



PRODUÇÃO DO MANUSCRITO DO PROJETO: O IMPACTO DO HIPERTIREOIDISMO DA DOENÇA DE GRAVES NA SUBSTÂNCIA CINZENTA

Aluna: Julia Elisa Carneiro – RA: 171025

Orientadora: Profa. Dra. Clarissa Lin Yasuda

RESUMO INFORMATIVO:

A doença de Graves é uma doença auto-imune, na qual auto-anticorpos estimulam receptores de TSH, que por sua vez estimulam a produção de hormônios tireoidianos, causando o estado de tireotoxicidade, que pode causar danos teciduais e disfunções neuropsiquiátricas. Ainda há controvérsias na literatura sobre a relação entre déficits neuropsiquiátricos e tireotoxicidade. Além disso, existem poucos estudos que utilizaram a Ressonância Magnética para avaliar alterações cerebrais na doença de Graves.

Nosso projeto anterior teve como objetivo identificar e quantificar anormalidades estruturais de substância cinzenta, analisando imagens de ressonância magnética através do método de morfometria baseada em voxel (MBV), comparando as diferenças entre controles e pacientes com doença de Graves com hipertireoidismo ativo e pacientes com doença de Graves sem hipertireoidismo ativo, também chamados eutireoidianos. Os resultados encontrados nos permitiram concluir que independente dos níveis laboratoriais de hormônio tireoidiano, encontramos atrofia de substância cinzenta em ambos os grupos, ou seja, as alterações cerebrais ainda persistem, por mais que o estado de tireotoxicidade na doença de Graves seja revertido após tratamento.

Neste projeto, nosso objetivo foi reunir todos os dados necessários dos estudos anteriores para elaboração de um manuscrito para publicação, em conjunto com outro projeto que está sendo realizado no Laboratório de Neuroimagem - LNI, com o objetivo de correlacionar dados estatísticos clínicos e de imagem dos mesmos grupos amostrais de pacientes e controles.

INTRODUÇÃO:

A doença de Graves é uma doença autoimune tireoidiana ^[1], na qual a Imunoglobulina Estimulante da Tireoide (TSI, do inglês thyroidstimulating immunoglobulin) estimula receptores de TSH ^[2], causando aumento da produção de hormônios tireoidianos, ou seja, hipertireoidismo

^[1, 2]. A tireotoxicidade é um estado clínico em que há aumento da atividade do hormônio tireoidiano, geralmente por hipertireoidismo, causando danos teciduais ^[2] que alteram a taxa basal do metabolismo, a hemodinâmica cardiovascular e funções psiquiátricas e neuropsicológicas ^[2].

Ainda há controvérsias na literatura sobre a relação entre déficits neuropsiquiátricos e Tireotoxicidade. Estudos nos quais pacientes eutireoidianos são induzidos à tireotoxicidade por mecanismo exógeno concluíram que este estado melhora a memória operacional ^[1,2]. Outros estudos mostraram que mesmo após tratamento do hipertireoidismo, em estado eutireoidiano, há persistência de déficits cognitivos, o que gera controvérsias se essas são alterações permanentes ou se possuem outras causas, o que justifica melhor investigação desse assunto.

Poucos estudos exploraram o impacto do hipertireoidismo na estrutura cerebral, usando técnicas de PET (tomografia por emissão de pósitrons) ou ressonância magnética. Além disso, poucos estudos utilizaram o método de Morfometria Baseada em Voxel (MBV) nestes métodos de imagem para avaliar anormalidades de substância cinzenta nestes pacientes.

JUSTIFICATIVA:

O hipertireoidismo tem incidência e prevalência relativamente altas, e tem a doença de Graves como principal causa. Esta afecção pode ser silenciosa, mas quando possui alterações clínicas, traz grande impacto na qualidade de vida dos acometidos, pois podem causar déficits neurológicos e cognitivos que podem atingir relevante gravidade ou irreversibilidade, prejudicando inclusive a autonomia desses indivíduos. Nos estudos realizados, concluímos que independente das manifestações clínicas e laboratoriais dos indivíduos, há atrofia de substância cinzenta na doença de Graves. Acreditamos que a publicação e apresentação deste trabalho irão colaborar para os estudos que elucidem as controvérsias na literatura sobre o efeito da doença de Graves nas estruturas cerebrais. Estas descobertas podem auxiliar na averiguação se a doença está causando déficit cognitivo no indivíduo, a fim de um tratamento mais específico e adequado.

OBJETIVOS:

Dar continuidade ao projeto anterior sobre o impacto do hipertireoidismo da doença de Graves na substância cinzenta, elaborando um manuscrito para publicação e pôster para apresentação.

MÉTODOS:

Este estudo foi realizado no Laboratório de Neuroimagem (LNI) do HC – UNICAMP com imagens e dados de pacientes que são acompanhados rotineiramente nos ambulatórios de Neurologia, que realizaram o exame de ressonância magnética entre 2000 e 2018.

Realizamos um estudo retrospectivo com análise de imagens já adquiridas e armazenadas no LNI. Os dados demográficos e laboratoriais também já foram coletados como parte da rotina de seguimento dos pacientes. Desta forma, a aluna não teve contato pessoal com pacientes e prontuários nessa etapa do projeto, já que tanto imagens quanto dados clínicos já foram adquiridos previamente.

Os testes cognitivos a serem descritos neste relatório foram aplicados pelo Doutor Mateus H. Nogueira (ID Lattes: 6606172778122403), Psicólogo Neurocientista, como parte de outro projeto que está sendo desenvolvido no Laboratório de Neuroimagem - LNI do HC - UNICAMP.

O projeto envolveu análise de 35 pacientes com doença de Graves, sendo 15 pacientes com hipertireoidismo ativo (comparados com indivíduos controle pareados em idade e sexo) e 20 pacientes eutireoidianos (comparados com indivíduos controle pareados em idade e sexo).

Seleção de grupo amostral:

- a) Controles: 38 indivíduos com ausência de queixas neurológicas e/ou psiquiátricas e com análise visual de exame de Ressonância Magnética confirmando ausência de anormalidades estruturais. Foram adicionados 14 indivíduos controle em relação ao estudo anterior.
- b) Pacientes: 35 indivíduos com diagnóstico de doença de Graves confirmado através da clínica e exames complementares que realizaram o exame de Ressonância Magnética;
- c) Seleção dos grupos: realizamos a divisão do grupo de pacientes de acordo com sua classificação clínica em pacientes eutireoidianos e em pacientes com hipertireoidismo ativo, através de dados coletados previamente por outro pesquisador.
 - i) Grupo 1: pacientes eutireoidianos;
 - ii) Grupo 2: pacientes hipertireoidianos;
 - iii) Grupo 3: controles.

Processamento das imagens:

As novas imagens do grupo controle foram submetidas a todas as etapas de processamento para que pudessem ser incluídas nos testes estatísticos. Inicialmente, selecionamos e armazenamos as imagens de ressonância magnética em três dimensões na sequência T1 dos novos controles do banco de dados do LNI. Nesta etapa, os indivíduos que não possuíam imagens de ressonância magnética com aplicação da técnica VBM (Voxel Based Morphometry) foram excluídos do estudo. As imagens foram convertidas do formato DICOM para o formato NiftI, para que pudessem ser manipuladas através do software MATLAB 2014b. Realizamos a seguir a etapa de marcação do ponto de origem de cada imagem, que é feito manualmente, fixando-a visualmente na comissura anterior do cérebro, para que as imagens pudessem ser alinhadas num mesmo eixo de coordenadas. Em seguida, utilizamos o software Statistical Parametric Mapping -

Computational Anatomy Toolbox 12 (SPM - CAT12) (<http://www.neuro.uni-jena.de/cat/>) (www.fil.ion.ucl.ac.uk) para realizarmos as etapas de normalizar e segmentar as imagens. A normalização envolve a criação de imagens espaciais ou mapas de classes do tecido cerebral de cada indivíduo, alinhando-as conforme um modelo previamente estabelecido pelo software. A segmentação envolve a diferenciação, pelo software, do tecido cerebral, em substância branca, substância cinzenta, líquido e outros. As imagens também foram submetidas ao processo de suavização das superfícies, tornando os dados mais normalmente distribuídos. Após realizarmos etapas de verificação e correção dos processos realizados, que gera uma fatia horizontal de todas as imagens, e de checagem da homogeneidade da amostra, obtivemos uma estimativa do volume de cada tipo de tecido cerebral de cada indivíduo e também uma matriz que correlaciona todos os volumes (**Figura 01**).

Obtenção de dados clínicos e de testes cognitivos:

Os resultados dos testes cognitivos aplicados no grupo controle e de pacientes pelo Doutor Mateus H. Nogueira (ID Lattes: 6606172778122403), Psicólogo Neurocientista, como parte da pesquisa “Alterações cognitivas e cerebrais em pacientes com Doença de Graves”, também desenvolvida no Laboratório de Neuroimagem - LNI do HC - UNICAMP, foram os seguintes: Mini Exame do Estado Mental, Avaliação Memória Episódica Verbal: Teste de Aprendizagem Auditivo Verbal de Ray (RAVLT) e Teste de Atenção e de Função Executiva: Teste de Trilhas A e B.

As análises estatísticas prévias sobre os dados obtidos da pesquisas foram:

1. Mini Exame do Estado Mental (dados covariados para idade): não foram observadas diferenças significativas entre os grupos.
2. Avaliação Memória Episódica Verbal (dados covariados para escolaridade): Teste de Aprendizagem Auditivo Verbal de Ray (RAVLT):
 - a. Etapa de aprendizagem: A1-A5: o grupo Eutireoidiano apresentou uma maior dificuldade no aprendizado do conteúdo verbal quando comparado ao grupo Hipertireoidiano (**Figura 02a**).
 - b. Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos em relação à etapa de evocação e reconhecimento.
3. Teste de Atenção e de Função Executiva: Teste de Trilhas A e B:
 - a. Parte A: avalia atenção concentrada. Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos.
 - b. Parte B: avalia atenção seletiva e flexibilidade cognitiva (funções executivas): o grupo Eutireoidiano apresentou uma maior lentificação cognitiva quando comparado ao grupo Hipertireoidiano (**Figura 02b**).

Análise estatística:

As imagens de Ressonância Magnética reunidas desde o projeto anterior foram submetidas a um novo algoritmo do software CAT12 toolbox/SPM12 (<http://www.neuro.uni-jena.de/cat/>), através do método de Morfometria Baseada em Voxel (VBM). Para este processo, obtivemos, com o mesmo software, o Volume Intracranial Total Estimado (eTIV), com a finalidade de corrigir as diferenças de tamanho e volume craniano total de cada indivíduo.

Realizamos testes-T de Student comparando o grupo dos pacientes eutireoidianos versus o grupo controle e o grupo dos pacientes hipertireoidianos versus o grupo controle, assumindo como hipótese nula que os dois grupos a serem comparados são iguais, a fim de comparar suas médias. Os testes analisaram a diferença de volume de substância cinzenta entre os grupos, tanto na falta (atrofia) quanto no excesso, quando os grupos são comparados dois a dois.

Revisão bibliográfica para elaboração do manuscrito:

No período de agosto de 2019 a janeiro de 2020, além das atividades já descritas, foi realizada uma revisão dos dados obtidos pelo projeto anterior e uma revisão bibliográfica sobre o processamento de imagens pelo software CAT12 toolbox/SPM12, atentando à descrição de cada etapa, a fim de iniciar a elaboração do manuscrito desta pesquisa para publicação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Após submissão das imagens de Ressonância Magnética a um novo algoritmo do software, pudemos perceber algumas mudanças em relação à análise estatística do projeto anterior.

No projeto anterior, nas imagens geradas após a realização dos testes-T, observamos que os volumes

cerebrais de ambos os grupos (eutireoidianos e hipertireoidianos) possuíam atrofia semelhante quantitativamente em relação aos controles. Além disso, os grupos de pacientes apresentaram pouco volume cerebral marcado como excesso (volume de tecido cerebral de pacientes subtraídos do volume de tecido cerebral dos controles).

Nesta análise estatística (**Figura 03**), pudemos observar excesso de tecido cerebral ao invés de atrofia em ambos os testes (eutireoidiano x controle e hipertireoidiano x controle), mais importante no grupo eutireoidiano.

Como discussão inicial, é possível inferir que esses testes estatísticos comprovam a hipótese inicial no sentido de que, na doença de Graves, há mudanças estruturais cerebrais em comparação aos controles, detectado pelo tecido cerebral em excesso. Porém, as mudanças estruturais são mais importantes nos indivíduos com nível de hormônio sérico normal, os eutireoidianos, e não nos indivíduos com nível alterado de hormônio tireoidiano.

Nossa nova hipótese é que este tecido cerebral em excesso possa ser uma das alterações encontradas nestes pacientes que justifiquem seu pior desempenho cognitivo nos testes clínicos de avaliação de memória episódica verbal e de atenção e função executiva.

Podemos concluir que a doença de Graves altera estruturas cerebrais, porém as mudanças mais significantes estão presentes nos indivíduos eutireoidianos, tanto nas alterações de estruturas cerebrais quanto no desempenho de testes de funções cognitivas.

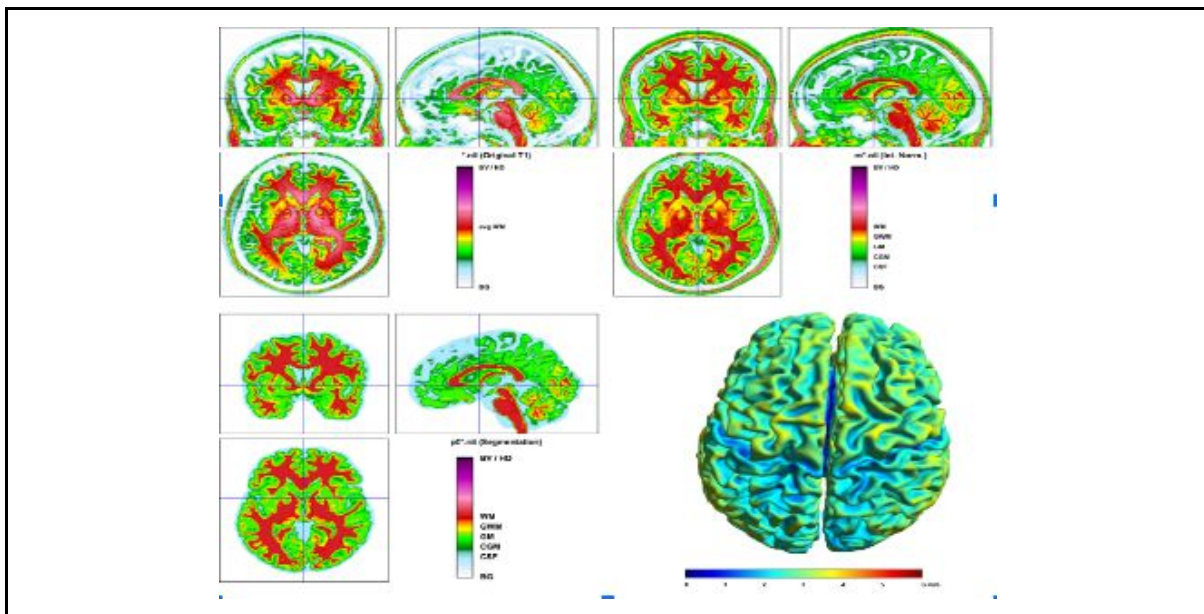


Figura 01. Exemplo de processamento de cada imagem de ressonância magnética após etapa de segmentação, que mostra um mapa e os volumes dos diferentes tecidos cerebrais de um único indivíduo.

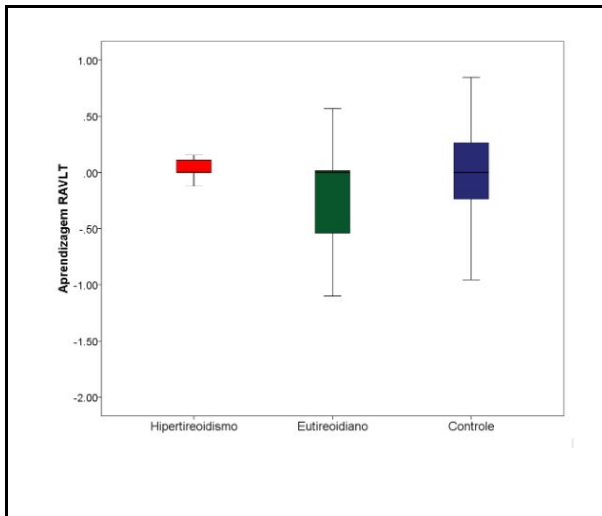


Figura 02-A. Bloxplot Teste de RAVLT - Etapa de aprendizagem: eutireoidianos apresentam maior dispersão dos scores, de forma assimétrica, e percentis menores, mostrando resultados inferiores estatisticamente significativos.

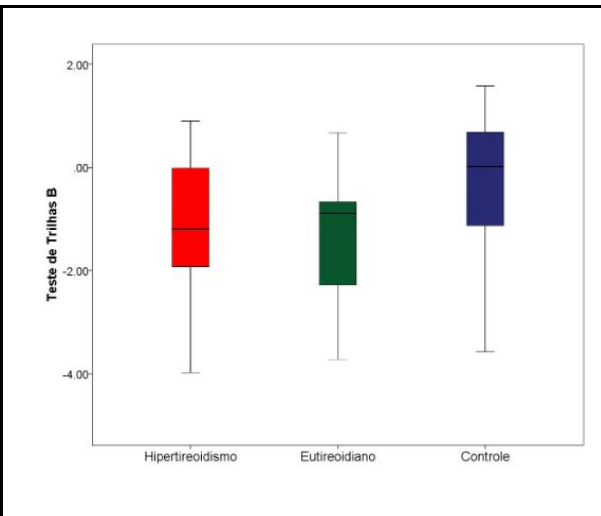


Figura 02-B. Bloxplot Teste de Trilhas B: ambos os grupos de pacientes apresentam percentis menores em relação ao controle, porém estatisticamente mais significativo nos eutireoidianos.

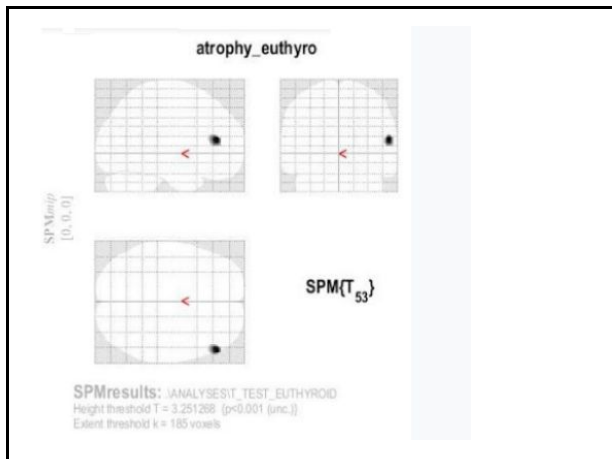


Figura 03-A. Mapa estatístico marcado com volumes cerebrais de atrofia do grupo eutireoidiano quando comparado ao controle.

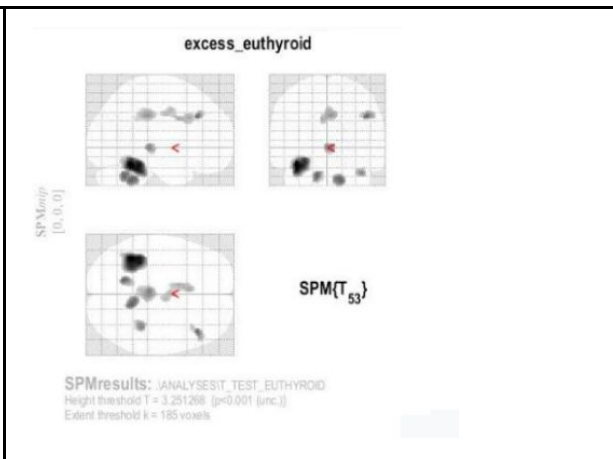


Figura 03-B. Mapa estatístico marcado com volumes cerebrais de excesso do grupo eutireoidiano quando comparado ao controle.

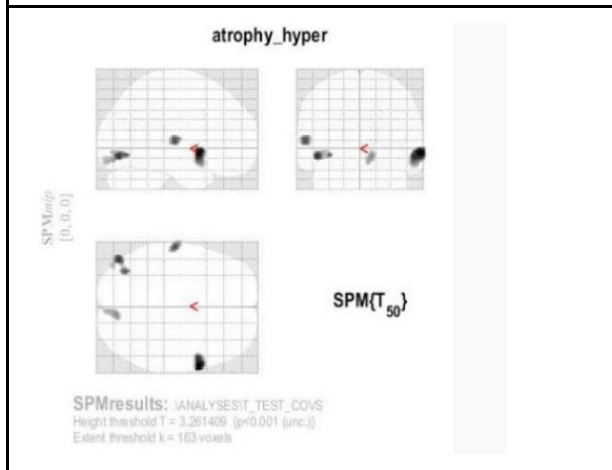


Figura 03-C. Mapa estatístico marcado com volumes cerebrais de atrofia do grupo hipertireoidiano quando comparado ao controle.

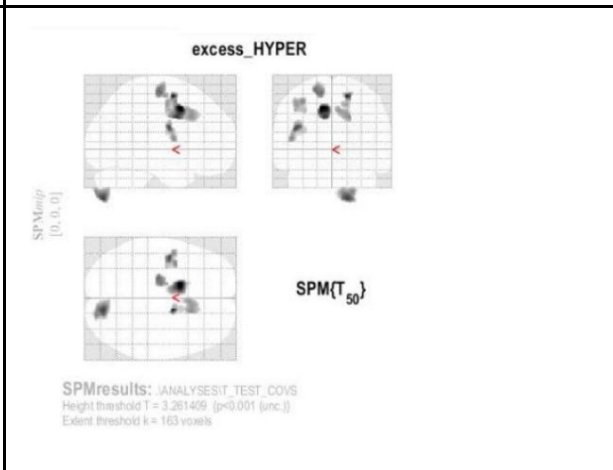


Figura 03-D. Mapa estatístico marcado com volumes cerebrais de excesso do grupo hipertireoidiano quando comparado ao controle.