratória do Adulto

## 4.6 Tireoidite

A Tabela 18 mostra a frequência dos sinais microscópicos de tireoidite segundo grupos. Observa-se frequência semelhante de sinais microscópicos de tireoidite em ambos os grupos.

Tabela 18 – Sinais Microscópicos de tireoidite segundo grupos.

| Sinais inflamatórios | Caso (HIV) |              | Controle  |              | p-valor  | Geral     |              |
|----------------------|------------|--------------|-----------|--------------|----------|-----------|--------------|
|                      | N          | %            | n         | %            |          | N         | %            |
| Ausente              | 15         | 32,6         | 15        | 32,6         | 0,824    | 30        | 32,6         |
| Presente             | 31         | 67,4         | 31        | 67,4         | 0,824    | 62        | 67,4         |
| <b>Total</b>         | <b>46</b>  | <b>100,0</b> | <b>46</b> | <b>100,0</b> | <b>-</b> | <b>92</b> | <b>100,0</b> |

A Tabela 19 mostra a categorização dos sinais inflamatórios entre os grupos. Para categorização, os sinais inflamatórios foram divididos em aglomerado com menos do que 50 células (Figura 12A) e aglomerado com mais de 50 células inflamatórias (Figura 12C). Observa-se menor frequência de aglomerado com mais de 50 células no grupo HIV, porém sem significância estatística pelo teste do qui-quadrado.

Tabela 19 – Categorização dos sinais inflamatórios segundo grupos-Teste qui-quadrado.

|                                           | Caso (HIV) |              | Controle  |              | p-valor  | Geral     |              |
|-------------------------------------------|------------|--------------|-----------|--------------|----------|-----------|--------------|
|                                           | N          | %            | n         | %            |          | N         | %            |
| <b>Aglomerado com menos de 50 células</b> |            |              |           |              |          |           |              |
| Ausente                                   | 16         | 34,8         | 16        | 34,8         | 0,827    | 32        | 34,8         |
| Presente                                  | 30         | 65,2         | 30        | 65,2         | 0,827    | 60        | 65,2         |
| <b>Aglomerado com mais de 50 células</b>  |            |              |           |              |          |           |              |
| Ausente                                   | 37         | 80,4         | 33        | 71,7         | 0,463    | 70        | 76,1         |
| Presente                                  | 9          | 19,6         | 13        | 28,3         | 0,463    | 22        | 23,9         |
| <b>Total</b>                              | <b>46</b>  | <b>100,0</b> | <b>46</b> | <b>100,0</b> | <b>-</b> | <b>92</b> | <b>100,0</b> |

Na Tabela 20 observa-se maior freqüência de sinais inflamatórios no grupo HIV que utilizou TARV em relação ao grupo HIV que não utilizou, sem significância estatística pelo teste do qui-quadrado.

Tabela 20– Distribuição de sinais microscópicos de inflamação no grupo HIV e uso de TARV.

| Sinais inflamatórios | Uso de TARV |              |           |              | p-valor  | Geral     |              |
|----------------------|-------------|--------------|-----------|--------------|----------|-----------|--------------|
|                      | Sim         |              | Não       |              |          | N         | %            |
|                      | N           | %            | n         | %            |          |           |              |
| Ausente              | 5           | 27,8         | 10        | 35,7         | 0,814    | 15        | 32,6         |
| Presente             | 13          | 72,2         | 18        | 64,3         | 0,814    | 31        | 67,4         |
| <b>Total</b>         | <b>18</b>   | <b>100,0</b> | <b>28</b> | <b>100,0</b> | <b>-</b> | <b>46</b> | <b>100,0</b> |

Na Tabela 21 observam-se os sinais inflamatórios com os mesmos critérios de categorização utilizados na Tabela 19 no grupo HIV segundo utilização de TARV. Observa-se maior freqüência de aglomerados no grupo que utilizou TARV em relação ao que não utilizou, porém sem significância estatística pelo teste do qui-quadrado.

Tabela 21 – Categorização dos sinais inflamatórios no grupo de infectados pelo HIV segundo uso de TARV, números absolutos e percentuais.

|                                           | Uso de TARV |              |           |              | p-valor  | Geral     |              |
|-------------------------------------------|-------------|--------------|-----------|--------------|----------|-----------|--------------|
|                                           | Sim         |              | Não       |              |          | N         | %            |
|                                           | N           | %            | N         | %            |          |           |              |
| <b>Aglomerado com menos de 50 células</b> |             |              |           |              |          |           |              |
| Ausente                                   | 6           | 33,3         | 10        | 35,7         | 0,881    | 16        | 34,8         |
| Presente                                  | 12          | 66,7         | 18        | 64,3         | 0,881    | 30        | 65,2         |
| <b>Aglomerado com mais de 50 células</b>  |             |              |           |              |          |           |              |
| Ausente                                   | 14          | 77,5         | 23        | 82,1         | 0,998    | 37        | 80,7         |
| Presente                                  | 4           | 22,2         | 5         | 17,9         | 0,998    | 9         | 19,6         |
| <b>Total</b>                              | <b>18</b>   | <b>100,0</b> | <b>28</b> | <b>100,0</b> | <b>-</b> | <b>46</b> | <b>100,0</b> |

## Prancha inflamação

#### 4.7 Detecção de microrganismos na tireóide

A Tabela 22 descreve todos os casos onde houve suspeita da presença de microrganismos na tireóide em toda a amostra, incluindo os casos sem pareamento, totalizando 63 casos de infecção pelo HIV e 67 controles. No grupo de infectados pelo HIV houve suspeita de microrganismos na tireóide em 12 casos (19,04%) e no grupo controle em 2 casos (3%). Sendo que desses, em 9 casos houve visualização direta de agentes e em 3 foram visualizados granulomas epitelióides sugestivos de infecção por agentes específicos, mas sem detecção de BAAR pelo método de Ziehl-Neelsen. Foram encontrados, no grupo de infectados pelo HIV, *Cryptococcus sp.* (Figuras 13G e 13H) em 4 casos (33%), Granulomas epitelióides (Figura 12B) em 3 casos (25%), células de inclusão citomegálica (Figuras 13A, 13B) em 2 casos (16%), *Paracoccidioides brasiliensis* (Figuras 13D e 13K) em 1 caso (8%), *Candida sp.* (Figuras 13E, 13F, 13I e 13J) em 1 caso (8%) e *Staphylococcus aureus* (Figura 13C) em 1 caso (8%), este último confirmado por hemocultura. No grupo controle foram encontrados granulomas necrosantes em dois casos, um associado à tuberculose sistêmica sem a detecção do BAAR e o outro associado a microorganismo basofílico em degradação.

Tabela 22 – Microrganismos suspeitos detectados em todas as tireóides da amostra, (sem pareamento 1:1).

| Caso | Infecção pelo HIV | Infecções detectadas na internação hospitalar                                      | H/E ou Grocott                              | Hemocultura                  |
|------|-------------------|------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|------------------------------|
| 7137 | Sim               | Histoplasmose                                                                      | Inclusão Citomegálica                       | Não realizada                |
| 7380 | Sim               | Tuberculose                                                                        | Granuloma epitelióide                       | Não realizada                |
| 7798 | Sim               | Stafilococcia                                                                      | Estafilococos                               | <i>Staphylococcus aureus</i> |
| 7819 | Sim               | Pneumocistose<br>Tuberculose                                                       | Inclusão Citomegálica                       | Não realizada                |
| 7896 | Sim               | Pneumonia<br>Candidíase oral<br>Pneumocistose                                      | Granuloma                                   | Não realizada                |
| 8208 | Sim               | Pneumonia<br>Leishmaniose<br>Tuberculose<br>Pneumocistose                          | <i>Paracoccidioides brasiliensis</i>        | Não realizada                |
| 8306 | Sim               | Pneumonia<br>Leishmaniose<br>Herpes Zoster<br>Candidíase oral                      | <i>Cryptococcus sp.</i>                     | Não realizada                |
| 8379 | Não               | Tuberculose<br>Cirrose                                                             | Granuloma necrosante                        | Não realizada                |
| 8424 | Sim               | Pneumocistose<br>Tuberculose<br>Candidíase oral                                    | Hifas septadas sugestivas <i>Candida sp</i> | Não realizada                |
| 8475 | Sim               | Neurotuberculose                                                                   | <i>Cryptococcus sp.</i>                     | Não realizada                |
| 8635 | Não               | Insuficiência Renal<br>Síndrome nefrótica<br>Trombose Venosa Profunda              | Granuloma                                   | Não realizada                |
| 8792 | Sim               | Pneumocistose<br>Candidíase oral                                                   | Granuloma epitelióide                       | Não realizada                |
| 8874 | Sim               | Estafilococcia<br>Histoplasmose<br>Tuberculose<br>Candidíase oral<br>Pneumocistose | <i>Cryptococcus sp.</i>                     | Não realizada                |
| 8966 | Sim               | Histoplasmose<br>Tuberculose<br>Pneumocistose                                      | <i>Cryptococcus sp.</i>                     | Não realizada                |

## Prancha infecção

## 4.8 Método Imuno-histoquímico

Observou-se comportamento assimétrico das células CD4+, CD8+ interfolicular, CD8+ intraepitelial e CD20+ demonstradas respectivamente pelos Gráficos 3, 4, 5 e 6. Na Tabela 23 observa-se, pelo teste de Shapiro-Wilk, a confirmação da distribuição anormal das variáveis.

Gráfico 3- Distribuição células CD4+ segundo grupos.

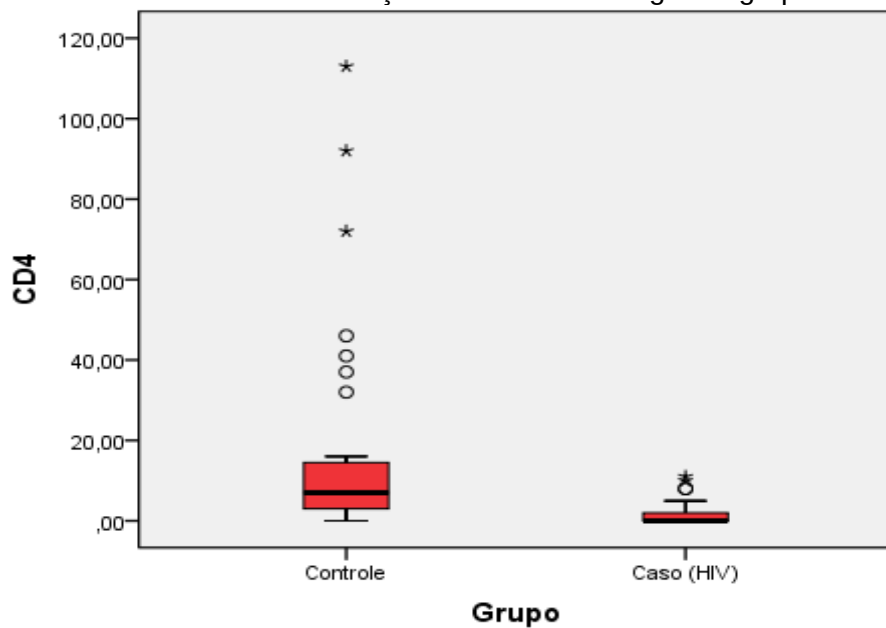


Gráfico 4- Distribuição células CD8+ de localização interfolicular segundo grupos.

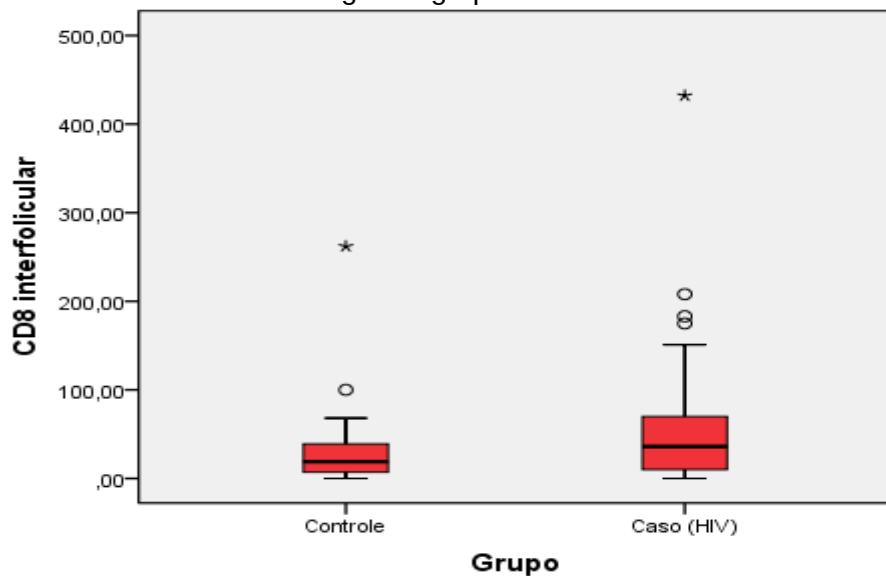


Gráfico 5- Distribuição células CD8+ de localização intraepitelial segundo grupos.

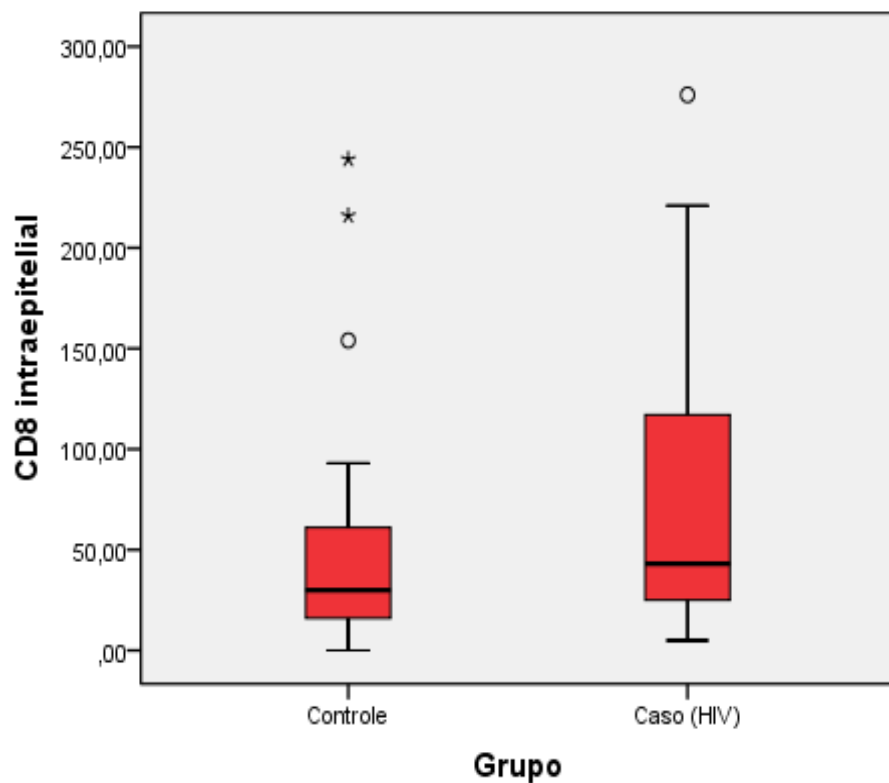


Gráfico 6 - Distribuição células CD20+ segundo grupos.

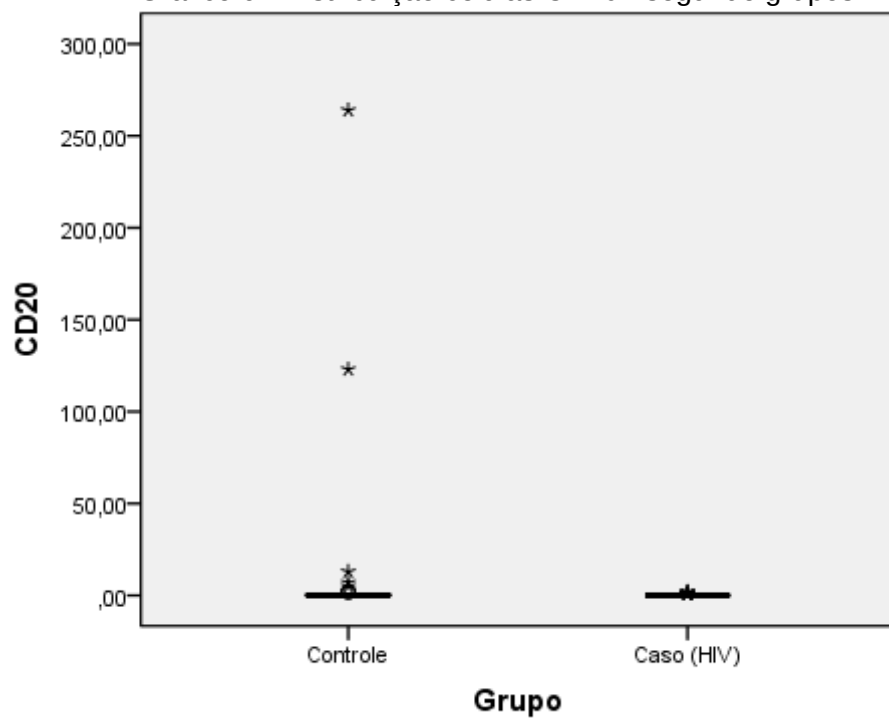


Tabela 23 – Resultados do teste de Shapiro-Wilk para as células CD4+, CD8+ interfolicular, CD8+ intraepitelial e CD20+.

| Variáveis          | Controle | Caso (HIV) |
|--------------------|----------|------------|
| CD4                | 0,000*   | 0,000*     |
| CD8 interfolicular | 0,000*   | 0,000*     |
| CD8 intraepitelial | 0,000*   | 0,000*     |
| CD20               | 0,000*   | 0,000*     |

\* p-valor < 0,050 – rejeita-se a hipótese de normalidade.

A Tabela 24 mostra o resultado da comparação das células coradas positivamente pela imuno-histoquímica para os marcadores CD4 (Figuras 14I,14J e 14K), CD20 (Figuras 14F, 14G e 14 H) e CD8 com distribuição interfolicular (Figura 14L) e intraepitelial (Figura 14M) entre os grupos HIV e controle. O teste utilizado foi o teste não paramétrico de Mann-Whitney. Observa-se que há diferença estatisticamente significativa entre os grupos para a variável células CD4+ sendo menor no grupo de infectados pelo HIV com valor de significância estatística próximo a zero.

Tabela 24 –Resultado do teste de Mann-Whitney para comparação das células CD4+, CD20+, CD8+ de distribuição interfolicular e CD8+ de distribuição intraepitelial segundo grupos.

| Variáveis           | Grupo      | Postos Médios | p-valor |
|---------------------|------------|---------------|---------|
| CD4+                | Controle   | 51,71         | 0,000*  |
|                     | Caso (HIV) | 25,26         |         |
| CD20+               | Controle   | 0,4           | 0,339   |
|                     | Caso (HIV) | 0,37          |         |
| CD8+ interfolicular | Controle   | 32,87         | 0,083   |
|                     | Caso (HIV) | 41,49         |         |
| CD8+ intraepitelial | Controle   | 32,67         | 0,069   |
|                     | Caso (HIV) | 41,70         |         |

\*: significância estatística

Não foi encontrada positividade imuno-histoquímica para o antígeno viral p24 (Figura 14A) durante o inventário das 92 tireóides da amostra em estudo.

## Prancha imuno

#### 4.9 Alterações histopatológicas não inflamatórias

A Tabela 25 apresenta a distribuição das alterações foliculares entre os grupos. Verifica-se que as alterações mais freqüentemente encontradas foram lise folicular, hipotrofia e presença de lipofuscina em ambos os grupos. Não houve diferença estatisticamente significativa, entre os grupos, para as variáveis analisadas.

Tabela 25 – Distribuição das alterações morfológicas foliculares segundo grupos.

| Alterações morfológicas<br>Folículos              | Caso (HIV) |              | Controle  |              | p-valor  | Geral     |              |
|---------------------------------------------------|------------|--------------|-----------|--------------|----------|-----------|--------------|
|                                                   | n          | %            | n         | %            |          | n         | %            |
| Lise                                              | 31         | 67,4         | 27        | 58,7         | 0,517    | 58        | 63,0         |
| Hipotrofia                                        | 30         | 65,2         | 32        | 69,6         | 0,820    | 62        | 67,4         |
| Lipofuscina                                       | 13         | 28,3         | 14        | 30,4         | 0,994    | 27        | 29,3         |
| Metaplasia oxifílica                              | 4          | 8,7          | 6         | 13,0         | 0,743    | 10        | 10,9         |
| Autólise                                          | 5          | 10,9         | 3         | 6,5          | 0,705    | 8         | 8,7          |
| Vestígios remanescentes do corpo último branquial | 4          | 8,7          | 4         | 8,7          | 0,711    | 8         | 8,7          |
| Dissociação do epitélio folicular                 | 3          | 6,5          | 3         | 6,5          | 0,672    | 6         | 6,5          |
| Dilatação                                         | 3          | 6,5          | 3         | 6,5          | 0,672    | 6         | 6,5          |
| Hiperplasia papilar                               | 1          | 2,2          | 4         | 8,7          | 0,361    | 5         | 5,4          |
| Sem alterações                                    | 1          | 2,2          | 2         | 4,3          | 0,984    | 3         | 3,3          |
| Interstício escasso                               | 1          | 2,2          | 0         | 0,0          | 0,990    | 1         | 1,1          |
| <b>Total</b>                                      | <b>46</b>  | <b>100,0</b> | <b>46</b> | <b>100,0</b> | <b>-</b> | <b>92</b> | <b>100,0</b> |

A Tabela 26 apresenta a distribuição das alterações morfológicas do colóide entre os grupos. Foi observada maior freqüência de colóide granular (Figuras 15D, 15E e 15H) e retraído (Figura 15B) no grupo HIV com diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle. Para as demais variáveis não houve diferença.

Tabela 26 – Distribuição das alterações morfológicas colóide segundo grupos.

| Alterações morfológicas<br>Colóide | Caso (HIV) |              | Controle  |              | p-valor  | Geral     |              |
|------------------------------------|------------|--------------|-----------|--------------|----------|-----------|--------------|
|                                    | n          | %            | n         | %            |          | n         | %            |
| Granular                           | 41         | 89,1         | 23        | 50,0         | 0,000*   | 64        | 69,6         |
| Retraído                           | 32         | 69,6         | 20        | 43,5         | 0,021*   | 52        | 56,5         |
| Invasão macrofágica                | 27         | 58,7         | 18        | 39,1         | 0,095    | 45        | 48,9         |
| Basofílico                         | 12         | 26,1         | 12        | 26,1         | 0,812    | 24        | 26,1         |
| Em alvo                            | 11         | 23,9         | 6         | 13,0         | 0,281    | 17        | 18,5         |
| Vacuolização periférica            | 1          | 2,2          | 5         | 10,9         | 0,206    | 6         | 6,5          |
| Abundante                          | 4          | 8,7          | 4         | 8,7          | 0,711    | 8         | 8,7          |
| Cristais oxalato                   | 4          | 8,7          | 1         | 2,2          | 0,361    | 5         | 5,4          |
| Fagocitose macrofágica colóide     | 2          | 4,3          | 0         | 0,0          | 0,482    | 2         | 2,2          |
| Denso                              | 1          | 2,2          | 1         | 2,2          | 0,477    | 2         | 2,2          |
| Fluido                             | 0          | 0,0          | 1         | 2,2          | 0,990    | 1         | 1,1          |
| <b>Total</b>                       | <b>46</b>  | <b>100,0</b> | <b>46</b> | <b>100,0</b> | <b>-</b> | <b>92</b> | <b>100,0</b> |

\*: significância estatística

A Tabela 27 mostra a distribuição de outras alterações histopatológicas. Não se observa diferença estatisticamente significativa para as variáveis avaliadas. Dentro dos grupos pareados houve detecção de microorganismos em tecido tireoidiano em 3 tireóides, todas do grupo HIV (marcadas com †) e em nenhuma do grupo controle.

Tabela 27 - Distribuição e comparação de outras alterações histopatológicas dignas de nota segundo grupos.

| Outras alterações          | Caso (HIV) |              | Controle  |              | p-valor  | Geral     |              |
|----------------------------|------------|--------------|-----------|--------------|----------|-----------|--------------|
|                            | n          | %            | n         | %            |          | N         | %            |
| Hipotrofia lobular         | 3          | 17,6         | 10        | 40,0         | 0,230    | 13        | 31,0         |
| Infiltração adiposa        | 6          | 35,3         | 7         | 28,0         | 0,871    | 13        | 31,0         |
| Nódulo adenomatóide        | 0          | 0,0          | 4         | 16,0         | 0,231    | 4         | 9,5          |
| Granuloma                  | 4          | 23,5         | 2         | 8,0          | 0,337    | 6         | 14,2         |
| Nódulo colóide             | 2          | 11,8         | 1         | 4,0          | 0,724    | 3         | 7,1          |
| Adenocarcinoma metastático | 0          | 0,0          | 2         | 8,0          | 0,648    | 2         | 4,8          |
| Criptococose†              | 1          | 5,9          | 0         | 0,0          | 0,842    | 1         | 2,4          |
| Paracoccidiodomicose†      | 1          | 5,9          | 0         | 0,0          | 0,842    | 1         | 2,4          |
| Hifas septadas†            | 1          | 5,9          | 0         | 0,0          | 0,842    | 1         | 2,4          |
| Embolia                    | 1          | 5,9          | 0         | 0,0          | 0,842    | 1         | 2,4          |
| Linfangite carcinomatosa   | 0          | 0,0          | 1         | 4,0          | 0,844    | 1         | 2,4          |
| Calcificação distrófica    | 0          | 0,0          | 1         | 4,0          | 0,844    | 1         | 2,4          |
| <b>Total</b>               | <b>19</b>  | <b>100,0</b> | <b>28</b> | <b>100,0</b> | <b>-</b> | <b>47</b> | <b>100,0</b> |

†: Microorganismos em tecido tireoidiano

**Prancha colóide**

**Prancha outras**

#### 4.10 Volume tireoidiano

Verificou-se pouca assimetria no comportamento da variável volume tireoidiano demonstrada no Gráfico 7 também indicado pelo teste de Shapiro-Wilk representado pela Tabela 28 que confirmam a distribuição normal da variável.

Gráfico 7 – Distribuição do Volume segundo grupos.

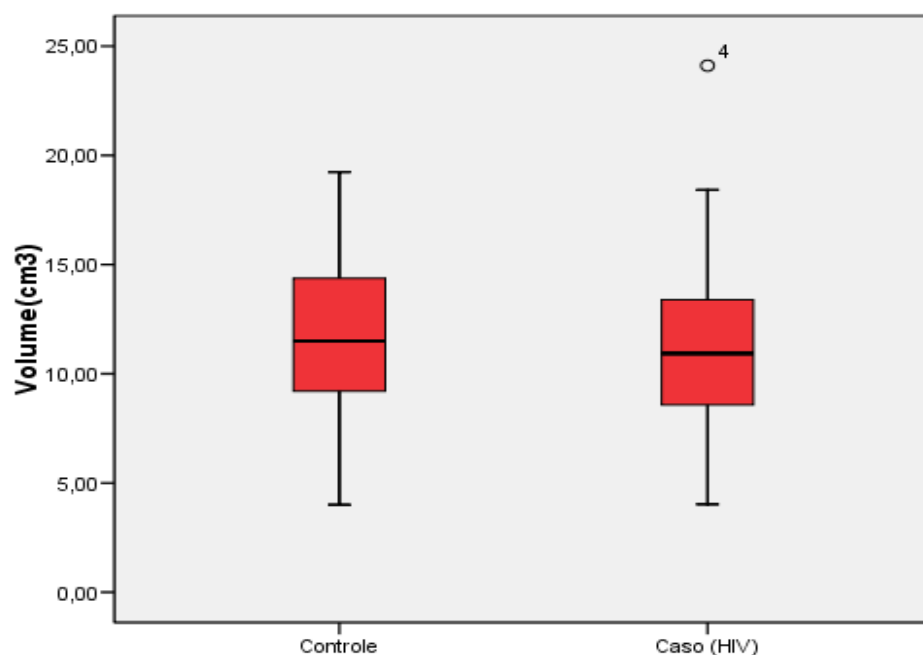


Tabela 28 – Resultados (p-valores) do teste de Shapiro-Wilk para a variável Volume tireoidiano.

| Variáveis   | Controle | Caso (HIV) |
|-------------|----------|------------|
| Volume(cm3) | 0,557    | 0,072      |

\* p-valor < 0,050 – rejeita-se a hipótese de normalidade.

A Tabela 29 mostra a comparação do volume tireoidiano entre os grupos utilizando-se o teste t. Não houve diferença estatisticamente significativa para o volume tireoidiano entre os grupos HIV e controle.

Tabela 29 – Resultados dos testes de comparação do volume tireoidiano segundo grupos pelo teste t.

| Variáveis   | Grupo      | Média | Desvio-Padrão | Intervalo de confiança de 95% | p-valor |
|-------------|------------|-------|---------------|-------------------------------|---------|
| Volume(cm3) | Controle   | 11,52 | 3,4           | 10,52-12,54                   | 0,45    |
|             | Caso (HIV) | 10,93 | 3,93          | 9,8-12,11                     |         |

A Tabela 30 mostra a comparação do volume tireoidiano entre os sexos Masculino e Feminino utilizando-se o teste t. Houve diferença estatisticamente significativa para o volume tireoidiano sendo maior no grupo masculino.

Tabela 30 – Resultados dos testes de comparação do volume tireoidiano segundo sexo pelo teste t.

| Variáveis   | Grupo     | Média | Desvio-Padrão | p-valor |
|-------------|-----------|-------|---------------|---------|
| Volume(cm3) | Masculino | 12,13 | 12,4          | 0,0005* |
|             | Feminino  | 9,38  | 11,45         |         |

\*: significância estatística

#### 4.11 Ecogenicidade

Foi verificada pouca assimetria no comportamento da variável ecogenicidade tireoidiana mostrada no Gráfico 8, também indicado pelo teste de Shapiro-Wilk mostrado na Tabela 31 que confirma a distribuição normal da variável.

Gráfico 8 – Distribuição da Ecogenicidade segundo grupos.

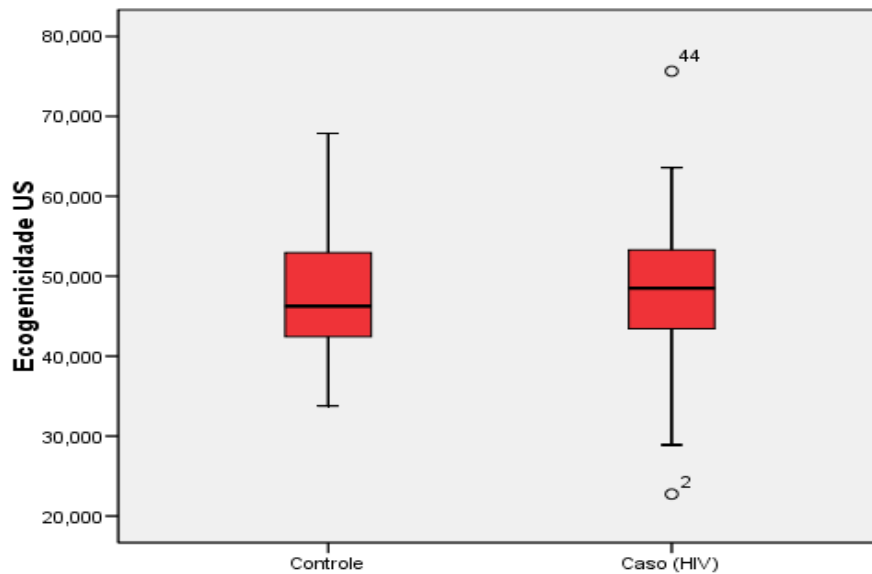


Tabela 31 – Resultados (p-valores) do teste de Shapiro-Wilk para a variável Ecogenicidade.

| Variáveis     | Controle | Caso (HIV) |
|---------------|----------|------------|
| Ecogenicidade | 0,057    | 0,451      |

\* p-valor < 0,050 – rejeita-se a hipótese de normalidade.

Na Tabela 32 observa-se, na comparação entre os grupos, que não houve diferença estatisticamente significativa para a ecogenicidade tireoidiana utilizando-se o teste t.

Tabela 32 – Resultados dos testes de comparação da ecogenicidade segundo grupos pelo teste t.

| Variáveis     | Grupo      | Média | Desvio-Padrão | Intervalo de confiança de 95% | p-valor |
|---------------|------------|-------|---------------|-------------------------------|---------|
| Ecogenicidade | Controle   | 47,77 | 8,47          | 45,25-50,28                   | 0,754   |
|               | Caso (HIV) | 48,35 | 9,16          | 45,63 -51,07                  |         |

#### 4.12 Dimensão da área de ocupação folicular

Observou-se pouca assimetria no comportamento da dimensão da área folicular tireoidiana observada no Gráfico 9. Na Tabela 33 observa-se, pelo teste de Shapiro-Wilk, a confirmação da distribuição normal da variável.

Gráfico 9 – Distribuição da área folicular segundo grupos.

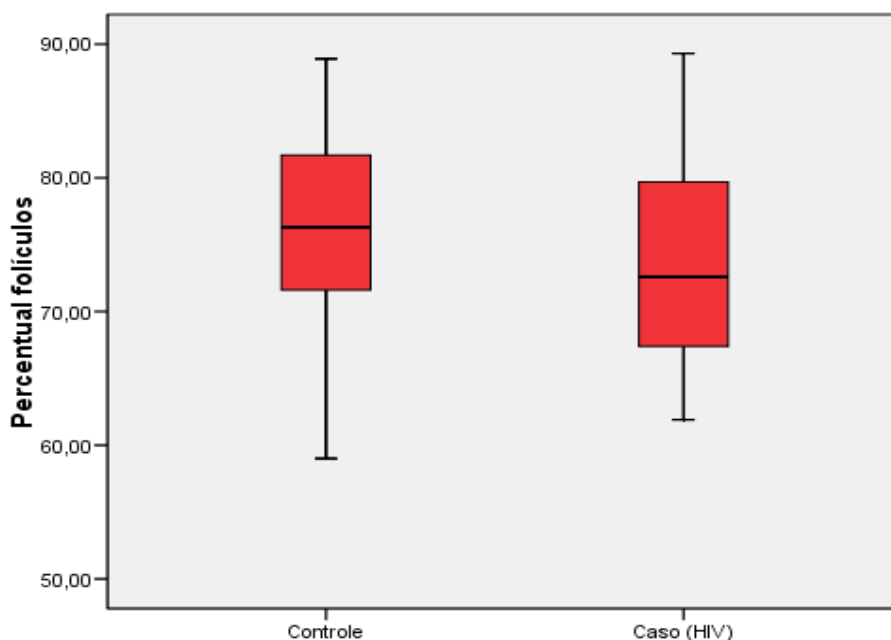


Tabela 33– Resultados (p-valores) do teste de Shapiro-Wilk para a variável Dimensão área folicular.

| Variáveis            | Controle | Caso (HIV) |
|----------------------|----------|------------|
| Percentual foliculos | 0,486    | 0,231      |

\* p-valor < 0,050 – rejeita-se a hipótese de normalidade.

A Tabela 34 mostra o resultado da comparação da dimensão da área folicular entre grupos HIV e controle. Observa-se que não há diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

Tabela 34 – Resultados dos testes de comparação da dimensão área folicular segundo grupos - Teste t para médias.

| Variáveis                        | Grupo      | Média | Desvio-padrão | Intervalo de confiança de 95% | p-valor |
|----------------------------------|------------|-------|---------------|-------------------------------|---------|
| Percentual de ocupação folicular | Controle   | 76,54 | 7,14          | 74,42-78,66                   | 0,071   |
|                                  | Caso (HIV) | 73,77 | 7,37          | 71,59-75,96                   |         |

A Tabela 35 mostra o teste de correlação entre a dimensão da área de ocupação folicular e ecogenicidade utilizando-se o coeficiente de correlação de Spearmen. Não se observa correlação significativa.

Tabela 35 – Resultados da correlação da ecogenicidade com percentual de ocupação folicular pelo teste de Spearmen.

| Grupos   | Ecogenicidade x                  | Coeficiente de correlação | p-valor |
|----------|----------------------------------|---------------------------|---------|
| Controle | Percentual de ocupação folicular | -0,009                    | 0,953   |
| HIV      | Percentual de ocupação folicular | -0,201                    | 0,182   |

A Tabela 36 mostra o resultado da comparação da dimensão folicular entre sexos dentro do grupo controle e dentro do grupo HIV. Observa-se que há diferença estatisticamente significativa também sendo maior em mulheres do grupo controle, porém sem significância estatística no grupo de infectados pelo HIV.

Tabela 36 – Resultados dos testes de comparação da dimensão de área folicular segundo sexo no grupo controle e HIV - Teste de Mann-Whitney.

| Variáveis               | Grupo    | Média     | Desvio-padrão | p-valor |
|-------------------------|----------|-----------|---------------|---------|
| Dimensão área folicular | Controle | Masculino | 74,58         | 0,0075* |
|                         |          | Feminino  | 80,57         |         |
| Dimensão área folicular | HIV      | Masculino | 72,9          | 0,205   |
|                         |          | Feminino  | 75,5          |         |

\*: significância estatística

#### 4.13 Quantificação do colágeno tipo I e colágeno tipo III

Observou-se assimetria na distribuição das variáveis colágeno tipo I e tipo III mostradas nos Gráficos 10 e 11. Na Tabela 37 observa-se, pelo teste de Shapiro-Wilk, a confirmação da distribuição anormal das variáveis.

Gráfico 10 – Distribuição do Colágeno tipo I segundo grupos.

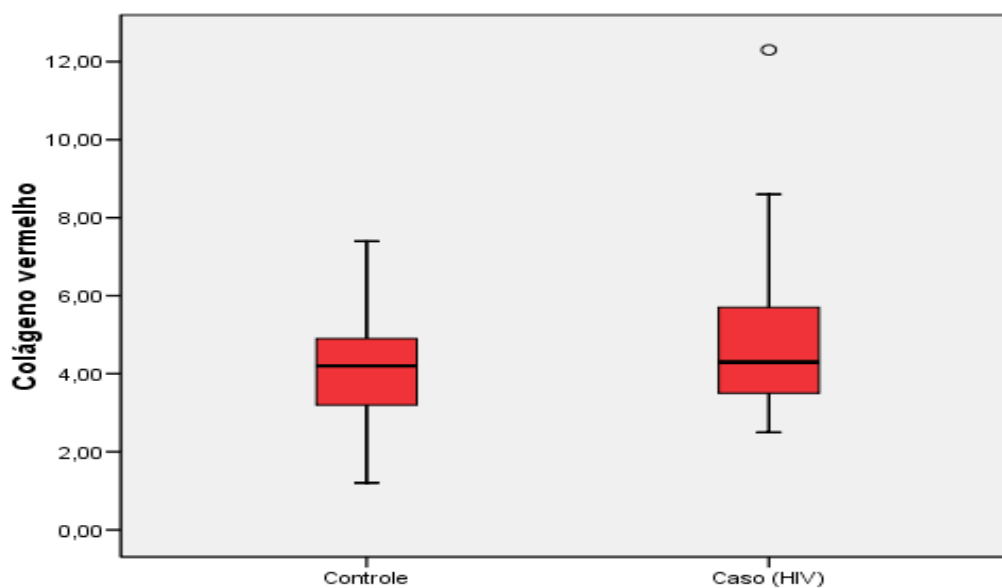


Gráfico 11 – Distribuição do Colágeno tipo III segundo grupos.

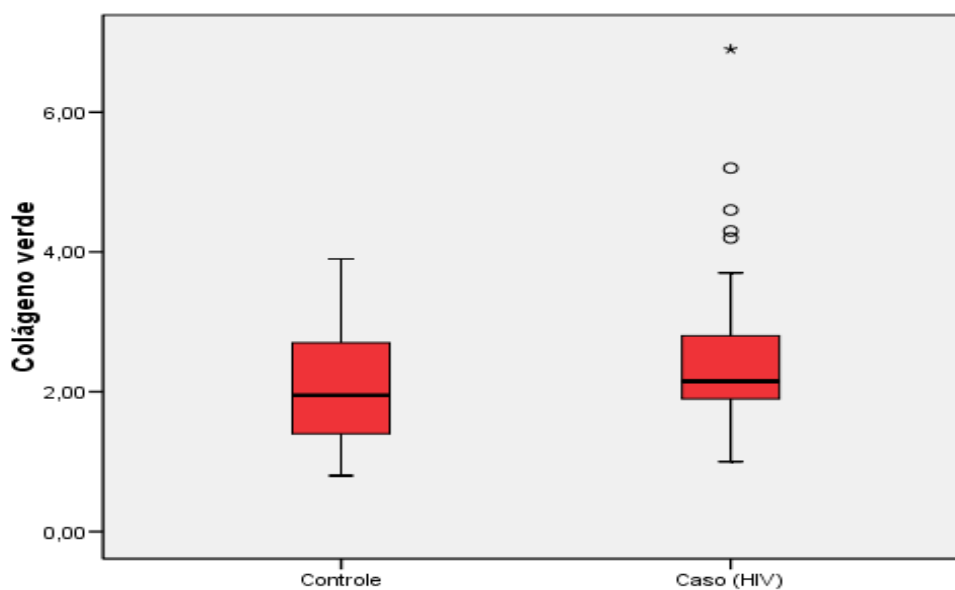


Tabela 37 – Resultados (p-valores) do teste de Shapiro-Wilk para as variáveis Colágeno tipo I e Colágeno tipo III.

| Variáveis         | Controle | Caso (HIV) |
|-------------------|----------|------------|
| Colágeno tipo I   | 0,706    | 0,000*     |
| Colágeno tipo III | 0,013*   | 0,000*     |

\* p-valor < 0,050 – rejeita-se a hipótese de normalidade.

A Tabela 38 mostra o resultado da comparação das quantidades de colágeno tipo I e colágeno tipo III entre os grupos HIV e controle. O teste utilizado foi o teste não paramétrico de Mann-Whitney. Observa-se que não há diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

Tabela 38 – Resultados dos testes de comparação de colágeno tipo I e colágeno tipo III segundo grupos - Teste não paramétrico de Mann-Whitney.

|                   | Grupo      | Mediana | Postos médios | p-valor |
|-------------------|------------|---------|---------------|---------|
| Colágeno tipo I   | Controle   | 4,20    | 42,95         | 0,201   |
|                   | Caso (HIV) | 4,30    | 50,05         |         |
| Colágeno tipo III | Controle   | 1,95    | 41,85         | 0,094   |
|                   | Caso (HIV) | 2,15    | 51,15         |         |

A Tabela 39 mostra o teste de correlação entre quantidade de colágeno tipo I e colágeno tipo III e ecogenicidade utilizando-se o coeficiente de correlação de Spearmen. Não se observa correlação significativa.

Tabela 39– Resultados da correlação da ecogenicidade com quantidade de colágeno tipo I e colágeno tipo III- teste de Spearmen.

| Grupos   | Ecogenicidade x   | Coeficiente de correlação | p-valor        |
|----------|-------------------|---------------------------|----------------|
| Controle | Colágeno tipo I   | -0,146                    | 0,331<br>0,738 |
|          | Colágeno tipo III | 0,051                     |                |
| HIV      | Colágeno tipo I   | 0,215                     | 0,151<br>0,507 |
|          | Colágeno tipo III | 0,100                     |                |

A Tabela 40 mostra o resultado da comparação das quantidades de colágeno tipo I e colágeno tipo III entre os grupos HIV e controle estratificados por sexo. O teste utilizado foi o teste não paramétrico de Mann-Whitney. Observa-se que não há diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

Tabela 40 – Resultados dos testes de comparação de colágeno tipo I e colágeno tipo III segundo Sexo nos grupos - Teste não paramétrico de Mann-Whitney.

| Variáveis         |          | Grupo     | Média | Desvio-padrão | p-valor |
|-------------------|----------|-----------|-------|---------------|---------|
| Colágeno tipo I   | Controle | Masculino | 3,66  | 1,03          | 0,06    |
|                   |          | Feminino  | 4,47  | 2,3           |         |
| Colágeno tipo I   | HIV      | Masculino | 5,05  | 4,83          | 0,99    |
|                   |          | Feminino  | 4,66  | 2,19          |         |
| Colágeno tipo III | Controle | Masculino | 2,2   | 0,9           | 0,4     |
|                   |          | Feminino  | 1,86  | 0,6           |         |
| Colágeno tipo III | HIV      | Masculino | 2,65  | 1,25          | 0,14    |
|                   |          | Feminino  | 2,14  | 0,9           |         |

## 5.1 Análise crítica das amostras estudadas

O presente estudo analisou dados provenientes de uma população atendida em um Hospital Universitário de alta complexidade cuja característica é receber pacientes portadores de comorbidades. Nos estudos retrospectivos em que é necessária a comparação com controles, estes devem ser selecionados aleatoriamente. Na presente amostra, utilizou-se a comparação com casos autopsiados no mesmo serviço, pareados por sexo e idade, selecionados pela proximidade dos registros de autópsia ocorridos imediatamente antes ou depois do caso HIV identificado. No entanto, complicações decorrentes de vários fatores que não puderam ser totalmente mensurados podem exercer influência sobre a tireóide. Um exemplo é a impossibilidade de mensuração do aporte dietético de iodo que está associado a maior risco de tireoidite.<sup>99</sup>

Quando compararam-se os grupos selecionados, não houve diferença significativa nas médias de idade. No entanto, na distribuição do sexo, predominou o masculino contrastando com a maior frequência de doenças crônicas tireoidianas em mulheres após a quarta década de vida.<sup>54</sup> A não homogeneidade na distribuição do sexo pode ser atribuída a maior prevalência de infecção pelo HIV no sexo masculino em nosso meio àquela época.<sup>59</sup>

Fatores sócio-econômicos podem interferir nos resultados obtidos. No HUCAM, são atendidos pacientes de baixa renda provenientes, predominantemente, da Grande Vitória.

No Serviço de Patologia, somente são autopsiados os casos autorizados pelos familiares e aqueles em que o médico responsável solicita o exame. A indisponibilidade de muitos dados clínicos pode ser atribuída ao grande número de casos provenientes do Pronto Socorro em estado final da doença e que evoluíram rapidamente para o óbito. Durante o período em que o trabalho foi conduzido, ocorreram no Hospital, 285 óbitos cuja causa básica foi a infecção pelo HIV e 105 foram encaminhados para autópsia, correspondendo a 36,8% dos óbitos por infecção pelo HIV. A taxa geral de encaminhamento para exame de autópsia entre adultos no HUCAM que é de 39%.

Considerou-se, portanto, que as amostras são comparáveis, apesar de não ser possível a eliminação de todos os fatores de confusão que interferiram na amostra.

## **5.2 Fatores de risco para doenças tireoidianas e função tireoidiana**

Quanto aos registros, em prontuário, sobre fatores de risco para doenças tireoidianas chama atenção o baixo percentual (2,2%) de relatos sobre história familiar de tireoidopatias. Isso provavelmente se deve a despreocupação com a identificação desta condição no momento do atendimento clínico dos pacientes gravemente enfermos. Atualmente acredita-se que fatores desencadeadores genéticos responderiam pela maior parte da suscetibilidade a doença tireoidiana quando comparados aos fatores ambientais.<sup>54</sup>

Ainda sobre as características da amostra, observou-se que o grupo HIV apresentava maior percentual de uso de fármacos que afetam a tireóide. Quando analisados individualmente, observa-se que a Rifampicina foi o agente utilizado com maior frequência em ambos os grupos. A Rifampicina já foi identificada como indutora de aumento da degradação dos hormônios tireoidianos na periferia podendo contribuir para aumento compensatório da secreção hormonal tireoidiana.<sup>44</sup>

Quanto ao uso específico de Amiodarona, este foi significativamente maior no grupo controle. Nos dois casos identificados, havia intenso infiltrado inflamatório com vários focos inflamatórios, hipotrofia lobular e infiltração adiposa. Esse fármaco é sabidamente um indutor de diversos tipos de lesão tireoidiana, inclusive de natureza inflamatória.<sup>44,100</sup>

A Amiodarona é um antiarrítmico frequentemente utilizado na prática clínica que contém dois átomos de iodo por molécula. Se, para a população geral o aporte dietético ideal de iodo deve se manter em torno de 0,15 a 0,3 miligramas por dia; nos que usam diariamente 200mg de Amiodarona (dose média padrão) o aporte é de 6 miligramas por dia.<sup>100</sup> Os efeitos desse fármaco sobre a tireóide não são

consequência apenas do conteúdo de iodo do fármaco, como os efeitos de Wolff-Chaikoff ou Jod-Basedow (tireotoxicose tipo I), mas também pela inibição de deiodinação e ação tireotóxica direta. Os diversos tipos de agressão podem induzir a tireoidite destrutiva (tireotoxicose tipo II) caracterizada pela elevação de interleucina-6 com evolução para estados de hipotireoidismo.<sup>100</sup>

O níveis de TSH mantiveram-se dentro da faixa de normalidade nos 5 pacientes do presente estudo em que as dosagens de TSH foram aferidas e anotadas no prontuário. O reduzido número de casos não permitiu comparação entre os grupos ou com dados da literatura.

### **5.3 Status imune, uso de TARV e infecções oportunistas do grupo HIV**

No grupo HIV, o tempo médio de diagnóstico foi menor que seis meses e a maioria dos pacientes não tinha carga viral ou contagem hematimétrica de linfócitos T CD4 aferida. Entre os 15 pacientes que possuíam níveis aferidos, nove (60%) possuíam níveis de linfócitos T CD4 compatíveis com critérios para SIDA.<sup>63</sup> Apesar disso, apenas 39,1% dos pacientes da amostra haviam iniciado algum esquema TARV. Esses dados podem indicar precariedade na assistência primária e secundária de saúde com diagnóstico e início de tratamento tardios.

Quando se analisam os antirretrovirais utilizados, verifica-se o uso freqüente de alguns como Ritonavir, utilizado por 61,1% dos pacientes, e Estavudine, utilizado por 55,6% dos pacientes. Esses antirretrovirais já foram associados a disfunções tireoidianas.<sup>34,37,38</sup> Porém ainda não está claro seu mecanismo; por uma ação direta desses fármacos ou pela reconstituição imune conseqüente. Nos casos em que estes antirretrovirais foram utilizados, observou-se maior freqüência de tireoidite em relação aos infectados pelo HIV que não utilizaram, mas sem significância estatística.

Quanto à presença de agentes oportunistas, 89,1% dos pacientes infectados pelo HIV possuíam diagnóstico clínico de algum tipo de infecção oportunista em atividade antes do óbito. Durante a avaliação microscópica da tireóide, foram individualizados agentes infecciosos em 19,04% das glândulas. A riqueza de microorganismos nos casos identificados e a escassa reação inflamatória circunjacente são indicativos da imunossupressão acentuada.

#### **5.4 Causas de óbito**

No grupo de infectados pelo HIV, as causas mais frequentes de óbito foram as doenças infecciosas, e, no grupo controle, as não infecciosas. O baixo percentual de pacientes com contagem hematimétrica de células CD4+ (32,6%), impossibilitou a análise regressiva de associação entre o grau de imunodepressão e as causas de óbito por infecção.

No grupo controle, foram individualizados oito casos de neoplasia avançada. Três carcinomas de células escamosas do colo uterino, dois casos de carcinoma hepatocelular, um adenocarcinoma pulmonar, um adenocarcinoma de ovário e um linfoma de Burkitt. Em dois destes casos (25%), identificou-se implante secundário na tireóide. Este achado está de acordo com a alta incidência, verificada em material de autópsia, de metástases na tireóide nos casos de neoplasia disseminada.<sup>21,29</sup>

#### **5.5 Avaliação histológica da Inflamação**

A adequação das amostras de tecido removido das tireóides para a avaliação de inflamação foi considerada suficiente. Em todos os casos avaliados pela

ultrassonografia, antes da amostragem, não se detectou lesão focal que justificasse a avaliação de toda a extensão da glândula ou uma seleção mais extensa do órgão.

Ainda não está estabelecido um critério de adequação de amostra tecidual da tireóide e considera-se satisfatória qualquer amostragem em que a glândula possa ser reconhecida.<sup>101</sup> Mesmo nas avaliações por punção com agulha fina, o critério mínimo é muito inferior ao observado no presente estudo. É aceitável a presença de seis agrupamentos de dez células foliculares para que a amostra seja considerada adequada.<sup>102</sup>

Nas glândulas salivares, o critério de número de focos inflamatórios é avaliado em 4 milímetros quadrados,<sup>81,82</sup> dimensão muito inferior à área de cada corte histológico aqui examinado. Em outros órgãos parenquimatosos como o fígado e o rim, a adequação está baseada em unidades funcionais. No fígado são necessários 10 espaços porta<sup>103</sup> e no rim, 10 glomérulos.<sup>104</sup> Em nosso material a área examinada se aproximou de 1,5 cm<sup>2</sup> e, considerando que a unidade funcional da tireóide é o folículo, podemos assegurar que as amostras examinadas incluíram centenas deles.

Quando se analisou a presença de inflamação, foi observada uma frequência similar (67,4%) em ambos os grupos de pacientes estudados. Na população mundial, a prevalência de tireoidite autoimune está em torno de 4-10% para a forma clinicamente evidente com hipotireoidismo.<sup>52,57</sup> Porém, em estudos de autópsia, é observada uma prevalência de infiltrado linfocitário glandular em torno de 25% em pacientes clinicamente assintomáticos.<sup>54</sup> Numa série de casos de 47 pacientes com SIDA autopsiados na Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro, foram detectadas 14 (48,2%) glândulas com inflamação focal inespecífica.<sup>19</sup> No presente estudo, a maior frequência de tireoidites pode ser justificada pela grande variedade de agentes agressores potencialmente presentes na população hospitalizada.

Não foi possível recuperar dos prontuários os dados sobre as dosagens séricas de autoanticorpos tireoidianos e, portanto, não podemos correlacionar a presença da inflamação com os autoanticorpos.

Apesar da maior frequência de doenças infecciosas no grupo HIV, não se observou maior intensidade de inflamação neste grupo, o que pode ser explicado pelo estado de imunodepressão existente. Mesmo na presença de agentes oportunistas, para aqueles indivíduos que utilizaram o esquema TARV, não foi possível demonstrar sinais de Síndrome da Reconstituição Imune, já que os pacientes estudados não fizeram uso regular dos antirretrovirais.

Quando se analisou a resposta inflamatória pela presença de agregados linfóides, observou-se uma discreta diminuição na frequência de focos inflamatórios (agrupamento > 50 células) no grupo de infectados pelo HIV, e menor no subgrupo que não utilizou TARV. Isso pode indicar uma tendência a diminuição da capacidade de organização inflamatória tireoidiana presente nos indivíduos infectados pelo HIV que se torna pior com a progressão da imunodepressão consequente ao não uso de TARV.

## **5.6 Detecção de microorganismos na tireóide**

A frequência de infecções oportunistas identificadas nas 63 tireóides de pacientes infectados pelo HIV (19,04%) é semelhante àquela já publicada (14% a 28%). Em duas séries de casos, publicadas no Brasil, a infecção tireoidiana mais comum foi a micobacteriose, detectada em 5 pacientes (17,2%) na casuística publicada por Lima em 1998<sup>19</sup> e em 28% de 100 casos autopsiados na UNIRIO em 2000.<sup>2</sup> Em nosso estudo, o agente infeccioso mais frequentemente identificado foi o *Criptococo* (33,3%) e granulomas epitelióides foram encontrados em 25% dos casos. Não foi identificado BAAR no nosso material e podemos atribuir tal negatividade ao uso prolongado de antitubercúlicos.

## **5.7 Método Imuno-histoquímico para o antígeno CD4**

A diminuição do número de células CD4+ no infiltrado inflamatório tireoidiano, no grupo de infectados pelo HIV, foi altamente significativa e é um forte indicativo de que esta alteração interfere na modulação imune intratireoidiana. A redução de linfócitos TCD4+ nos pacientes infectados pelo HIV coincide com um desvio da resposta imune para o pólo Th2, fenômeno recentemente confirmado nos estudos de Osake.<sup>105</sup> O autor demonstrou que a progressão para baixos níveis de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 e IFN-gama) e altos níveis de citocinas anti-inflamatórias (IL-10) acontece conforme a infecção pelo HIV progride para a SIDA. O inverso se processa quando os pacientes iniciam o tratamento antirretroviral. Isso está de acordo com o status imune dos pacientes aqui estudado, em que a depleção linfocitária está evidente nos cortes histológicos examinados e a resposta inflamatória exsudativa linfocitária nos granulomas é muito diminuída. A não detecção de lesões evidentes de tireoidite autoimune, mesmo nos indivíduos em uso de TARV, também se justifica neste contexto.

## **5.8 Método Imuno-histoquímico para o antígeno CD8**

A população de linfócitos no parênquima tireoidiano normal é predominantemente do tipo CD4+ no estroma interfolicular e predominantemente do tipo CD8+ no compartimento intraepitelial.<sup>75</sup>

Chama a atenção neste estudo a detecção de linfócito intraepiteliais CD8+ em todas as tireóides analisadas.

Os linfócitos intraepiteliais são de ocorrência normal no intestino e nos brônquios sendo, mais frequentemente, do tipo CD8 e participam do processo de defesa contra microrganismos patogênicos.<sup>83</sup> Na tireóide, participam do fenômeno

de autoimunidade.<sup>6</sup> Este fenômeno pode estar exacerbado nos indivíduos infectados pelo HIV, em decorrência da maior frequência de lesão dos tireócitos.

Nos indivíduos infectados pelo HIV, um desbalanço das populações linfocitárias na tireóide poderia, como no intestino, justificar o aumento da população de linfócitos na lâmina própria e no epitélio, resultando no aumento de células CD8+ como demonstrado na patogênese da colite crônica do paciente com SIDA.<sup>106</sup> Podemos também inferir que a origem embrionária dos folículos tireoidianos, derivados da bolsa faríngea, guarda semelhanças com a origem do epitélio intestinal, onde a migração de linfócitos intraepiteliais é habitual.

A maior frequência de células CD8+ no estroma interfolicular e no compartimento intraepitelial no grupo HIV pode representar um maior recrutamento destas células em consequência da inadequada produção de fatores quimiotáticos aumentando o trânsito de células na glândula.<sup>106</sup>

Outra possível explicação para a infiltração linfocítica CD8+, seria a equivalência com as lesões descritas nas glândulas salivares dos pacientes infectados pelo HIV. Denominada de Síndrome da Linfocitose Infiltrativa Difusa, a infiltração linfocitária pode ocasionar aumento volumétrico das glândulas salivares e cistos linfoepiteliais.<sup>107</sup> Nestes casos, as células ductais estão frequentemente infectadas pelo vírus Epstein-Barr e HIV.

## **5.9 Método Imuno-histoquímico para o Antígeno CD20**

A baixa frequência de detecção de células CD20 está em acordo com dados de literatura.<sup>75</sup> Este achado reforça a idéia de que a produção de autoanticorpos não está manifestada no grupo de pacientes HIV aqui estudados.

### **5.10 Método Imuno-histoquímico para o antígeno p24**

Não se detectou a reação imuno-histoquímica para o antígeno p24 em nenhum dos casos estudados. Em todos os pacientes em que a carga viral foi aferida, níveis elevados foram detectados e, apesar disso, em nenhum dos casos testados observou-se imunomarcacão para p24, nem mesmo nas células inflamatórias. Talvez isso possa ser atribuído ao tempo em que as peças permaneceram fixadas em formol (maior que 10 anos em alguns casos) e à labilidade do antígeno pesquisado.

A presença de marcação inespecífica em todas as células com citoplasma granular não foi difícil de ser distinguida daquela do antígeno viral pois a marcação inespecífica foi observada nos mastócitos, nas células parafoliculares e nas células oxifílicas de todas as tireóides estudadas.

### **5.11 Alterações histopatológicas não inflamatórias**

Quanto as alterações morfológicas foliculares, aparecem com frequência em ambos os grupos a lise folicular, hipotrofia, metaplasia oxifílica e invasão macrofágica do colóide, indicando agressão tireoidiana em ambos os grupos. Foi detectada maior frequência de colóide granular e retraído no grupo de infectados pelo HIV. O achado de colóide flocular/granular pode ser atribuído ao fenômeno de coagulação de tireoglobulina e precipitação de grumos em meio ao colóide, não se conhecendo até o momento o mecanismo deste processo. Considerar o fenômeno como puramente artefactual não combina com o achado também freqüente deste aspecto nos esfregaços obtidos na punção com agulha fina. Além disso, é freqüente a demonstração do fenômeno de decantação deste material nos cortes histológicos.

A variação da densidade do colóide com aspecto “em alvo”, observado nos dois grupos, é determinado pelo aspecto lamelar concêntrico com densidade progressivamente maior nas regiões centrais do folículo. Tais achados são consistentes com os processos de secreção e reabsorção do colóide que são demonstrados quando se avaliam as variações diárias do diâmetro folicular e do volume glandular (ritmo circadiano).<sup>108</sup>

### **5.12 Volume tireoidiano**

Não houve diferença estatisticamente significativa do volume tireoidiano entre os grupos. Após a estratificação por sexo, foi observado menor volume tireoidiano nas mulheres, com diferença estatística. Isso está de acordo com o que se observa em estudos populacionais. Isso não se deve apenas à menor massa corpórea no sexo feminino, pois Tomimori e colaboradores demonstraram que, mesmo após a correção por superfície corpórea, a tireóide masculina é maior.<sup>92,94</sup>

### **5.13 Ecogenicidade Tireoidiana**

Não houve diferença estatística durante a análise de ecogenicidade tireoidiana entre os grupos. As dimensões das lesões focais, identificadas nas avaliações microscópicas, foram diminutas e muito menores que o poder de resolução do equipamento ultrassonográfico utilizado. A maior ou menor ecogenicidade da glândula em relação às partes moles adjacentes, como músculo esquelético, foi prejudicada pelo processo de dissecação da laringe durante a autópsia. Certamente a ausência de sangue fluido e de fluxo sanguíneo (fenômeno

vital) também interferiu na ecogenicidade da glândula, mas podemos admitir que, entre os grupos, a ecogenicidade não é diferente quando avaliada pelo histograma.

#### **5.14 Dimensão da área folicular**

A área de ocupação folicular é significativamente maior nas mulheres do grupo controle. Não se observou esta diferença no grupo HIV.

A área dos cortes histológicos de tireóide ocupada pelos folículos, mensurada pela subtração da área estromal, é significativamente maior nas mulheres. Essa diferença só é percebida no grupo controle ( $p=0,0075$ ) e pode ser justificada pelo dimorfismo sexual demonstrado em estudos morfométricos e funcionais da tireóide humana e de outros animais.<sup>108,109,110</sup> Nas mulheres em fase reprodutiva o volume do folículo tireóideano sofre variações do ciclo menstrual<sup>111</sup> e o volume da glândula é maior quando comparado com aqueles de faixa etária pós menopausal. Portanto, no grupo HIV possivelmente ausência de diferença para a área de ocupação folicular entre homens e mulheres reflita a redução da atividade funcional da glândula ou hipogonadismo. Isto pode ser atribuído ao comprometimento da regulação hipotálamo-hipofisária causada pelas infecções oportunistas do SNC<sup>112</sup>, pela disfunção do eixo hipotálamo-hipofisário induzidas por antirretrovirais ou pelo próprio vírus.<sup>113</sup>

### **5.15 Quantificação de colágeno tipo I e tipo III**

Quando se analisa a quantidade de colágeno estratificada por sexo observa-se que homens de ambos os grupos apresentam maiores quantidades de colágeno tipo I e tipo III, sem diferença estatística e que se mantém, também sem diferença significativa, quando se analisam os grupos separadamente.

### **5.16 Considerações finais**

A nosso ver, esse é o primeiro estudo retrospectivo que procura comparar, com um grupo controle não-HIV, as alterações morfológicas da tireóide e associá-las à imunodepressão provocada pela infecção pelo HIV. Apesar de não haver um cenário experimental que permita estabelecer correlações de causalidade é bastante plausível do ponto de vista teórico que a diminuição de células CD4+ no infiltrado inflamatório tireoidiano deve contribuir para modificações da resposta inflamatória local.

Os achados provavelmente refletem um ambiente de múltiplos tipos de agressões tireoidianas diferentes como infecção por agentes oportunistas e a ação de fármacos, cuja resposta inflamatória está sob influência das células CD4+ e CD8+ com todas as consequências para a estruturação da resposta inflamatória.

Ainda que esta glândula apresente uma notável reserva funcional só apresentando hipofunção em estágios avançados de destruição, o entendimento e principalmente o reconhecimento destas formas de agressão são importantes para o acompanhamento dos pacientes infectados pelo HIV. Podem servir não só como dados indicativos de disfunção tireoidiana mas também como marcadores de disfunção imune. Podem servir ainda como base para estudos futuros de detecção

de outros marcadores prognósticos inclusive com a utilização de outros métodos para obtenção de amostras da tireóide como a punção aspirativa por agulha fina.

O esclarecimento da patogênese desses processos é de fundamental importância para que se possa propor medidas de prevenção, diagnóstico precoce, tratamentos mais específicos, ou até contribuindo para melhor qualidade de vida dos indivíduos infectados pelo HIV e em tratamento.

1. Pacientes infectados pelo HIV apresentam evidências microscópicas de tireoidite na mesma frequência que indivíduos sem essa infecção.
2. Existe depleção de células CD4+ no infiltrado inflamatório tireoidiano em pacientes infectados pelo HIV.
3. Não foi detectado, pelo método imuno-histoquímico, a presença do vírus da imunodeficiência humana no parênquima tireoidiano.
4. A frequência de agentes infecciosos oportunistas é alta nos indivíduos infectados pelo HIV, sendo o criptococo o agente mais comum nessa amostra.
5. Não foram demonstradas alterações de volume, ecogenicidade ou lesões focais na tireóide que permitam diferenciar a ocorrência de processos patológicos entre os grupos com ou sem infecção pelo HIV.
6. Não houve diferença na deposição interfolicular dos colágeno tipo I e III entre os grupos com ou sem infecção pelo HIV, mesmo na presença de tireoidite.

1. Welch K; Finkbeiner W, Alpers CE, et al. Autopsy Findings in the Acquired Immune Deficiency syndrome. JAMA 1984 Sept;252(9):1152-61.
2. Basílio-De-Oliveira CA. Infectious and neoplastic disorders of the thyroid in SIDA patients: an autopsy study. Braz J Infect Dis. 2000 Apr;4(2):67-75.
3. Lopresti JS, Fried JC, Spencer CA, et al. Unique alterations of thyroid hormone indices in the acquired immunodeficiency syndrome (SIDA). Ann Intern Med. 1989 Jun;110(12):970-5.
4. Feldt-Rasmussen U, Sestoft L, Berg h. Thyroid function tests in patients with acquired immune deficiency syndrome and healthy HIV1-positive out-patients. Eur J Clin Invest. 1991 Feb;21(1):59-63.
5. Larsen PR, Davies TF, Schlumberger M, et al. Thyroid Physiology and Diagnostic Evaluation of Patients with Thyroid Disorders. "In": Kronenberg HM. Williams Tratado de Endocrinologia. 11<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2010. p. 331-73.
6. Weetman AP, Groot LJ. Thyroid Disease Manager [homepage na Internet]. South Dartmouth: Endocrine Education Inc; [atualizada em 2011 Jan 7; acesso em 2011 May 19]. Chapter 7 – Autoimmunity to the Thyroid Gland; [84 telas]. Disponível em: <http://www.thyroidmanager.org/Chapter7/cahpter7.pdf>.
7. Fisiologia da Glândula Tireóide. "In": Rosa JC, Romão LA. Glândula Tireóide Funções e Disfunções Diagnóstico e Tratamento. 2<sup>a</sup> ed. São Paulo: Lemos; 2001. p.33-46.
8. Oetting AU, Yen PM. New insights into thyroid hormone action. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2007 Jun;21(2):193-208.
9. Larsen PR, Davies TF. Hypothyroidism and Thyroiditis. "In": Kronenberg HM. Williams Tratado de Endocrinologia. 11<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2010. p. 423-56.
10. Hofbauer LC, Heufelder AE. Endocrine implications of human immunodeficiency virus infection. Medicine Baltimore.1996 Sep;75(5):262-78.
11. Lambert M. Thyroid dysfunction in HIV infection. Baillieres Clin Endocrinol Metab. 1994 Oct;8(4):825-35.
12. Aron DC. Endocrine complications of the acquired immunodeficiency syndrome. Arch Intern Med. 1989 Feb;149(2):330-3.
13. Heufelder AE, Hofbauer LC. Human immunodeficiency virus infection and the thyroid gland. Eur J Endocrinol. 1996 Jun;134(6):669-74.

14. Lambert M, Zech F, De Nayer P, et al. Elevation of serum thyroxine-binding globulin (but not of cortisol-binding globulin and sex hormone-binding globulin) associated with the progression of human immunodeficiency virus infection. *Am J Med.* 1990 Dec;89(6):748-51.
15. Sellmeyer DE, Grunfeld C. Endocrine and metabolic disturbances in human immunodeficiency virus infection and the acquired immune deficiency syndrome. *Endocr Rev.* 1996 Oct;17(5):518-32.
16. Chiarelli F, Verrotti A, Galli L, et al. Endocrine dysfunction in children with HIV-1 infection.(eng), *J Pediatr Endocrinol Metab.* 1999 Jan-Feb;12(1):17-26.
17. Fontes R, Vangeloti A, Pires ML, et al. Endocrine Disorders in Brazilian Patients with Acquired Immune Deficiency Syndrome. *Clin Infect Dis.* 2003;37(2):137-41.
18. Milligan, SA, Katz MS, Craven PC, et al. Toxoplasmosis presenting as panhypopituitarism in a patient with the acquired immune deficiency syndrome. *Am J Med.* 1984 Oct;77(4):760-4.
19. Lima M, Freitas L, Montandon C, et al. The Thyroid in Acquired Immunodeficiency Syndrome. *Endoc Pathol;*1998 9(3):217-223.
20. Dávila-Martín P, Quereda C, Rodríguez H, et al. Thyroid Abscess due to *Rhodococcus equi* in a Patient Infected with the Human Immunodeficiency Virus. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1998 Jan;17(1):55-7.
21. Koutkia P. Human immunodeficiency virus infection and the thyroid. *Thyroid.* 2006 Jan;16(1):99-100. Retratação em: Davies P. *Thyroid.* 2006 Jan;16(1):99.
22. Machac J, Nejatheid M, Goldsmith SJ. Gallium-67 citrate uptake in cryptococcal thyroiditis in a homosexual male. *J Nucl Med Allied Sci.* 1985 Jul-Sep;29(3):283-5.
23. Kaw YT, Brunnemer C. Initial diagnosis of disseminated cryptococosis and acquired immunodeficiency syndrome by fine needle aspiration of the thyroid. A case report. *Acta Cytol.* 1994 May-Jun;38(3): 427-30.
24. Frank TS, Livolsi VA, Connor AM. Cytomegalovirus Infection of the Thyroid in Immunocompromised Adults. *Yale J Biol Med.* 1987 Jan-Feb;60(1) 1-8.
25. Gallant JE, Enriquez RE, Cohen KL, et al. *Pneumocystis carinii* thyroiditis. *Am J Med.* 1988 Feb;84(2):303-6.
26. Marks JB. Endocrine Manifestations of Human Immunodeficiency Virus (HIV) Infection. *Am J Med Sci.* 1991 Aug;302(2): 110-7.

27. Zavascki AP, Maia AI, Goldani LZ. Pneumocystis jirovecii thyroiditis: report of 15 cases in the literature. *Mycoses*. 2007 Nov;50(6):443-6.
28. Klapholz A, Salomon N, Perlman D, et al. Aspergillosis in the acquired immunodeficiency syndrome. *Chest*. 1991 Dec;100(6):1614-8.
29. Weinberg M, Schambelan M, Bartlett JG. Thyroid Dysfunction in HIV-infected patients [CD-ROM]. Waltham: Up To Date Desktop 19.1 Inc; 2011.
30. Martinez-Ocana J, Romeu J, Liatjos M, et al. Goiter as a manifestation of disseminated aspergillosis in a patient with SIDA. *Clin Infect Dis*. 1993 Nov;17(5):953-4.
31. Rosenfeld CR, Calabrese LH. Progression of autoimmune thyroiditis in an HIV-infected woman on TARV. *SIDA Read*. 1999 Sep;9(6):393-4.
32. Beltran S, Lescure FX, Desailoud R, et al. Increased prevalence of hypothyroidism among human immunodeficiency virus-infected patients: a need for screening. *Clin Infect Dis*. 2003 Aug;37(4):579-83.
33. Ketsamathi C, Jongiaroprasert W, Chailurkit LO, et al. Prevalence of thyroid dysfunction in Thai HIV-infected patients. *Curr HIV Res*. 2006 Oct;4(4):463-7.
34. Nelson M, Powles T, Zeitlin A, et al. Thyroid Dysfunction and Relationship to Antiretroviral Therapy in HIV-Positive Individuals in the TARV Era. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2009 Jan;50(1):113-4.
35. Hoffmann CJ, Brown TT. Thyroid function abnormalities in HIV-infected patients. *Clin Infect Dis*. 2007 Aug;45(4):488-94.
36. Jubault V, Penfornis A, Schillo F, et al. Sequential occurrence of thyroid autoantibodies and Graves' disease after immune restoration in severely immunocompromised human immunodeficiency virus-1-infected patients. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000 Nov;85(11):4254-7.
37. Grappin M, Piroth L, Verges B, et al. Increase prevalence of subclinical hypothyroidism in HIV patients treated with highly active antiretroviral therapy. *SIDA*. 2000 May;16(8):1070-2.
38. Beltran S, Lescure FX, El Esper I, et al. Subclinical hypothyroidism in HIV-infected patients is not an autoimmune disease. *Horm Res*. 2006;66(1):21-6.
39. Madeddu G, Spanu A, Chessa F, et al. Thyroid function in human immunodeficiency virus patients treated with highly active antiretroviral therapy (TARV): a longitudinal study. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2006 Apr;64(4):375-83.

40. Madge S, Smith CJ, Lampe FC, et al. No association between HIV disease and its treatment and thyroid function. *HIV Med.* 2007 Jan;8(1):22-7.
41. Quirino T, Bongiovani M, Ricci E, et al. Hypothyroidism in HIV-Infected Patients Who Have or Have Not Received TARV. *Clin Infect Dis.* 2004 Feb;38(15):596.
42. Collazos J, Ibarra S, Mayo J. Thyroid hormones in HIV-infected patients in the highly active antiretroviral therapy era: evidence of an interrelation between the thyroid axis and the immune system. *SIDA.* 2003 Mar;17(5):763-5.
43. Afhami S, Haghpanah V, Heshmat R, et al. Assessment of the factors involving in the development of hypothyroidism in HIV-infected patients: a case-control study. *Infection.* 2007 Oct;35(5):334-8.
44. Groot LJ. Thyroid Disease Manager [homepage na Internet]. South Dartmouth: Endocrine Education Inc; [atualizada em 2010 Nov 7; acesso em 2011 May 19]. Chapter 5a- Effects of the Environment, Chemicals and Drugs on Thyroid Function; [65 telas]. Disponível em: <http://www.thyroidmanager.org/Chapter5/chapter5a.pdf>.
45. Zandman-Goddard G, Shoenfeld Y. HIV and autoimmunity. *Autoimmun Rev.* 2002 Dec;1(6):329-37.
46. Chen F, Day SL, Metcalfe RA, et al. Characteristics of autoimmune thyroid disease occurring as a late complication of immune reconstitution in patients with advanced human immunodeficiency virus (HIV) disease. *Medicine (Baltimore).* 2005 Mar;84(2):98-106.
47. Price P, Mathiot n, Krueger R, et al. Immune dysfunction and immune restoration disease in HIV patients given highly active antiretroviral therapy. *J Clin Virol.* 2001 Oct;22(3):279-87.
48. Calabrese LH, Kirchner E, Shrestha R. Rheumatic complications of human immunodeficiency virus infection in the era of highly active antiretroviral therapy: emergence of a new syndrome of immune reconstitution and changing patterns of disease. *Semin Arthritis Rheum.* 2005 Dec;35(3):166-74.
49. Knysz B, Gtadysz A. Immune reconstitution diseases: Is it possible to establish recommendations. *Postepy Hig Med Dosw.* 2007;61:220-5.
50. Weetman AP. Immunity, thyroid function and pregnancy: molecular mechanisms. *Nat. Rev. Endocrinol.* 2010 Jun;6(6):311-18.
51. Nielson CH, Leslie RGQ, Jepsen BS, et al. Natural autoantibodies and complement promote the uptake of a self antigen, human thyroglobulin, by B

- cells and the proliferation of thyroglobulin-reactive CD4<sup>+</sup> T cells in healthy individuals. *Eur J Immunol*. 2001 Sep;31(9):2660-68.
52. Davies TF. Pathogenesis of Hashimoto's thyroiditis (chronic autoimmune thyroiditis). [CD-ROM]. Waltham: Up To Date Desktop 19.1 Inc; 2011.
  53. Parish NM, Cooke A. Mechanisms of autoimmune thyroid disease. *Drug discovery*. 2004 Dec;1(3):337-44.
  54. Sgarbi JA, Maciel RM. Patogênese das doenças tireoidianas autoimunes. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2009 Fev;53(1):5-14.
  55. Ayadi H, Kacem HH, Rebai A, et al. The genetics of autoimmune thyroid disease. *Trends in Endoc Metab*. 2004 Jul;15(4):234-39.
  56. Mizukami Y, Michigishi T, Nonomura A, et al. Pathology of Chronic Thyroiditis: A New Clinically Relevant Classification. *Pathol Annu*. 1994;29 (1):135-58.
  57. Akamizu T, Amino N, Groot LJ. Thyroid Disease Manager [homepage na Internet]. South Dartmouth: Endocrine Education Inc; [atualizada em 2008 Aug 11; acesso em 2011 May 19]. Chapter 8 – Hashimoto's Thyroiditis; [37 telas]. Disponível em: <http://www.thyroidmanager.org/Chapter8/chapter8.pdf>.
  58. Hamilton F, Black M, Farquharson A, et al. Spacial correlation between thyroid epithelial cells expressing class II MHC molecules and interferon-gamma-containing lymphocytes in human thyroid autoimmune disease. *Clin Exp Immunol*. 1991 Aug;83:64-8.
  59. Organização Nações Unidas – Brasil. A Epidemia de SIDA no Mundo [homepage na internet]. Genebra: UNSIDA; [atualizada em 2010 Dec 5; acesso em 2010 Dec 15]. Relatório Mundial da epidemia de SIDA 2010; [2 telas]. Disponível em [http://www.onu-brasil.org.br/doc/Resumo\\_Dados\\_Globais\\_UNSIDA\\_2010.pdf](http://www.onu-brasil.org.br/doc/Resumo_Dados_Globais_UNSIDA_2010.pdf).
  60. Mocroft A, Ledergerber B, Katlama C, et al. Decline in the SIDA and death rates in the EuroSIDA study: an observational study. *Lancet*. 2003 Jul;362(9377):22-9.
  61. Sterne JA, Hernan MA, Ledergerber B, et al. Long-term effectiveness of potent antiretroviral therapy in preventing SIDA and death: a prospective cohort study. *Lancet*. 2005 Jul;366(9483):378-84.
  62. Fanale-Belasio E, Raimondo M, Suligo B, et al. HIV virology and pathogenetic mechanisms of infection: a brief overview. *Ann Ist Super Sanità*. 2010;46(1):5-14.

- 63.Center for Disease Control and Prevention. Recommendations and Reports [homepage na internet]. Atlanta: Center for Health Information, Department of Health and Human Services; [atualizada em 2008 Dec 5; acesso em 2010 Dec 15]. Morbidity and Mortality Weekly Report; [aproximadamente 2 telas]. Disponível em: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5710a2.htm>
64. Rychert JA, Rosenberg ES. Immunology of HIV Infection. [CD-ROM]. Waltham: Up To Date Desktop 19.1 Inc; 2011.
- 65.Chinen J, Shearer WT. Molecular virology and immunology of HIV infection. J Allergy Immunol. 2002 Aug;110(2):189-98.
- 66.Taylor CR, Shi SR, Barr NJ. Techniques of Immunohistochemistry: Principles, Pitfalls, and Standardization. "In": Dabbs DJ. Diagnostic Immunohistochemistry. 3rd ed. Philadelphia: Elsevier; 2010. p. 1-41.
- 67.Daugharty H, Long EG, Swisher BL, et al. Comparative Study With In situ Hibridization and Immunocytochemistry in Detection of HIV in Formalin-Fixed Parafin-Embedded Cell Cultures. J Clin Lab Anal. 1990 March;4(4):383-8.
- 68.Morrison HL, Neal JW, Parkes AB, et al. Immunohistochemical retrieval of the principal HIV antigens p24, gp41, and gp120 in formalin fixed tissue: an investigation using HIV infected lymphoblasts and postmortem brain tissue from SIDA cases. Mol Pathol. 1998 Aug;51(4):227-31.
- 69.Pudney J, Anderson D. Effects of fixation and paraffin embedding on the immunohistological detection of cell-associated HIV-1 by different monoclonal antibodies. J Histochem Cytochem. 1995 Sep;43(9):857-62.
- 70.Shuurman H, Krone WJ, Broekhuizen R, et al. Expression of RNA and Antigens of Human Immunodeficiency Virus type-1 (HIV-1) in Lymph Nodes from HIV-1 Infected Individuals. Am J Pathol. 1988 Dec;133(3):516-24.
- 71.Costin JM. Cytopathic Mechanisms of HIV-1. Virol J. 2007 Oct;4:100.
- 72.Krambovitis E, Spandidos DA. HIV-1 Infection: Is it time to reconsider our concepts. Int J Mol Med. 2006 Jul;18(1):3-8.
- 73.Skoldstam L, Anderberg B, Norrby K. B- andT- lymphocytes in toxic diffuse goitre. Cli exp. Immunol. 1978 March;31(3): 524-525.
74. Bene M, Derennes V, Faure G, et al. Graves' disease: in situ localization of lymphoid T cell subpopulations. Clin Exp Immunol. 1983 May;52(2): 311-16.

75. Margolick J, Hsu S, Volkman D, et al. Immunohistochemical Characterization of Intrathyroidal Lymphocytes in Graves' Disease. Interstitial and Intraepithelial populations. *Am J Med.* 1984 May;76(5):815-21.
76. Warford A, McLachlan S, Malcom A, et al. Characterization of lymphoid cells in the thyroid of patients with Graves' disease. *Clin Exp Immunol.* 1984 Sep;57(3):626-32.
77. Misaki T, Konishi J, Nakashima T, et al. Immunohistological phenotyping of thyroid infiltrating lymphocytes in Graves' disease and Hashimoto's thyroiditis. *Clin Exp Immunol.* 1985 Apr;60(1):104-10.
78. Jeong H, Lee M, Choi I, et al. Distribution of Lymphocytic Subpopulations Infiltrated in Thyroid Glands of Graves' Disease. *Yonsei Medical Journal* 1989;30(2):118-23.
79. The Normal Thyroid. "In": Boerner SL, Asa SL. *Biopsy Interpretation of the Thyroid.* Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2010. p. 3-8.
80. Carcangia ML. Thyroid. "In": Mills SE. *Histology for Pathologists.* 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007. 1129-48.
81. Daniels TE. Labial salivary gland biopsy in Sjogren's syndrome. Assessment as a diagnostic criterion in 362 suspected cases. *Arthritis Rheum* 1984;24:147-56.
82. Gerli R, Muscat M, Giansanti M, et al. Quantitative Assessment of Salivary Gland Inflammatory Infiltration in Primary Sjogren's Syndrome: Its Relationship to Different Demographic, Clinical and Serological Features of the Disorder. *Br J Rheumatol.* 1997 Sep;36(9):969-75.
83. Cheroutre H, Lambolez F, Mucida D. The light and dark sides of intestinal intraepithelial lymphocytes. *Nat Rev Immunol.* 2011 Jun 17;11(7):445-56.
84. Oliveira CA. Tiroide e desnutrição proteico-calórica contribuição à patologia experimental e à humana [tese]. Rio de Janeiro; 1988.
85. Sergi C, Bohler T, Shonrich G, et al. Occult Thyroid Pathology in a child with Acquired Immunodeficiency Syndrome. *Pathol Oncol Res.* 2000;6(3):227-32.
86. Mitteldorf C, Misiara A, Carvalho I. Multicystic Autoimmune thyroiditis-like Disease Associated with HIV Infection. *Acta Cytol.* 1999 Sep-Oct;43(5):862-6.
87. Olivieri A, Sorcini M, Batisti P, et al. Thyroid hypofunction related with the progression of human immunodeficiency virus infection. *J Endocrinol Invest.* 1993 Jun;16(6):407-13.

88. Leopold GR. Ultrasonography of superficially located structures. *Radiol Clin North Am.* 1980 Apr;18(1):161-73.
89. Butch RJ, Simeone JF, Mueller PR. Thyroid and parathyroid ultrasonography. *Radiol Clin North Am.* 1985 Mar;23(1):57-71.
90. Müller HW, Schröder S, Schneider C, et al. Sonographic tissue characterization in thyroid gland diagnosis. A correlation between sonography and histology. *KlinWochenschr.* 1985 Aug;63(15):706-10.
91. Camargo RY, Tomimori EK. Uso da Ultra-sonografia no Diagnóstico e Seguimento do Carcinoma Bem Diferenciado da Tireóide. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2007;51(5):783-92.
92. Duarte GC. Avaliação ultra-sonográfica da tireóide, excreção urinária de iodo em escolares de 6 a 14 anos e grau de iodação do sal, em diferentes regiões do estado de São Paulo [tese]. São Paulo; 2007.
93. Hofling D, Cerri G, Juliano A, et al. Importância da ecogenicidade da tireóide no diagnóstico de tireoidite crônica autoimune. *Radil Bras.* 2008 Nov-Dez;41(6):409-17.
94. Duarte GC, Tomimori EK, Boriolli Ra, et al. Echographic evaluation of the thyroid gland and urinary iodine concentration in school children from various regions of the state of São Paulo, Brazil. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2004 Dec;48(6):842-8.
95. Langer P. Normal thyroid size versus goiter - postmortem thyroid weight and ultrasonographic volumetry versus physical examination. *Endocrinol Exp.* 1989 Jun;23(2):67-76.
96. World Health Organization. Assessment of Iodine Deficiency Disorders and Monitoring their Elimination - A guide for programme managers [homepage na internet]. Genebra: International Council for Control of Iodine Deficiency Disorders, United Nations Children`s Fund. [atualizada em 2001; acesso 2011 Dec15]. [124 telas]. Disponível em: [http://www.who.int/nutrition/publications/en/idd\\_assessment\\_monitoring\\_elimination.pdf](http://www.who.int/nutrition/publications/en/idd_assessment_monitoring_elimination.pdf).
97. Sabena W, Peeters E, De Maeseneer M. Measuring Thyroid Gland Volume: Should We Change the Correction Factor? *AJR Am J Roentgenol.* 2006 Jan;186(1):234-6.

98. Blum M. Evaluation of Thyroid Function; Sonography, Computed Tomography and Magnetic Resonance Imaging. In: Becker KL, ed. Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism. Philadelphia, Pa.: Lippincott Co.; 1990:289-93.
99. Surks MI. Iodine and Thyroid function [CD-ROM]. Waltham: Up To Date Desktop 19.1 Inc; 2011.
100. Pavan R, Jesus Am, Maciel LM. A Amiodarona e a Tireóide. Arq Bras Endocrinol Metabol. 2004 Feb;48(1):176-82.
101. Renshaw A, Pinnar N. Comparison of Thyroid Fine-Needle Aspiration and Core Needle Biopsy. Am J Pathol 2007 Sep;128(3):370-4.
102. Goellner JR, Gharbi H, Grant CS, et al. Fine needle aspiration cytology of the thyroid. 1980 to 1986. Acta Cytol. 1987 Sep-Oct;31(5):587-90.
103. Gayotto LC, Strauss E, Alves VA, et al. Activity of chronic hepatitis. Correlation of clinical, biochemical and histological parameters in 32 cases. Rev Inst Med Trop São Paulo. 1983 Nov-Dez;25(6):288-93.
104. Solez K. History of the Banff classification of allograft pathology as it approaches its 20th year. Curr Opin Organ Transplant. 2010 Feb;15(1):49-51.
105. Osakwe CE, Bleotu C, Chifiriuc MC, et al. TH1/TH2 cytokine levels as an indicator for disease progression in human immunodeficiency virus type 1 infection and response to antiretroviral therapy. Roum Arch Microbiol Immunol. 2010 Jan-Mar;69(1):24-34.
106. Fernandes ER, Pagliari C, Tuon FF, et al. Chronic colitis with infection can be related to intraepithelial infiltration of the colon by CD8+ T lymphocytes. Int J STDA. 2008 Aug;19(8):524-8.
107. Feller L, White JP, Bouckaert M, et al. Diffuse infiltrative CD8+ lymphocytosis syndrome: review of the literature and report of a case. SADJ. 2007 Aug;62(7):314-7.
108. Vizzotto L, Sforza C, Ferrario VF, et al. A chonormorphological structural model of rat thyroid gland. Chronobiologia. 1989 Jul-Sep;16(3):207-14.
109. Sultana SZ, Khan MK, Sultana S, et al. Histomorphometric study of thyroid gland of Bangladeshi people. Mymensingh Med J. 2007 Jan;16(1):36-42.
110. Bykov VL. Stereologic analysis of the thyroid gland (review of methods). Arkh Anat Gistol Embriol. 1979 Jul(7):98-106.

111. Gonczi J, Szabolcs I, Magyar. Sonographic volumetry of the thyroid. *Aktuelle Radiol.* 1993 Sep;3(5):283-5.
112. Ezechi OC, Jogo A, Gab-Okator C, et al. Effect of HIV-1 infection and increasing immunosuppression on menstrual function. *J Obstet Gynaecol Res.* 2010 Oct;36(5):1053-8.
113. Zapanti E, Terzidis K, Chrousos G. Dysfunction of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in HIV infection and disease. *Hormones.* 2008 Jul-Sep;7(3):20-16.

