

Universidade Federal de Minas Gerais
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Medicina Molecular

Nina Ramalho Alkmim

**AVALIAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL E RESPOSTA TERAPÊUTICA DOS
PACIENTES COM ORBITOPATIA DE GRAVES**

Belo Horizonte

2022

Nina Ramalho Alkmim

**AVALIAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL E RESPOSTA
TERAPÊUTICA DOS PACIENTES COM ORBITOPATIA DE
GRAVES**

Versão final

Dissertação apresentada como requisito parcial
para obtenção do título de mestre junto ao
Programa de Pós-Graduação em Medicina
Molecular da Universidade Federal de Minas
Gerais

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Leticia Ferreira
Gontijo Silveira

Belo Horizonte

2022

Ficha Catalográfica

Alkmim, Nina Ramalho.
AL415a Avaliação clínico-laboratorial e resposta terapêutica dos pacientes com orbitopatia de Graves [recursos eletrônicos]. / Nina Ramalho Alkmim. - - Belo Horizonte: 2022.

84f.: il.

Formato: PDF.

Requisitos do Sistema: Adobe Digital Editions.

Orientador (a): Letícia Ferreira Gontijo Silveira.

Área de concentração: Medicina Molecular

Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Oftalmopatia de Graves. 2. Iodo. 3. Pulsoterapia. 4. Dissertação Acadêmica. I. Silveira, Letícia Ferreira Gontijo. II. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. III. Título.

NLM: WK 265

Bibliotecário responsável: Fabian Rodrigo dos Santos CRB-6/2697



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA MOLECULAR

FOLHA DE APROVAÇÃO

AValiação CLÍNICO-LABORATORIAL E RESPOSTA TERAPÊUTICA DOS PACIENTES COM ORBITOPATIA DE GRAVES

NINA RAMALHO ALKMIM

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada, no dia vinte e cinco de agosto de dois mil vinte e dois, pela Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação Medicina Molecular da Universidade Federal de Minas Gerais constituída pelas seguintes professoras doutoras:

Leticia Ferreira Gontijo Silveira: Orientadora UFMG

Maria Marta Sarquis Soares
UFMG

Milena Maria Moreira Guimarães
UFMG

Belo Horizonte, 25 de agosto de 2022.



Documento assinado eletronicamente por **Leticia Ferreira Gontijo Silveira, Professora do Magistério Superior**, em 26/08/2022, às 11:36, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Maria Marta Sarquis Soares, Professora do Magistério Superior**, em 28/08/2022, às 11:59, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Milena Maria Moreira Guimaraes, Professora do Magistério Superior**, em 28/08/2022, às 13:02, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decretonº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1646048** e o código CRC **213157BA**.

AGRADECIMENTOS

À professora Doutora Leticia Ferreira Gontijo Silveira, minha orientadora, pelos ensinamentos, disponibilidade e exemplo profissional.

Ao professor Walter dos Reis Caixeta Braga, pela histórica dedicação ao ambulatório de Tireoide. Este trabalho é um pequeno recorte de todo seu empenho no cuidado dos pacientes com orbitopatia.

À Dra. Kamilla Maria Araújo Brandão, pelo incentivo e todo aprendizado proporcionado.

Aos preceptores e funcionários do serviço de Endocrinologia e Metabologia da UFMG, por viabilizarem este trabalho.

Aos meus pais e Ana pelo amor e suporte. Ao Bernardo, pelo companheirismo, carinho e escuta. Aos amigos, pela torcida.

“A força do pensamento haverá de criar coisas
incríveis, científicas, intuitivas, maravilhosas, profundas, necessárias, movedoras, salvadoras,
deslumbrantes ou amigas. Pensar é como fazer”.

(Valter Hugo Mãe)

Resumo

INTRODUÇÃO: A orbitopatia associada à tireoide (OT) é uma doença autoimune e inflamatória da órbita, que gera significativa redução de qualidade de vida, mesmo em suas formas leves. Tabagismo ativo, disfunção tireoidiana, radioiodoterapia e hipercolesterolemia são seus fatores de risco conhecidos. Intervenção terapêutica específica é necessária quando a OT é caracterizada como ativa e moderada a grave, que acomete não mais que 6% dos pacientes. A terapêutica considerada padrão é o uso de corticoterapia, eficaz em 70% dos pacientes. Objetivo geral: caracterização epidemiológica, clínica e laboratorial de pacientes com OT moderada a grave ativa, submetidos à pulsoterapia com metilprednisolona. Objetivos específicos: avaliação da resposta terapêutica à pulsoterapia, bem como seus efeitos colaterais; avaliação de fatores possivelmente associados à resposta terapêutica da pulsoterapia e avaliação da resposta terapêutica de pacientes com OT e hipertireoidismo, submetidos a radioiodoterapia durante a pulsoterapia.

METODOLOGIA: Trata-se de um estudo de coorte, retrospectivo. Os dados foram obtidos a partir da análise prontuário. Incluíram-se pacientes com OT forma moderada a grave ativa, atendidos no serviço de Endocrinologia do HC UFMG e em clínica privada, no período de 2006 a 2021. Pacientes incluídos foram tratados com pulsoterapia de metilprednisolona (4,5 g). Foram analisados dados epidemiológicos, função tireoidiana, positividade de autoanticorpos, comorbidades, grau de atividade da OT (CAS). Pacientes que melhoraram o CAS após tratamento (CAS inferior a 3) foram considerados respondedores (R). Não-respondedores (NR): pacientes que mantiveram CAS maior ou igual a 3 ao final da pulsoterapia e aqueles que demandaram uso de metilprednisolona de urgência/descompressão de órbita de urgência durante ou após término da pulsoterapia, independentemente do CAS final. Compararam-se tais grupos quanto às diversas variáveis clínico-laboratoriais, para avaliação de possíveis preditores de resposta terapêutica. Os resultados deste trabalho são apresentados no formato de artigo.

RESULTADOS: Incluíram-se 64 pacientes, 62 portadores de doença de Graves e 2 portadores de tireoidite de Hashimoto, com mediana de idade igual a 48 anos. Vinte e cinco por cento dos pacientes eram tabagista ativos e 56% estavam em eutireoidismo no momento da atividade ocular. Quarenta e sete (73,4%) pacientes foram classificados como R. Os grupos R e NR não se diferiram em relação ao gênero, histórico tabágico, CAS pré-tratamento,

positividade de TRAb e anti-TPO, função tireoidiana no momento da atividade ocular. Em relação ao tratamento do hipertireoidismo, 76,6% dos pacientes da amostra total foram submetidos a radioterapia. Realizar radioterapia durante a pulsoterapia discriminou pacientes R de NR, uma vez que 93,7% do primeiro grupo foram classificados como R, em contraste com 57,5% do segundo grupo ($p=0.018$).

CONCLUSÃO: A pulsoterapia foi eficaz, na maioria dos pacientes, no controle da atividade inflamatória da OT, resultado semelhante à literatura atual. Não foram identificados preditores de resposta ao glicocorticoide, exceto pelo momento de realização de radioiodoterapia. Sobre a controversa segurança de se realizar radioterapia em pacientes com OT ativa, este estudo levanta a hipótese de que a realização desta terapia não somente é segura, bem como pode estar relacionada à melhora da atividade ocular, quando realizada concomitantemente ao esquema da pulsoterapia com metilprednisolona.

Palavras-chave: Oftalmopatia de Graves. 2. Iodo. 3. Pulsoterapia.

Abstract

Context: Thyroid associated ophthalmopathy (TAO) is an inflammatory, autoimmune disease of the orbits with profound impact in quality of life. TAO is a major therapeutic challenge in its active moderate-to-severe forms. Intravenous glucocorticoid has been indicated as the first-line treatment in this form of TAO. **Objective:** To evaluate the clinical characteristics and predictive factors of response to pulse therapy with methylprednisolone in patients with active moderate-to-severe TAO. **Methods:** Recorded data of 64 patients (45 women) with active moderate-to-severe TAO were retrospectively collected. All patients were treated with a minimum cumulative dose of 4.5 g of methylprednisolone, given in 12 weekly infusions. Patients were classified as responders (R) or non-responders (NR). Detailed clinical characteristics and putative determinants for therapy response were assessed and compared between pulse therapy responders (R) and non-responders (NR). **Results:** 62 patients had Graves' disease, 2 had Hashimoto's thyroiditis, median age of thyroid dysfunction diagnosis, TAO manifestation and pulse therapy were 46, 48 and 51yrs, respectively, 48 (25%) were smokers, 36 (56,2%) were euthyroid when TAO manifested. 47 patients (73.4%) were classified as R. R and NR groups did not differ in gender, age, smoke status, serum antibodies, thyroid function, time of disease, pre-treatment CAS and adverse events. Radioactive iodine (RAI) was used to treat hyperthyroidism in 49 patients: 16 (32,7%) received RAI during the pulse therapy for TAO, 17 (34.7%) after pulse therapy, 15 (30.6%) before the active phase of TAO (before pulse therapy) and one at 2 moments: pre and after pulse therapy. The rate of response among patients who received RAI during pulse therapy (active TAO) was 93.7% compared with 57.5% of response in patients who received RAI before or after pulse therapy ($p=0.018$). **Conclusion:** Efficacy of pulse therapy was observed in the vast majority of patients. No predictive factor to response to pulse therapy was demonstrated, except for the moment of RAI administration. While RAI has been contraindicated in active phase of TAO, our results suggest that it seems to be safe and possibly contribute to a favorable response, when used concomitantly with pulse therapy.

Keywords: Orbitopathy. Radioactive therapy. Pulse therapy.

ABREVIATURAS

CAS: *clinical activity score*

DAT: doença autoimune da tireoide

DG: Doença de Graves

EUGOGO: European Group on Graves's Orbitopathy

EV: endovenoso/endovenosa

FDA: Food and Drug Administration

IGF-1R: receptor do fator de crescimento insulina símile tipo 1

lncRNA: RNA longo não-codificante

MHC: complexo principal de histocompatibilidade

miRNA: microRNAs

MMF: micofenolato de mofetil

M:H: mulher:homem

ncRNA: RNA não-codificante

NO: neuropatia óptica

OT: oftalmopatia associada à tireoide

PPAR γ : receptor ativado por proliferador de peroxissomo gama

RAI: radioiodoterapia

RM: ressonância magnética

TC: tomografia computadorizada

TCZ: tocilizumab

TG: tireoglobulina

TRAb: anticorpo anti-receptor de TSH

TSHR: receptor de tireotrofina

VDR: receptor da vitamina D

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO.....	13
1. Considerações iniciais.....	14
2. Antecedentes científicos	14
2.1 Epidemiologia da oftalmopatia associada à tireoide (OT).....	14
2.2 Idade e gênero.....	15
2.3 Base genética e fisiopatologia	16
2.3.1 Genética	16
2.3.2 Epigenética.....	17
2.3.4 Flora microbiana intestinal e OT	18
2.3.5 Fisiopatologia.....	19
2.4 Fatores de risco	22
2.4.1 Tabagismo.....	22
2.4.2 Disfunção tireoidiana e TRAb.....	22
2.4.3 Hipercolesterolemia.....	23
2.4.4 Radioidoterapia (RAI)	24
2.5 Curso clínico e diagnóstico.....	28
2.6 Classificação.....	30
2.7 Tratamento.....	33
2.7.1 Terapia local.....	33
2.7.2 Selênio.....	33
2.7.3 Orbitopatia moderada-grave ativa.....	34
2.7.3.1 Glicocorticoides.....	34
2.7.3.2 Micofenolato.....	35
2.7.3.3 Outras terapêuticas.....	35
2.7.4 Estados ameaçadores da visão e formas inativas.....	37
3. Contexto do Estudo	38
2. OBJETIVOS.....	40

2.1 Objetivo primário.....	41
2.2 Objetivos secundários.....	41
3. METODOLOGIA.....	42
3.1 Tipo de estudo e coleta de dados.....	43
3.2 Pacientes.....	43
3.2.1 Critérios de inclusão.....	43
3.2.2 Critérios de exclusão.....	43
3.3 Variáveis estudadas.....	43
3.4 Divisão entre respondedores e não-respondedores.....	44
3.5 Análise estatística.....	45
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46
5. ARTIGO.....	58
6. CONCLUSÃO.....	77
7. ANEXOS.....	78

1- INTRODUÇÃO

1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A orbitopatia de Graves é uma doença autoimune e inflamatória da órbita de manifestação clínica ampla, variando entre casos leves e autolimitados a casos graves, com evolução para perda visual se não tratados em tempo oportuno. É a causa mais comum de doença orbitária, tanto uni como bilateral, na população adulta. É a manifestação extratireoidiana mais comum da Doença de Graves (DG), mas excepcionalmente pode estar associada à tireoidite de Hashimoto, daí a denominação mais abrangente de oftalmopatia associada à tireoide (OT).^{1,2}

2. ANTECEDENTES CIENTÍFICOS

2.1 Epidemiologia da oftalmopatia associada à tireoide (OT)

A prevalência mundial do hipertireoidismo é estimada em 0,75-1,6%, a depender da região estudada, enquanto no Brasil sua prevalência já foi reportada como 2%.³⁻⁵ A DG se destaca como a principal causa de hipertireoidismo (80% dos casos) em regiões iodossuficientes, tendo a OT como uma das suas três manifestações clínicas clássicas, juntamente com o hipertireoidismo, bócio difuso e a dermatopatia (mixemema pré-tibial).⁶ A OT pode ocorrer mesmo em estados de eutireoidismo com anticorpos positivos e de hipotireoidismo (tireoidite de Hashimoto), em pacientes predispostos à alterações teciduais tireoidianas de origem autoimune.

Dados sobre a epidemiologia da OT ainda são escassos, obtidos de estudos provenientes de centros terciários de referência (*bias* de seleção), que utilizaram critérios diagnósticos diversos, muitas vezes não incluindo formas leves da OT e, portanto, talvez não refletindo a real prevalência.^{7,8,9} Em um estudo norte-americano com quinze anos de seguimento, a taxa de incidência de OT (de diferentes graus de gravidade), foi de 16/100.000 por ano para mulheres e de 2,9/100.000 por ano para homens, sendo ainda observado um pico bimodal de idade ao diagnóstico (40-44 e 60-64 anos para mulheres e 45-49 e 65-69 para homens).¹⁰ Em um estudo prospectivo realizado entre 1990 e 2009 na população dinamarquesa, a incidência de OT moderada-grave foi de 2,67/100.000 por ano para mulheres e 0,54/100.000 por ano para homens.¹¹ A prevalência global da OT em diferentes regiões pode ser estimada considerando-se a incidência dessa condição e seu tempo de duração. O *European Group on Graves's Orbitopathy* (EUGOGO) reportou uma prevalência estimada de

OT de 1:1000 indivíduos, a partir da avaliação de três estudos epidemiológicos europeus. Esse dado desmistificou, segundo postulado pelo EUGOGO, a caracterização da OT como uma doença rara.¹²

Em relação à prevalência da OT entre pacientes com DG, uma metanálise recente demonstrou uma prevalência de 40%, sendo o continente asiático o de maior prevalência (44%), seguido da Europa (38%) e América do Norte (27%), com grande heterogeneidade entre os estudos incluídos.¹³ Em contraste, uma coorte prospectiva avaliou 356 pacientes recém-diagnosticados com hipertireoidismo por DG ao longo de oito anos, admitidos em um centro único de atenção secundária na Itália, e encontrou uma prevalência de 27% de OT.^{14,15}

Pouco se sabe sobre as tendências epidemiológicas e clínicas da OT ao longo dos anos, já tendo sido apontada uma possível redução da sua incidência e da sua gravidade ao longo das últimas décadas.⁷ Em um estudo prospectivo observacional, compararam-se os pacientes com OT atendidos em centros de referência terciários da Europa no ano de 2000 com pacientes atendidos em 2012. Não houve diferença entre a média de pacientes atendidos por mês em cada centro, idade e gênero dos pacientes e prevalência de tabagismo entre os dois grupos. Interessantemente, a proporção de pacientes com OT ativa foi menor em 2012 do que em 2000 (36,85 *vs.* 60%, $p < 0,01$). A gravidade da OT e o tempo entre diagnóstico da OG e seu tratamento foram, igualmente, inferiores em 2012 em relação à 2000.¹⁶

A epidemiologia da OT no Brasil é pouco conhecida. O perfil clínico de pacientes com DG atendidos em um centro terciário no estado de São Paulo ao longo de 30 anos (1986-2016) foi analisado retrospectivamente. Dentre os pacientes com OT, demonstrou-se menor proporção de pacientes com doença ativa no período de 2007 a 2016 em relação ao período de 1986 a 2006 (15,7% *vs.* 23,4%, $p=0,04$). Similarmente, foi demonstrada menor proporção de tabagistas no período de 2007 a 2016 (28,7% x 42,8% $p=0,001$), sendo este um fator apontado pelos autores como possível contribuinte para redução da OT ativa no período analisado.¹⁷

2.2 Idade e gênero

Como já citado, foi demonstrado um pico bimodal de idade ao diagnóstico da OT entre moradores do estado de Olmsted, tanto entre mulheres quanto em homens, mas com idades mais precoces de diagnóstico para as mulheres (40-44 e 60-64 anos para mulheres e 45-49 e 65-69 para homens).¹⁰ Em contrapartida, em um estudo de caso-controle

multicêntrico, a idade dos pacientes com OT encontrada apresentou uma curva de distribuição normal, com média de idade de 44,8 anos. Neste mesmo estudo, verificou-se que pacientes com OT eram mais velhos que pacientes sem OT, sendo a idade avançada um fator de risco para desenvolvimento de OT.¹⁸ A mediana de idade de diagnóstico da OT na população dinamarquesa após a iodinação do sal foi de 56 anos, sendo descrito uma taxa de incidência da OT consideravelmente menor entre pacientes com idade inferior a 40 anos.¹¹ A OT é considerada rara na população pediátrica e sua apresentação clínica parece ter menor gravidade nesta população.¹⁹

Como as demais doenças de base autoimune, a OT é mais prevalente em mulheres. A relação mulher:homem (M:H) já foi descrita em múltiplos estudos como próxima de 4:1.^{11, 18, 20} Ademais, o gênero parece influenciar na gravidade da doença, uma vez que a relação M:H decai à medida que se eleva a gravidade da doença.²¹

2.3 Base genética e fisiopatologia

2.3.1 Genética

A doença autoimune da tireoide (DAT), que abarca a DG e a tireoidite de Hashimoto, tem etiologia multifatorial, originando-se de uma complexa e pouco compreendida interação entre fatores genéticos e ambientais.²² O advento das pesquisas genéticas evidenciou a contribuição poligênica para o desenvolvimento da DG. Como exemplo, polimorfismos em diversos genes já foram associados à DG. Dentre eles, podemos destacar genes com funções imunomoduladoras, comuns a outras doenças autoimunes, como *CD25*, *CD40*, *FCRL3*, *PTPN22*, *CTLA4* e região do antígeno leucocitário humano [HLA]. Destacam-se, ainda, polimorfismos associados a genes tireoide-específicos, tais como o gene codificador do receptor de TSH (*TSHR*) e gene da tireoglobulina (*TG*).²³ Mesmo já tendo sido demonstrada a associação desses genes com a DG, a real contribuição de cada um para a sua patogênese ainda é incerta e carece de maiores estudos.

À semelhança das incertezas associadas às bases genéticas das DAT, pouco se tem descrito sobre a contribuição genética para o desenvolvimento, curso, fenótipos e gravidade da OT. Conforme já demonstrado, existe uma relação direta entre níveis séricos de anticorpos contra o TSHR e a gravidade e atividade da OT. Aliado ao conhecimento da expressão de TSHR em fibroblastos orbitários, orquestradores da OT, buscou-se a desvendar a relação

entre o gene *TSHR* e a OT, porém nenhuma associação foi encontrada entre variantes genéticas no *TSHR* e a OT.²⁴⁻²⁶ Em contraste, um recente estudo de caso-controle brasileiro encontrou uma associação positiva entre o polimorfismo intrônico do *TSHR*, rs12885526 e a OT, porém sem relação com o curso clínico ou resposta terapêutica da OT.²⁷

Polimorfismos em diversos genes foram associados à OT, incluindo o gene *CTLA4*, que codifica uma molécula expressa na superfície de linfócitos T *helper*, responsável por ativar um sinal inibitório às células T, e o gene *IL23R*, codificador de uma proteína transmembrana que modula a via pró-inflamatória, em ambos os casos com dados conflitantes.^{26,28-31} Um estudo recente demonstrou associação entre o polimorfismo *Apa-I* do gene do receptor da vitamina D (*VDR*) e OT, hipotetizando o possível papel da vitamina D na via imunomoduladora da OT.³² A região do HLA, descrita previamente como associada a DG, especialmente seu haplótipo HLADR3, não foi associada à OT em estudo prévio.²⁶ Verificou-se, porém, que os alelos HLA-DRB1*16 e HLA-DRB1*03 estão associados ao fenótipo miogênico (aumento da espessura dos músculos extraoculares) e não-miogênico, respectivamente, de uma população brasileira com OT.³³ Tais achados sugerem que polimorfismos em múltiplos genes poderiam estar relacionados aos diferentes fenótipos da OT, mas essa hipótese carece ainda de mais evidências.

Em resumo, os dados publicados até agora são insuficientes para associar o desenvolvimento da OT, seu curso ou seu prognóstico a um único gene específico. Pode-se questionar, então, a possível contribuição da epigenética e dos fatores ambientais na etiopatogenia OT.³⁴

2.3.2 Epigenética

A epigenética envolve os mecanismos de modulação da expressão gênica, mitótico/meioticamente herdáveis, e que não podem ser descritos por modificações na sequência do DNA. Dentre esses mecanismos epigenéticos, destacam-se a metilação do DNA, modificação de histonas e os RNAs não codificantes (ncRNA).³⁵ Esses mecanismos regulam funções importantes, tais como inativação do cromossomo X, estabilidade genômica e *imprinting* gênico.³⁶ Além disso, a epigenética parece ter um papel importante na regulação das funções imunes inatas e adaptativas.³⁷

A relação entre OT e a epigenética vem ganhando atenção crescente nos últimos anos. Um estudo recente analisou o metiloma do DNA de sangue periférico de seis pacientes com OT, pareados com controles sem OT. Foram identificados vários *loci* diferencialmente metilados, muitos deles em genes previamente associados à OT ou à imunorregulação, incluindo o *DRD4* e o *CD14*. A hipermetilação do *IL17RE*, que codifica uma interleucina da via pró-inflamatória e que estimula a síntese de matriz extracelular pelos fibroblastos do tecido retro-orbitário, associou-se positivamente com a escala de gravidade da OT- *Clinical Activity Score*- (CAS).³⁸ Em outro estudo, analisaram-se o perfil de metilação do DNA e o aspecto tomográfico das órbitas de 35 pacientes com OT. O grau de metilação do gene *MBP*, que desempenha o papel de sinalização das células T, correlacionou-se positivamente com a razão da medida dos músculos extraoculares e a área total da órbita.³⁹

Os ncRNA podem ser divididos entre microRNAs (miRNA), RNA longo não-codificante (lncRNA) e RNA circular (circRNA). Os miRNA são pequenas sequências de nucleotídeos que exercem função regulatória e inibitória sobre a expressão gênica, em nível pós-transcricional. O miR-146a-5p tem um papel crucial na regulação da via inflamatória, inibindo a cascata da via *nuclear fator-kappa B* (NF-kB).³⁴ O miR-146a-5p já foi relacionado à diversas doenças autoimunes, tendo sido demonstrada uma redução dos seus níveis circulantes em pacientes com OT. Ademais, níveis reduzidos do miR-146a-5p correlacionaram-se negativamente com o CAS dos pacientes com OT.⁴⁰ Por outro lado, o miR-146a parece estar superexpresso em tecido orbitário de pacientes com OT em relação a controles, colocando em discussão os possíveis múltiplos papéis do miR-146a nas vias de sinalização autoimunes.^{41,42} Em relação ao mecanismo epigenético de modificação de histonas, estudo iniciais apontam para uma possível relação entre a metilação da histona H3 e a via adipogênica da OT.³⁴ Porém, como para os demais mecanismos epigenéticos, ainda são necessários mais estudos para elucidar o real papel da epigenética na etiopatogenia da OT.

2.3.4 Flora microbiana intestinal e OT

O microbioma intestinal é o conjunto de microorganismos que vivem em simbiose no trato gastrointestinal dos mamíferos. Possui singular importância na digestão alimentar, proteção contra patógenos e na modulação do sistema imune. Nos últimos anos, crescente evidência tem relacionado a flora intestinal às doenças autoimunes, tais como lúpus eritematoso sistêmico, diabetes *mellitus* tipo 1 e síndrome de Sjögren. A complexa interação entre fatores genéticos pouco descritos, fatores ambientais e a disbiose intestinal parece ter

um papel importante no desenvolvimento dessas doenças, sendo a perda da tolerância imune na barreira intestinal um dos possíveis mecanismos envolvidos.⁴³ Publicações recentes apontam a existência de diferenças entre a composição da microbiota de pacientes com DG em relação a controles saudáveis. Redução da diversidade da flora intestinal e alteração nas proporções dos filos Bacteroidetes e Firmicutes, família Prevotellaceae e gênero *Lactobacillus* são algumas das diferenças já descritas associadas à DG.⁴⁴

Até o momento, pouco se sabe sobre a possível relação entre microbioma intestinal e OT. O primeiro estudo em humanos que comparou a microbiota intestinal de pacientes com OT com controles, a partir do sequenciamento de amostras fecais, revelou diferenças relevantes: maior proporção do filo Bacteroidetes, menor proporção do filo Firmicutes e aumento do gênero *Prevotellaceae* na flora de pacientes com OT ativa.⁴⁵ O mesmo grupo demonstrou correlação entre maiores concentrações da espécie *Prevotella copri* e do gênero *Bacteroides* e maiores títulos de anticorpos anti-receptor de TSH (TRAb) no mesmo perfil de pacientes com OT.⁴⁶

2.3.4 Fisiopatologia

O advento da medicina de imagem e microscopia ajudou a esclarecer os mecanismos patogênicos responsáveis pelos sinais e sintomas classicamente associados à OT, como a proptose, hiperemia conjuntival, edema de carúncula e dor ocular. A expansão dos tecidos retro-orbitários, tais como tecido adiposo e musculatura extrínseca ocular parece resultar em um aumento da pressão interna na cavidade óssea orbitária, levando ao processo congestivo por redução da drenagem venosa e linfática.⁴⁷ Variações de acometimento desses dois tecidos levariam a diferentes fenótipos, com predominância de proptose, no caso de maior expansão do tecido adiposo, ou maior grau de diplopia, quando o acometimento da musculatura extrínseca ocular for o fator predominante.⁴⁸ Pacientes com OT e idade inferior a 40 anos tendem a apresentar maior expansão do tecido gorduroso, na ausência de alterações da musculatura, enquanto indivíduos acima de 70 anos tendem a apresentar maior acometimento da musculatura extrínseca ocular.⁴⁷

A mensuração dos compartimentos orbitários foi realizada, a partir de medidas obtidas por tomografia computadorizada (TC) em 77 pacientes com DG com ou sem OT clínica, sendo encontrado aumento do tecido adiposo e/ou da musculatura em 87% dos pacientes com

OT clínica e em 70% daqueles sem OT clínica. Expansão exclusiva do tecido adiposo, sem alteração da musculatura, foi encontrada em 8% dos pacientes.⁴⁹

Para elucidar se o mecanismo de expansão do tecido adiposo na patogênese da OT poderia ser explicado por um aumento na adipogênese, e não apenas pelo crescimento de adipócitos pré-existentes, pesquisadores avaliaram a expressão de genes envolvidos na adiponeogênese (leptina, adiponectina, receptor ativado por proliferador de peroxissomo gama-PPAR γ -, TSHR, fator 1 pré-adipócito) em tecido adiposo retro-orbitário de pacientes com OT na forma ameaçadora da visão. Verificou-se maior expressão desses genes em tecidos acometidos em relação a controles saudáveis, sugerindo um processo de adiponeogênese na fisiopatologia da OT.⁴⁸

A análise histológica de tecidos orbitários afetados evidenciou acúmulo de glicosaminoglicanos hidrofílicos, com destaque para o ácido hialurônico, na matriz extracelular e entre fibras musculares. O acúmulo desse material hidrofílico desencadeia um fluxo osmótico, com consequente aumento hídrico e expansão dos ventres musculares em significativa escala. Interessantemente, apesar dessa expansão dos ventres musculares, a estrutura de cada fibra muscular encontrava-se intacta.^{47,50}

O entendimento da OT como um conjunto de sinais secundários a um processo de adiponeogênese e alteração da matriz extracelular, levanta questionamentos sobre quais os elementos celulares envolvidos e quais seus elementos deflagradores. A concordância temporal com a doença tireoidiana autoimune e a já descrita relação entre gravidade da OT e os títulos de TRAb, sugerem que a OT compartilha da mesma etiologia e, possivelmente, dos mesmos autoantígenos que a DAT.^{51,52}

O TSHR, um receptor glicoproteico, membro da família dos receptores acoplados à proteína G, localizado na membrana plasmática das células foliculares da tireoide, é descrito como o principal antígeno da DG.⁵³ Presente não apenas em tecido tireoidiano, o TSHR é também expresso em baixa escala em tecidos como pele, timo, adrenais e rins. Sua expressão já foi observada em culturas de fibroblastos de tecido retro-orbitário e em tecido adiposo retro-orbitário sadio. Apesar da sua presença ubíqua, sua maior expressão em tecido orbitário de pacientes com OT em relação a controles saudáveis e a sua maior expressão em portadores de OT ativa em relação àqueles com OT inativa apontam para um possível papel do TSHR como autoantígeno na OT, à semelhança da DG.⁵⁴

Modelos animais da DG foram desenvolvidos imunizando camundongos com adenovírus expressando a subunidade-A do domínio extracelular do TSHR (Ad-TSHR). A maioria desses camundongos desenvolveu alterações clássicas da OT, corroborando o papel do TSHR na etiopatogênese da OT.⁵⁵⁻⁵⁷

No estudo das bases celulares responsáveis pelo desenvolvimento da OT, evidências crescentes têm apontado para o fibroblasto orbitário como a célula alvo imunogênica, com importante papel das células T e B em associação.² Foi demonstrado que extratos de linfócitos CD8+, provenientes de tecido orbitário de pacientes com OT, ativaram-se e proliferaram-se *in vitro*, quando expostos a fibroblastos obtidos de tecido autólogo retro-orbitário. Tal ativação ocorreu via complexo principal de histocompatibilidade (MHC) classe I, não ocorrendo similar ativação quando em contato com extratos de musculatura extrínseca ocular.⁵⁸ Ao contrário das células musculares da órbita, fibroblastos retro-orbitários expressam o antígeno leucocitário humano (HLA), corroborando a hipótese de que esses últimos orquestram o processo inicial de apresentação de antígeno aos linfócitos.⁵⁴

Fibroblastos orbitários expressam em sua superfície CD40, e são ativados após ligação ao CD154, expresso em células T CD4+ (complexo CD40-CD154). Fibroblastos são também ativados por citocinas produzidas por linfócitos T (interferon- γ , fator de necrose tumoral). Após ativados, produzem mais citocinas pró-inflamatórias, tais como IL-1 e IL-6, além de produzirem prostaglandina E2 e ácido hialurônico, contribuindo para perpetuação do processo inflamatório e para expansão do tecido retro-orbitário.² Como demonstrado *in vitro*, a ativação do TSHR expresso em um subgrupo de fibroblastos retro-orbitários (pré-adipócitos), promove sua diferenciação em adipócitos maduros, expandindo também o compartimento adiposo da órbita.⁵⁹

Há mais de 30 anos, demonstrou-se que o IGF-1 era capaz de promover a proliferação de células foliculares tireoidianas de ratos *in vitro*, além de potencializar a ação do TSH na síntese de DNA.⁶⁰ Já foi demonstrado que fibroblastos de pacientes com OT expressam mais o receptor de IGF-1 (IGF-1R) em relação a fibroblastos orbitários de controles saudáveis.² O IGF-1R é um receptor do tipo tirosina-quinase ubiquamente expresso, que participa da proliferação, crescimento e diferenciação celular.² Ademais, verificou-se que IGF-1R e TSHR apresentam significativa proximidade nas membranas celulares de fibroblastos orbitários e de células foliculares tireoidianas, e que o anticorpo monoclonal anti-IGF-1R bloqueia a via de sinalização quinase-dependente do TSHR, sugerindo uma relação espacial e

funcional entre esses receptores.⁶¹ IGF-1R de fibroblastos de tecido orbitário com OT, quando estimulados, produzem IL-16 e RANTES, importantes quimioatrativos de linfócitos TCD4+.⁵²

2.3 Fatores de risco

2.4.1 Tabagismo

O tabagismo é o principal fator de risco modificável da OT. Evidências apontam uma interação dose-dependente entre cigarro e OT, sendo o tabagismo associado à maior incidência, maior gravidade e à pior resposta terapêutica da OT.⁹ Os mecanismos envolvidos nessa interação ainda não foram completamente elucidados, mas parecem envolver hipóxia tecidual, modulação da produção de citocinas, aumento da expressão do HLA-DR em fibroblastos orbitários e estímulo à adipogênese.⁶²

Dentre pacientes com DG, tabagistas têm maior chance de desenvolver OT do que não-tabagistas.⁶³ Ademais, tabagistas tendem a desenvolver formas mais graves de OT, com maior risco de diplopia e proptose.⁹ Em relação à resposta terapêutica, tabagistas respondem menos e mais lentamente ao tratamento da OT.⁶⁴ Tabagistas apresentam, ainda, maior chance de desenvolver OT ou agravá-la quando submetidos a radioiodoterapia (RAI).⁹ Dentre pacientes com DG, tabagistas têm significativo maior risco de desenvolver OT do que ex-tabagistas, apontando a cessação do tabagismo como uma poderosa medida preventiva da OT.⁶⁵

2.4.2 Disfunção tireoidiana e TRAb

Tanto o hipotireoidismo quanto o hipertireoidismo parecem afetar negativamente o curso da OT, uma vez que estados de disfunção tireoidiana tendem a estar relacionados a maior gravidade da OT.⁶⁶

No estado de hipotireoidismo, a elevação do TSH promove ativação do TSHR em fibroblastos de tecido orbitário, ativando vias intracelulares de estímulo à produção de glicosaminoglicanos e produção de citocinas pró-inflamatórias, perpetuando o processo inflamatório das órbitas.⁶⁷ Estados de hipertireoidismo são frequentemente acompanhados de elevação do TRAb, fator também capaz de estimular o TSHR e perpetuar a expansão do

tecido retro-orbitário.⁶⁸ Sendo assim, a restauração do eutireoidismo é uma medida essencial no manejo da OT.⁹

O TRAb é definido como qualquer anticorpo que se liga especificamente a alguma porção do TSHR. É o único e altamente sensível biomarcador da DG e da OT. Pode ser estimulador, inativador ou neutro em relação às respostas intracelulares desencadeadas após sua ligação com o TSHR.⁶⁹ Além de ser diagnóstico, a mensuração dos títulos de TRAb parece prever o risco de OT em pacientes com DG: a positividade do TRAb após múltiplas diluições foi capaz de diferenciar pacientes com DG e OT daqueles com apenas DG.⁷⁰ Altos títulos de TRAb mostraram, ainda, se correlacionar positivamente com a atividade da OT e com sua gravidade.^{71,72}

2.4.3 Hipercolesterolemia

Estatinas são fármacos inibidores da 3-Hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A redutase, amplamente utilizados como hipolipemiantes, com potencial de redução de LDL e do risco cardiovascular. Nos últimos anos, crescente evidência tem apontado o papel anti-inflamatório das estatinas, independente da redução do colesterol.⁷³

À semelhança do observado em outras doenças inflamatórias, o uso das estatinas tem sido apontado como potencial fator preventivo da OT. Em uma grande coorte retrospectiva, observou-se que o uso de estatinas por pelo menos 60 dias em pacientes com DG recém-diagnosticada foi associado a uma redução do risco de desenvolvimento da OT em 40%, não ocorrendo redução deste risco naqueles pacientes que usaram outra classe de anti-inflamatório (inibidores da ciclo-oxigenase 2).⁷⁴

Posteriormente, com o propósito de se avaliar a possível relação entre os níveis de colesterol e a OT, pesquisadores avaliaram de maneira transversal a ocorrência de OT e os níveis de colesterol em uma população de pacientes recém diagnosticados com DG, indicados para o tratamento com RAI. Após ajuste para a duração do hipertireoidismo, demonstrou-se que pacientes com DG de menos de 44 meses de evolução e OT apresentavam níveis séricos de colesterol total e de LDL significativamente mais elevados do que aqueles com DG sem OT. Não se verificou associação entre OT e níveis de HDL e triglicérides. Quando avaliados apenas pacientes com OT não tratada, em uma análise multivariada, após ajuste para duração da OT, níveis totais de colesterol ($p=0.04$) e de LDL ($p=0.03$) se correlacionaram com a

escala de atividade CAS.⁷⁵ Tal estudo levantou a hipótese de que os efeitos potencialmente benéficos das estatinas na OT estão ligados ao metabolismo do colesterol, e não somente aos efeitos pleiotrópicos e anti-inflamatórios dessa classe farmacológica.

Em outro estudo de coorte, que inclui pacientes com diagnóstico recente de DG, verificou-se que usuários de estatinas apresentavam significativamente menor risco de desenvolver OT do que não usuários, após ajuste para idade e gênero.⁷⁶

Os mecanismos envolvidos nesta interação entre estatinas e OT ainda carecem de descrição. Mesmo ainda sem evidências provenientes de estudos prospectivos randomizados, o último consenso do EUGOGO sugere o uso de estatinas para tratamento da hipercolesterolemia em pacientes com OT, como medida de controle dos fatores de risco de base.¹⁴

2.4.4. Radioiodoterapia (RAI)

RAI é uma terapia eficaz e definitiva, empregada amplamente no tratamento da DG.⁶ Após sua administração, geram-se alterações histológicas sobre o tecido tireoidiano (necrose, resposta inflamatória crônica, fibrose), que culminam no controle do hipertireoidismo e na redução do tamanho glandular. Alterações na resposta imune tireoidiana também parecem ocorrer em decorrência desta modalidade terapêutica.⁷⁷

O aumento transitório dos níveis de TRAb após a administração de RAI já é reconhecido há décadas.⁷⁸ Em um estudo prospectivo de cinco anos de seguimento, pacientes recém-diagnosticados com DG foram randomizados entre três modalidades terapêuticas (drogas antitireoidianas, RAI e tireoidectomia), sendo avaliados os níveis de TRAb pré e pós-intervenção terapêutica. Observou-se que níveis de TRAb decaíram gradualmente após realização de tireoidectomia e durante o uso de antitireoidianos. No grupo da RAI, porém, verificou-se aumento dos níveis de TRAb imediatamente após a administração do iodo, com pico máximo no terceiro mês pós-RAI, decaindo posteriormente até 12 meses após a RAI. Significativamente menos pacientes apresentaram normalização do TRAb no grupo da RAI em relação aos grupos tireoidectomia e antitireoidianos.⁷⁹ Outro grupo de pesquisadores observou que esta resposta exacerbada de produção de TRAb pós-RAI é atenuada quando se emprega metimazol pré-RAI. Segundo os autores, tal achado poderia ser justificado pelas

ações imunomodulatórias do próprio metimazol ou ligadas ao melhor controle do hipertireoidismo e, conseqüentemente, possível atenuação da resposta imune.⁸⁰

A interação entre RAI para o tratamento do hipertireoidismo e a OT vem sendo extensamente debatida. Relatos de piora ocular após a realização da RAI datam da década de 60 do século XX.⁷⁷ No início da década de 90, em um estudo prospectivo randomizado, 168 pacientes com DG foram divididos em dois grupos: grupo 1 (n=54), com pacientes entre 20-34 anos, randomizados para uso de antitireoidianos ou tireoidectomia; grupo 2 (n=114), com pacientes entre 35-55 anos, randomizados para uso de antitireoidianos, tireoidectomia ou RAI. Durante o seguimento, não houve diferença entre desenvolvimento/piora da OT no grupo 1. Já no grupo 2, OT surgiu/agravou em 11% daqueles em uso de antitireoidianos, 16% dos tireoidectomizados e em 33% daqueles submetidos a RAI, com um risco relativo de 4,1 associado a RAI em relação às demais terapêuticas. Além disso, risco de desenvolvimento/piora da OT aumentou proporcionalmente ao nível de T3 sérico pré-tratamento.⁸¹

Outro estudo prospectivo incluiu pacientes com DG sem OT ou com OT leve, randomizados para receber (1) RAI, (2) RAI associado a prednisona oral (0,4-0,5 mg/kg) e (3) tapazol. Levotiroxina foi administrada prontamente caso elevação de TSH ocorresse após a RAI. No grupo 1 (n=150), 23 (15%) pacientes evoluíram com piora ou aparecimento de sintomas oculares. No grupo 2 (n=145), nenhum paciente piorou/manifestou sintomas oculares, sendo que 75% daqueles que já tinham OT leve pré-tratamento melhoraram. No grupo 3 (n=148), quatro pacientes pioraram a OT. Concluiu-se que a RAI está associada a uma leve chance de piora ocular, geralmente transitória, e que o uso de glicocorticoides concomitante à RAI previne piora ocular ou manifestação *de novo* da OT.⁸²

Posteriormente, numa revisão sistemática, verificou-se que a RAI estava associada a aumento do risco de OT em relação às drogas antitireoidianas (RR=4,23), sem diferença em relação à tireoidectomia. Em dois estudos randomizados, níveis de T3 sérico pré-tratamento superiores a 5 nmol/L foram associados a maior risco de desenvolvimento ou piora da OT. Dentre os estudos incluídos, OT pós-RAI ocorreu em períodos variados de tempo (1-24 meses), com pico de ocorrência no sexto mês pós-RAI.⁸³

Quando essas evidências são analisadas levando-se em consideração o conceito de que ocorre uma ativação imune após a RAI (elevação dos níveis de TRAb), não observada após o

uso de antitireoidianos ou realização de tireoidectomia, pode-se criar uma explicação biológica plausível para a piora ocular após o uso do iodo: o aumento do TRAb levaria a hiperativação dos TSHR em fibroblastos, perpetuando a cascata inflamatória retro-ocular.⁷⁷ Outros mecanismos, porém, parecem estar envolvidos. Já é conhecido o efeito deletério do hipotireoidismo não tratado na OT.⁶⁷ Com o intuito de estudar a relação entre o hipotireoidismo pós-RAI e OT, pesquisadores avaliaram retrospectivamente pacientes submetidos a RAI, comparando dois grupos: (A) pacientes submetidos à RAI (n=248), tratados com levotiroxina apenas quando TSH/T4L séricos indicassem hipotireoidismo; (B) pacientes submetidos à RAI (n=244), tratados sistematicamente com levotiroxina 50 mcg, após 14 dias da RAI. Durante o período de 18 meses de observação, 45 (18%) pacientes do grupo A e 27 (11%) pacientes do grupo B desenvolveram ou pioraram sintomas oculares (p=0.03). Em relação à gravidade da OT, 26 pacientes no grupo A e 11 no grupo B demandaram tratamento específico para OT, sugerindo que a administração precoce de levotiroxina após RAI parece reduzir a ocorrência de OT e, possivelmente, sua gravidade.⁸⁴

Similarmente, a relação da OT e hipotireoidismo pós-RAI foi avaliada em um estudo observacional prospectivo, que incluiu pacientes com OT inativa (n=72), com graus variáveis de gravidade. Todos os pacientes foram submetidos à RAI e à levotiroxina (doses variadas, a depender da função tireoidiana pré-tratamento) foi introduzida 14 dias após o procedimento em todos os pacientes. Durante 12 meses de seguimento, três pacientes melhoraram parâmetros oculares transitariamente e nenhum paciente apresentou piora da OT, sugerindo que o tratamento precoce do hipotireoidismo pós-RAI poderia evitar deterioração da OT já estabelecida.⁸⁵

Conforme já mencionado, o tabagismo contribui negativamente em vários aspectos da OT.⁹ Em um estudo prospectivo, 313 pacientes com DG, com ou sem OT inativa, foram randomizados para receber RAI ou antitireoidianos. Levotiroxina 50 mcg foi administrada em todos os pacientes, 14 dias após a intervenção terapêutica. Piora da OT já estabelecida ocorreu igualmente entre os grupos. Manifestação *de novo* da OT, porém, foi mais frequente no grupo da RAI (38% dos pacientes do grupo RAI *vs.* 18% grupo antitireoidianos). Apesar de o tabagismo ter-se relacionado à piora ocular, de maneira independente do tratamento escolhido, tabagistas que receberam RAI foram o grupo de maior risco para OT.⁸⁶

Após publicação do já mencionado estudo randomizado por Bartalena *et al.*,⁸² outras evidências surgiram sobre o uso profilático de glicocorticoides, concomitante à RAI, para

prevenção de piora ou manifestação *de novo* OT. Após mais de uma década, foi publicada uma metanálise e revisão sistemática que incluiu estudos que avaliavam regimes profiláticos de glicocorticoides. Dentre pacientes com OT moderada-grave já estabelecida, o uso de prednisona (0,4-0,5 mg/kg, com desmame dentro de três meses após a RAI) foi eficaz em prevenir piora ocular. Dois estudos retrospectivos avaliaram a eficácia de doses mais baixas de prednisona (0,2-0,3 mg/kg por 4-6 semanas) em pacientes com ou sem OT estabelecida. Utilizando comparações indiretas, o esquema de menor dose foi mais eficaz que placebo ou nenhuma intervenção na prevenção de OT.⁸⁷

Outros esquemas de profilaxia com glicocorticoides vem sendo estudados. Analisou-se retrospectivamente a eficácia de dois esquemas profiláticos diferentes, na prevenção de OT, em pacientes com DG com ou sem OT estabelecida (n=113), assim divididos: (A) sem profilaxia (n=83), (B) prednisona ou metilprednisolona endovenosa (EV)(n=30). Pacientes do grupo A não tinham OT estabelecida nem fatores risco para sua manifestação *de novo*. Pacientes do grupo B tinham fatores de risco e/ou OT estabelecida, sendo que 5 pacientes estavam em OT ativa. Ativação da OT ocorreu em 6 pacientes do grupo A (7,2%) e em 10 pacientes do grupo B (33,3%), com diferença significativa entre os grupos (p=0,001). Interessantemente, todos os pacientes que pioraram no grupo B receberam profilaxia com prednisona (47%), não ocorrendo piora ocular em pacientes que receberam metilprednisolona. Ativação da OT ocorreu mais em homens (p=0,02), em idades mais avançadas (p=0,04) e em pacientes com diagnóstico de DG mais recente (< 5 anos de duração). Os autores concluíram que a corticoterapia oral foi inferior ao esquema com metilprednisolona na prevenção da OT.⁸⁸

Levando em consideração o possível papel da metilprednisonola na profilaxia da OT e que pacientes com diagnóstico recente de DG apresentam maior risco de piorar/manifestar OT quando submetidos à RAI, o mesmo grupo de pesquisadores conduziu um estudo randomizado para melhor elucidar essa temática. Pacientes com DG, de duração inferior a cinco anos, com ou sem OT, foram randomizados para receber metilprednisolona endovenosa (EV) (n=49) ou prednisona oral (n=50), concomitantemente com a RAI. O grupo controle foi composto por 22 pacientes com DG com mais de cinco anos de evolução, que não receberam glicocorticoides em concomitância com a RAI. Durante os cinco anos de seguimento, nenhum paciente que recebeu profilaxia, tanto oral como EV, desenvolveu OT ativa. Dois pacientes do grupo de profilaxia, que já tinham previamente OT inativa, desenvolveram neuropatia óptica

(NO) após mais de 12 meses da RAI. Os autores concluíram que ambos os esquemas de profilaxia foram eficazes na prevenção da OT ativa e que, em paciente com DG de mais de cinco anos duração, sem outros fatores de risco adicionais para OT, a profilaxia com glicocorticoides poderia ser dispensada.⁸⁹

Em resumo, o potencial papel da RAI em desencadear ou deteriorar a OT já é bem estabelecido. Fatores de risco associados a essas ações da RAI parecem ser: tabagismo, hipertireoidismo pré-RAI não controlado, DG de início recente, valores elevados de TRAb pré-RAI e OT já estabelecida. É também reconhecido o papel da profilaxia com glicocorticoides na prevenção/deterioração da OT com o esquema mais estudado e, por isso, considerado padrão, com prednisona 0,4-0,5 mg/kg no primeiro mês após RAI, com desmame nos dois meses subsequentes. Consideram-se atualmente como candidatos à profilaxia com glicocorticoides, os pacientes a serem submetidos à RAI que já têm OT inativa estabelecida ou sem OT com os demais fatores de risco supracitados. Tais considerações e recomendações constam no penúltimo consenso europeu EUGOGO 2016.⁹⁰ Em 2021, foi publicada uma atualização deste consenso que reconhece o papel da profilaxia com metilprednisolona EV na prevenção da OT.¹⁴

2.3 Curso clínico e diagnóstico

Como já descrito há décadas, a história natural da OT parece apresentar uma fase inicial dinâmica de piora progressiva dos sinais e sintomas inflamatórios, atingindo um ponto máximo de gravidade, seguido de uma fase de melhora espontânea dos sinais inflamatórios. Segue-se, então, uma fase crônica fibrótica, atingindo-se um *plateau* estacionário, que pode ou não voltar para o estado basal de normalidade pré-sintomas. Esse curso é descrito graficamente pela curva de Rundle.⁹¹ A fase inicial ativa apresenta uma média de duração variável, geralmente perdurando por 18 a 24 meses. Apesar de raros, casos de ativação tardia da OT podem surgir.⁹

A retração palpebral parece ser o sinal cínico mais frequente da OT, sendo comum aos estados de tireotoxicose de etiologias diferentes, e é justificado pela hiperatividade do sistema simpático, com conseqüente ativação da musculatura não-estriada da pálpebra. Enquanto na tireotoxicose de outras etiologias esse sinal é transitório, na OT a retração palpebral é crônica e acompanhada de outros sinais inerentes da OT, tais como edema e

hiperemia palpebrais e conjuntivais e edema de carúncula.¹ A proptose, outro sinal clássico da OT, tende a ser simétrica e bilateral, e deve ser avaliada de maneira objetiva, empregando-se um exoftalmômetro.

Menos comumente, a OT pode apresentar-se de forma unilateral ou assimétrica, em até 14% e 34% dos casos, respectivamente. Fatores associados à assimetria parecem ser: sexo masculino, idades mais avançadas, estados de hipotireoidismo e formas mais graves de OT.⁹²

Em relação aos sintomas relatados, os pacientes podem apresentar sensação de areia nos olhos, dor retrobulbar em repouso ou à movimentação ocular, lacrimejamento, fotofobia, diplopia intermitente ou contínua. Sintomas mais graves, como borramento visual, escotomas visuais, perda da distinção de cores e perda visual aguda refletem a NO, secundária à compressão do nervo óptico. A NO parece ocorrer mais frequentemente em idades mais avançadas, em homens e em pacientes com diabetes *mellitus*.⁹³ A ulceração de córnea é também uma manifestação temida da OT, mais rara que a NO, ocorrendo em menos de 2% dos pacientes.⁹⁴

O diagnóstico da OT é clínico, observando a presença de retração palpebral, graus diversos de proptose, sinais de miopatia restritiva e possíveis sinais de acometimento do nervo óptico. Somado aos sinais e sintomas, o diagnóstico se estabelece pela presença da disfunção tireoidiana e/ou positividade de TRAb.⁹³

Exames complementares de imagem são necessários em caso de dúvida diagnóstica (por ex.: doença ocular, paciente eutireoidiano, anticorpos negativos), OT unilateral, e suspeita de comprometimento do nervo óptico.¹ TC e ressonância magnética (RM) são os exames mais utilizados. Tais métodos possibilitam a caracterização e mensuração dos ventres musculares, mensuração do grau de proptose e comprometimento do nervo óptico. Na OT, ocorre aumento de volume dos músculos retro-orbitários, poupando suas inserções tendíneas; já em doenças linfoproliferativas e em pseudotumores de órbitas, que são diagnósticos diferenciais da OT, tanto os músculos como suas inserções são acometidas. Classicamente, o músculo reto inferior é o mais comumente envolvido, seguido pelo reto medial e reto superior.^{1,95} A RM se destaca em relação à TC por não utilizar contraste iodado, o que poderia precipitar ou piorar estados de tireotoxicose nos pacientes com OT. Além disso, a RM é útil na avaliação da atividade da doença, pois permite prever o grau de atividade inflamatória e o grau de fibrose retro-orbitária (T1 e T2), a partir de diferenças de sinal nas

sequências ponderadas em T2. Já foi demonstrado que a avaliação dos músculos retro-orbitários pela RM foi capaz de prever responsividade à pulsoterapia e prever diplopia refratária a esta terapêutica.^{96,97}

A OT é a principal causa de acometimento inflamatório das órbitas. Porém, é relevante ressaltar que múltiplas doenças simulam a OT e devem ser consideradas no seu diagnóstico diferencial. A grande maioria dessas doenças têm comportamento benigno e são de etiologia autoimune, mas casos de infiltração e inflamação graves da órbita podem ocorrer. Dentre essas doenças destacam-se: pseudotumor de órbitas, sarcoidose, síndrome de Sjogren, vasculites, doença de IgG-4, celulite infecciosa, e linfoma.⁹⁸

2.6 Classificação

O paciente portador de OT deve ser classificado em relação à gravidade e atividade da doença, possibilitando melhor caracterização da doença e previsão de resposta terapêutica. A primeira escala de classificação, NOSPECS, foi criada na década de 60 do século XX, sendo posteriormente modificada. Atualmente é pouco utilizada, uma vez que utiliza apenas parâmetros de gravidade, não distinguindo OT inflamatória progressiva da OT fibrótica estável.⁹³

Outra escala de classificação, VISA, criada em 2006, acessa parâmetros tanto de atividade quanto de gravidade. Essa escala permite a previsão de resposta terapêutica e a necessidade de rápida intervenção, quando a soma dos itens pontuados no quesito “inflamação” for maior ou igual a 5/10. Mais utilizada pelos países norte-americanos, foi adotada pela International Thyroid Eye Disease Society (ITED).⁹⁹

Já a classificação adotada pelo EUGOGO tem sido amplamente utilizada em ensaios clínicos, com validação prévia. Utiliza tanto parâmetros de atividade da doença como gravidade e auxilia na tomada de decisão terapêutica. Para acessar a atividade da doença, utiliza-se a escala CAS, que possui alto valor preditivo para resposta terapêutica aos imunossupressores. É constituída por sete itens, cada um valendo 1 ponto quando presente. O paciente que pontua 3 ou mais, é classificado como portador de OT ativa. Essa escala prevê, ainda, três itens adicionais, a serem utilizados em avaliações subsequentes (aumento de proptose, redução da mobilidade ocular, redução da acuidade visual) (Tabela 1). Em relação à gravidade, classifica-se o paciente entre OT leve, OT moderada-grave e estados ameaçadores

da visão, levando-se em conta o grau de retração palpebral, acometimento inflamatório, grau de proptose, presença de diplopia, presença de NO e exposição da córnea (Tabela 2).¹⁴

TABELA 1: Classificação CAS pelo EUGOGO

- 1- Dor retrobulbar espontânea
- 2- Dor à movimentação ocular
- 3- Hiperemia palpebral
- 4- Hiperemia de conjuntiva
- 5- Edema de carúncula
- 6- Edema de pálpebras
- 7- Edema de conjuntiva (quemose)

- OT inativa: CAS < 3
 - OT ativa: CAS ≥ 3
-

Após seguimento 1-3 meses:

- 8- Aumento de proptose > 2 mm
 - 9- Redução da mobilidade ocular em qualquer direção > 8°
 - 10- Redução da acuidade visual em 1 linha (tabela de Snellen)
-

Fonte: Adaptada de Barrio-Barrio J., *et al*, 2015⁹⁹

TABELA 2: Classificação de gravidade pelo EUGOGO

- 1- OT leve- 1 ou mais dos seguintes itens:
Retração palpebral < 2 mm, sinais inflamatórios leves, proptose < 3 mm acima do valor de referência para gênero e etnia, ausência de diplopia ou diplopia intermitente, exposição da córnea responsiva a lubrificantes.
 - 2- Moderada-grave- 2 ou mais dos seguintes itens:
Retração palpebral ≥ 2 mm, sinais inflamatórios moderados a graves, proptose ≥ 3 mm acima do valor de referência para gênero e etnia, diplopia contínua ou frequente.
 - 3- Ameaçadora da visão
Sinais de neuropatia óptica e/ou úlcera de córnea
-

Fonte: Adaptada de Bartalena, *et al.*, 2016⁹⁰

2.7 Tratamento

Para todos os graus de gravidade da OT, o controle dos fatores de risco modificáveis é essencial. Deve-se restaurar o eutireodismo e promover a cessação e/ou prevenção do tabagismo. Conforme já mencionado, a última diretriz europeia de OT também inclui o tratamento da hipercolesterolemia com estatinas no manejo dos fatores de risco da OT.¹⁴

2.7.1 Terapia local

Em pacientes com OT, medidas locais são indicadas primariamente para alívio dos sintomas. Para portadores de OT leve inativa, que tendem a apresentar melhora espontânea na grande maioria dos casos, essas são as únicas medidas requeridas. Já para pacientes com maiores graus de gravidade e/ou OT ativa, as medidas locais são adjuvantes no tratamento.¹⁴

O uso de colírio lubrificante ou lágrima artificial alivia sintomas de xerofthalmia e sensação de corpo estranho ocular. Para pacientes com lagofalmo, o uso de gel ocular noturno previne sintomas diurnos da exposição ocular noturna. Para pacientes com diplopia, o uso de óculos com prisma deve ser considerado. Em pacientes com retração palpebral, em que a cirurgia de pálpebras precisa ser postergada (OT ativa) ou com risco cirúrgico proibitivo, pode-se considerar o uso de toxina botulínica do tipo A, que deve ser aplicada na pálpebra superior. Trata-se de uma terapia temporária, com durabilidade de 1-6 meses.^{100,101}

2.7.2 Selênio

Em casos de OT leve, um estudo multicêntrico europeu, randomizado e duplo-cego, verificou a superioridade do uso do selênio oral (selenito de sódio 100 mcg- duas vezes ao dia) quando comparado com placebo e pentoxifilna, em relação à melhora dos sintomas oculares e à qualidade de vida.¹⁰² Nenhum efeito adverso significativo foi relatado com o uso do selênio nesse estudo. No entanto, é necessário considerar que esse estudo foi conduzido em países europeus com baixo consumo de selênio, não sendo possível extrapolar os dados para populações suficientes desse mineral. Não há evidência, até o momento, dos benefícios do selênio em pacientes com OT moderada-grave ativa. Além disso, é reconhecido que o selênio pode estar associado a efeitos colaterais quando suplementado em excesso, sendo a alopecia e a dermatite as reações mais comuns. Um possível aumento do risco de diabetes *mellitus* tipo 2 também já foi descrito como associado à suplementação de selênio, mas esse dado ainda

carece de melhor descrição ¹⁰³ A resposta terapêutica do selênio com OT ainda não foi estudada na população brasileira.

2.7.3 Orbitopatia moderada-grave ativa

Pacientes que desenvolvem a forma ativa da OT apresentam inicialmente um curso de piora do quadro inflamatório, seguido de uma fase de lenta melhora dos sintomas. O objetivo do tratamento específico da OT moderada-grave ativa é encurtar esta fase ativa doença no intuito de reduzir sequelas futuras. Quando abordada precocemente, dentro do primeiro ano de doença ativa, a resposta terapêutica é consideravelmente superior.¹⁴

2.7.3.1 Glicocorticoides

Desde a década de 50 do século XX os glicocorticoides são a terapia de escolha para pacientes com OT forma moderada a grave em atividade, bem como para estados ameaçadores de visão. Possuem ação tanto anti-inflamatória como imunossupressora, uma vez que reduzem recrutamento de monócitos e macrófagos, inibem a liberação de citocinas inflamatórias, inibem síntese e liberação de glicosaminoglicanos por fibroblastos retro-oculares ativados e interferem na função das células T e B. Quando prescrita precocemente, a corticoterapia melhora sinais e sintomas inflamatórios oculares e a qualidade de vida do paciente, porém ainda sem evidência demonstrada na melhora da proptose ocular.¹⁰⁴

Há mais de três décadas, o manejo da OT foi modificado após dados de estudos randomizados apontarem para maior efetividade dos glicocorticoides EV, em altas doses, quando comparados ao esquema terapêutico oral. Um estudo randomizado, duplo-cego que comparou a dose acumulada de 4,5 g de metilprednisolona EV (500 mg por 6 semanas, seguindo de 250 mg de metilprednisolona por 6 semanas) com a prednisona oral, obteve melhor resposta (77% x 51%) e menos efeitos colaterais.¹⁰⁵ Em outro estudo, pacientes foram randomizados para doses comparativas de metilprednisolona EV de 7,5 g, 5 g e 2,3 g. Demonstrou-se superioridade em redução do CAS para todas as doses, sendo a maior dose superior em relação à melhora global da orbitopatia (52% x 35% x 28%, respectivamente), após 12 semanas. A maior dose, porém, foi relacionada à maior ocorrência de efeitos colaterais, incluindo descontrole glicêmico, manifestações psiquiátricas e infecções, concluindo-se que a dose intermediária teria um bom perfil de segurança e efetividade. Por

isso, atualmente a dose intermediária (dose acumulada de 4,5 a 5 g de metilprednisolona EV), tem sido o esquema padrão mais recomendado.¹⁰⁶

Dessa maneira, a fim de se reduzir a ocorrência de efeitos colaterais, recomenda-se não ultrapassar a dose acumulada de 8 g de metilprednisolona EV ou a dose diária de 0,75 g em cada curso de tratamento e evitar administração em dias consecutivos. Hepatite viral não tratada, disfunção hepática crônica grave, diabetes não controlado, hipertensão arterial não controlada, morbidade cardiovascular elevada e distúrbios psiquiátricos não controlados são contraindicações clássicas à pulsterapia com metilprednisolona EV.¹⁴

2.7.3.2. Micofenolato

O micofenolato de mofetil (MMF) inibe a enzima inosina monofosfato desidrogenase, enzima responsável, nas células B e T, pela síntese do nucleotídeo guanosina. Possui efeito, portanto, antiproliferativo sobre essas linhagens celulares, além de reduzir produção de anticorpos pelas células B e induzir apoptose nos linfócitos T.¹⁰⁷

Em 2016, foi publicado um estudo que demonstrou superioridade do MMF (1 g/dia por 24 semanas) em relação ao glicocorticoide (metilprednisolona EV 0.5 g três dias consecutivos em duas semanas seguido de desmame de prednisona por 22 semanas) na melhora ocular de pacientes com OT ativa moderada a grave.¹⁰⁸ Em contraste, em um estudo recente, não foi demonstrada superioridade do uso combinado de MMF (720 mg/dia por 24 meses) e metilprednisolona EV (4.5 g em 12 semanas) quando comparado ao uso isolado de metilprednisolona EV, na décima segunda semana. Uma análise *post hoc*, entretanto, evidenciou maior taxa de resposta na vigésima quarta semana (71% x 53%).¹⁰⁹ Considerando a sua eficácia e perfil de segurança, modificaram-se as recomendações em relação ao uso do MMF na última atualização do consenso europeu EUGOGO de 2021. Recomenda-se atualmente considerar sua associação (720 mg em 24 semanas) com metilprednisolona EV (4,5 g em 12 semanas), em pacientes com OT ativa moderada-grave, como esquema de primeira linha nesses pacientes.¹⁴

2.7.3.3 Outras terapêuticas

Outras terapêuticas consideradas de segunda-linha, ainda carecem de evidência robusta.

O Rituximab é um anticorpo monoclonal anti-CD20. Em um estudo, não se demonstrou superioridade do Rituximab em relação ao placebo no controle do CAS e da gravidade da OT após 24 e 52 semanas (dose total Rituximab 2 g).¹¹⁰ Em contraste, outro estudo mostrou superioridade (doses de Rituximab 0.5 g e 2 g) no controle de OT moderada a grave versus uso de metilprednisolona EV (dose acumulada 7.5 g).¹¹¹ Verificou-se que os pacientes do primeiro estudo eram representados por maior parcela do sexo masculino, apresentavam doença orbitária de maior tempo de duração e tinham níveis mais altos de TRAb, podendo justificar o discrepante resultado entre esses estudos.¹⁰⁰ Rituximab, portanto, pode ser uma opção terapêutica de segunda-linha, em pacientes refratários, especialmente naqueles com menor tempo de OT e sem risco iminente de NO.¹⁴

Ciclosporina (doses iniciais de 5-7.5 mg/kg), um inibidor da via da calcineurina, com potencial de redução de produção de IL2 pelos linfócitos, combinada com corticoterapia oral (doses variando de 50-100 mg de prednisona por dia), mostrou ser superior ao uso de ambos fármacos isoladamente, em pacientes com OT moderada a grave.^{112,113} A ação da azatioprina, um análogo sintético da purina (antimetabólito), foi avaliada em conjunto com o uso de corticoterapia oral *versus* corticoterapia sozinha e *versus* corticoterapia associada à radioterapia. Em uma análise *pos hoc*, concluiu-se que a azatioprina reduziu recorrência de OT ativa após suspensão do glicocortioide.¹¹⁴ Ambos os fármacos podem ser considerados como terapêuticas de segunda linha na OT ativa modera-grave, associados à corticoterapia oral.¹⁴

Novas terapias visando alvos direcionados à etiopatogenia da OT vêm sendo desenvolvidas. O Tocilizumab (TCZ), um anticorpo monoclonal recombinante antirreceptor de IL6, uma citocina superexpressa em tecidos da órbita de pacientes com OT, demonstrou melhora do escore CAS em um estudo observacional em pacientes (n=48) com OT moderada a grave, resistentes ao tratamento padrão com metilprednisolona EV (TCZ dose 8mg/kg a cada 4 semanas).¹¹⁵ O primeiro estudo randomizado do TCZ, publicado em 2018, comparou TCZ (8 mg/kg, 4 doses mensais, n= 16) e placebo (n=16) em pacientes com OT refratários a terapia padrão com glicocorticoides. O desfecho primário (redução de dois pontos no escore CAS na décima sexta semana), foi significativamente mais frequente no grupo de intervenção (93% x 58,8%), sendo também relatada melhora de proptose no grupo do TCZ. Nesse estudo, dois pacientes do grupo do TCZ apresentaram efeitos colaterais mais graves (hepatite e

pielonefrite).¹¹⁶ Seu uso pode ser considerado naqueles pacientes resistentes à primeira linha terapêutica.¹⁴

Teprotomumab é um anticorpo monoclonal humano, que se liga à porção extracelular do IGF-1R, bloqueando sua ativação e promovendo sua internalização e subsequente degradação. Em um estudo publicado em 2021, compilou-se em uma revisão sistemática os resultados de dois ensaios clínicos randomizados que compararam a eficácia do teprotomumab (8 infusões, n= 84) versus placebo (n=87). Demonstrou-se superioridade do teprotomumab na melhora da proptose (77% x 15%) e em outros parâmetros oculares.¹¹⁷ Apesar de ser a primeira droga aprovada pela *Food and Drug Administration* (FDA) para tratamento da OT, ainda são necessários estudos de maior seguimento para que se estabeleça o perfil seu perfil segurança e doses ideais. A eficácia do teprotomumab *versus* corticoterapia ainda não foi avaliada. Trata-se, possivelmente, de uma terapêutica promissora, mas ainda considerada de segunda linha na terapêutica da OT.

Outra opção de segunda linha para o tratamento da OT moderada a grave ativa é a radioterapia, geralmente associada à dose baixa de prednisona (20 mg/dia). Fundamenta-se no efeito anti-inflamatório sobre os linfócitos que infiltram a musculatura da órbita e, principalmente, na ação sobre os fibroblastos retro-orbitários, reduzindo a síntese de glicosaminoglicanos. Sabe-se que a combinação radioterapia e corticoterapia oral é mais efetiva no controle dos sintomas oculares, especialmente da dismotilidade ocular e da diplopia, do que o uso de cada tratamento isoladamente. Ainda não há estudos prospectivos randomizados que comprovam a superioridade da radioterapia associada aos glicocorticoides EV versus estes últimos usados isoladamente. Geralmente, usa-se a dose acumulada de 10-20 Gray (Gy), em esquemas semanais (2-20 semanas). A radioterapia é contraindicada em pacientes com retinopatia diabética e hipertensão arterial sistêmica grave e deve ser evitada em pacientes com idade inferior a 35 anos, devido ao remoto risco de aumento da carcinogênese.^{14,118}

2.7.4 Estados ameaçadores da visão e formas inativas

Os estados ameaçadores da visão, decorrentes da NO, úlcera de córnea e/ou subluxação do globo ocular (estiramento do nervo óptico), constituem situações emergências e devem ser abordados prontamente. Nos casos de NO, terapia com metilprednisolona EV deve ser tentada inicialmente, uma vez que a cirurgia de descompressão de órbitas não se

mostrou superior aos glicocorticoides como primeira abordagem.¹¹⁹ Não há um esquema padrão, mas um dos mais utilizados é a pulsoterapia com metilprednisolona EV (500-1000 mg por dia, por três dias consecutivos ou em dias alternados). Se não houver resposta em até duas semanas deve-se recorrer à descompressão cirúrgica. Pacientes com subluxação do globo ocular devem ser tratados com descompressão cirúrgica como primeira abordagem. Os pacientes com úlcera de córnea refratários à terapêutica local também devem ser tratados cirurgicamente.¹⁴

As formas inativas da OT podem resultar em sequelas desfigurantes e funcionais. Garantida a estabilidade da função tireoidiana, os pacientes devem ser submetidos à correção cirúrgica (descompressão de órbitas, correção de estrabismo, plástica ocular).¹⁴

3. CONTEXTO DO ESTUDO

A OT é uma doença de etiopatogenia ainda não completamente esclarecida, com potencial de evolução para perda visual nas suas formas moderadas a graves, quando não adequadamente tratada em momento oportuno. As lacunas do seu entendimento fisiopatológico refletem na sua terapêutica de primeira linha atual: não direcionada a alvos doença-específicos. Como é comum às outras doenças autoimunes, acredita-se que exista uma interação entre fatores genéticos/epigenéticos e ambientais para sua manifestação *de novo*. Em relação à OT, esses fatores são incertos e dados da subpopulação brasileira portadora de OT ainda são escassos.

Neste contexto de diversas lacunas é que se insere este trabalho, cujo objetivo principal foi a caracterização clínica de um subgrupo de portadores da OT, que manifestaram a sua forma rara moderada-grave ativa. Objetivou-se, ainda, a descrição da resposta terapêutica ao glicocorticoide endovenoso, bem como a avaliação de possíveis fatores preditores para esta resposta. Significativa parcela dos pacientes estudados são provenientes do Ambulatório de Tireoide do Serviço de Endocrinologia da UFMG, um centro terciário de referência, com notável experiência no manejo da doença tireoidiana autoimune. Este centro se destaca pela abordagem multidisciplinar da OT (endocrinologia, oftalmologia, enfermagem, radiologia), e pelas décadas de contribuição ao entendimento das doenças da

tireoide, o que possibilitou a rica caracterização e seguimento, de logo prazo, deste subgrupo raro de portadores da OT.

2-OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO PRIMÁRIO

Caracterização epidemiológica, clínica e laboratorial de pacientes com oftalmopatia tireoideana moderada a grave ativa, que foram submetidos à pulsoterapia com metilprednisolona.

2.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

- Avaliação da resposta terapêutica à pulsoterapia com metilprednisolona;
- Avaliação dos efeitos colaterais da pulsoterapia;
- Avaliação de fatores possivelmente associados à resposta terapêutica da pulsoterapia;
- Avaliação da resposta terapêutica de pacientes com OT moderada a grave e hipertireoidismo submetidos a radioiodoterapia durante a pulsoterapia com metilprednisolona.

3-METODOLOGIA

3.1 Tipo de estudo e coleta de dados:

Trata-se de um estudo observacional, de coorte retrospectivo, descritivo e analítico, realizado na Faculdade de Medicina e Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil. O projeto foi aprovado do Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais.

3.2 Pacientes

Foram incluídos pacientes com 18 anos ou mais, com o diagnóstico de OG de gravidade moderada-grave e forma ativa (CAS maior ou igual a 3), atendidos no serviço de Endocrinologia do Hospital das Clínicas e em clínica privada (WRCB, ARPF), no período de 2006 a 2021. Para classificação de gravidade e atividade da doença, foram utilizados os critérios do EUGOGO.¹⁴ Todos os pacientes incluídos foram tratados com pulsoterapia de metilprednisolona (dose mínima acumulada de 4,5 g).

3.2.1 Critérios de exclusão:

Excluíram-se da análise pacientes com diagnóstico incerto da manifestação ocular, aqueles que receberam dose de metilprednisolona inferior a 4.5 g e aqueles que perderam seguimento no serviço médico de referência durante a terapêutica. Pacientes com dados essenciais faltantes também foram excluídos da amostra.

3.3 Variáveis estudadas:

Foram coletados dados epidemiológicos de todos os pacientes (idade, sexo, histórico de tabagismo, presença de comorbidades). Os pacientes foram classificados como portadores de doença de Graves ou Hashimoto, seguindo critérios clássicos para o diagnóstico dessas doenças. Pacientes que nunca manifestaram disfunção tireoidiana, e que apresentavam sinais clínicos típicos de OG e anticorpo TRAb positivo foram classificados como portadores de DG.

Avaliou-se a apresentação temporal da OG em relação ao diagnóstico da disfunção tireoidiana: antes, concomitante ou após. Dados qualitativos (positividade ou negatividade) sobre a presença de anticorpos TRAb e anti-TPO e quantitativos/qualitativos sobre TSH e T4L foram coletados. A função tireoidiana (TSH e T4L) coletada no momento da atividade

ocular foi interpretada a partir de valores de referência dos laboratórios onde foram coletados os exames. A partir da interpretação desses hormônios, classificou-se os pacientes quanto a função tireoidiana no momento da atividade ocular: eutireoidismo, hipertireoidismo, hipotireoidismo. Avaliaram-se quais as modalidades terapêuticas foram realizadas para a doença tireoidiana de base, e, caso realização de radioiodoterapia, se essa foi realizada antes, concomitante ou após pulsoterapia. Caso realizada radioiodoterapia antes ou após pulsoterapia, avaliou-se realização ou não de corticoproteção.

Todos os pacientes incluídos foram classificados quanto ao CAS (escala de classificação de atividade ocular), sendo este no mínimo 3 para inclusão na amostra. Todos os pacientes foram submetidos à pulsoterapia com metilprednisonola venosa (esquema semanal: 500 mg uma vez por semana por 6 semanas, seguido de 250 mg uma vez por semana por 6 semanas), com dose mínima acumulada de 4,5 g. Para avaliação de resposta à intervenção estudada, analisou-se o CAS após termino de pulsoterapia.

Foram analisados e descritos os efeitos colaterais da pulsoterapia com 4,5 g de metilprednisolona. Em relação ao peso, analisou-se pré-tratamento e após seu término, e, caso ganho de peso, este foi estratificado entre inferior a 5%, entre 5-10% ou maior que 10% do peso corporal.

Analisou-se a ocorrência de procedimentos cirúrgicos de órbitas, bem como sua temporalidade em relação a pulsoterapia (se antes ou após), e se houve critério de urgência para sua indicação.

3.4 Classificação respondedores e não-respondedores:

Pacientes que melhoraram o CAS após tratamento e deixaram de apresentar orbitopatia ativa moderada-grave, ou seja, apresentaram $CAS < 3$ em primeira avaliação pós-intervenção, foram considerados respondedores. Foram considerados não respondedores os pacientes que mantiveram $CAS \geq 3$ ao final da pulsoterapia e aqueles que demandaram uso de metilprednisolona de urgência ou descompressão de órbita de urgência após término da pulsoterapia devido a neuropatia óptica ou presença de úlcera de córnea, independentemente do CAS final. Os grupos respondedores (R) e não-respondedores (NR) foram comparados quanto a diversas variáveis: sexo, histórico de tabagismo, positividade de autoanticorpos, histórico de tabagismo, temporalidade de realização de radioiodo e da pulsoterapia, valores

quantitativos e qualitativos de TSH e T4L, presença de comorbidades, CAS inicial e necessidade de cirurgia de descompressão de órbitas.

Em relação aos pacientes não-respondedores, terapêuticas adjuvantes diversas foram instituídas a esses pacientes (doses adicionais de metilprednisolona, radioterapia de órbitas, uso de imunossuppressores e imunobiológicos), e essas foram descritas na análise dos resultados.

Avaliou-se, separadamente, a resposta terapêutica dos pacientes que realizaram radioiodoterapia durante a pulsoterapia em relação aos pacientes que realizaram antes ou após a pulsoterapia.

3.5 Análise estatística

A descrição dos dados obtidos foi realizada por meio de mediana e intervalo interquartilico (IIQ) para as variáveis quantitativas e por meio de frequência absoluta e relativa (%) para as variáveis categóricas. A comparação dos grupos (Respondedores x Não respondedores à pulsoterapia / RAI durante x após pulsoterapia) foi realizada pelo teste de Wilcoxon e teste exato de Fisher. Os dados foram digitados em planilha eletrônica (Excel) e a análise estatística foi realizada utilizando o *software* R. Foi utilizado um nível de 5% de significância.

4- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. El-Kassi S, Frauman AG, Wall JR. Thyroid-associated ophthalmopathy: a practical guide to classification, natural history and management. *Intern Med J.* 2004; 34:482–9.
2. Bahn RS. Graves' Ophthalmopathy. *N England J Med.* 2010; 362(8):726–38.
3. Garmendia Madariaga A, Santos Palacios S, Guillén-Grima F, Galofré JC. The incidence and prevalence of thyroid dysfunction in Europe: a meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014; 99:923–31.
4. Hollowell JG, Staehling NW, Flanders WD, et al. Serum TSH, T(4), and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *J Clin Endocrinol Metab.* 2002; 87:489–99.
5. Bensenor IM. Thyroid disorders in Brazil: the contribution of the Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil). *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* [online]. 2019, v. 52, n. 2 [Accessed 18 January 2022] , e8417. Available from: <<https://doi.org/10.1590/1414-431X20198417>>.
6. De Leo S, Lee SY, Braverman LE. Hyperthyroidism. *Lancet.* 2016 Aug 27;388(10047):906-918.
7. Lazarus JH. Epidemiology of Graves' orbitopathy (GO) and relationship with thyroid disease. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2012;26:273–279
8. Perros P, Crombie AL, Kendall-Taylor P. Natural history of thyroid associated ophthalmopathy. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1995; 42:45–50
9. Bartalena L, Piantanida E, Gallo D, Lai A, Tanda ML. Epidemiology, Natural History, Risk Factors, and Prevention of Graves' Orbitopathy. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2020 Nov 30;11:615993
10. Bartley GB. The epidemiologic characteristics and clinical course of ophthalmopathy associated with autoimmune thyroid disease in Olmsted County, Minnesota. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 1994; 92:477–588.
11. Laurberg P, Berman DC, Bülow Pedersen I, Andersen S, Carlé A. Incidence and clinical presentation of moderate to severe graves' orbitopathy in a Danish population before and after iodine fortification of salt. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012 Jul;97(7):2325-32.

12. Perros P, Hegedus L, Bartalena L, Marcocci C, Kahaly GJ, Baldeschi L, et al. Graves' orbitopathy as a rare disease in Europe: a European Group on Graves' Orbitopathy (EUGOGO) position statement. *Orphanet J Rare Dis.* 2017;12:72.
13. Chin YH, Ng CH, Lee MH, Koh JWH, Kiew J, Yang SP, Sundar G, Khoo CM. Prevalence of thyroid eye disease in Graves' disease: A meta-analysis and systematic review. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2020 Oct;93(4):363-374.
14. Bartalena L, Kahaly GJ, Baldeschi L, Dayan CM, Eckstein A, Marcocci C, Marinò M, Vaidya B, Wiersinga WM; EUGOGO †. The 2021 European Group on Graves' orbitopathy (EUGOGO) clinical practice guidelines for the medical management of Graves' orbitopathy. *Eur J Endocrinol.* 2021 Aug 27;185(4):G43-G67.
15. Tanda ML, Piantanida E, Liparulo L, et al. Prevalence and natural history of Graves' orbitopathy in a large series of patients with newly diagnosed Graves' hyperthyroidism seen at a single center. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98: 1443-9
16. Perros P, Zarkovic M, Azzolini C, et al. PREGO (presentation of Graves' orbitopathy) study: changes in referral patterns to European Group on Graves' Orbitopathy (EUGOGO) centres over the period from 2000 to 2012. *Br J Ophthalmol.* 2015; 99:1531–5.
17. Pinto W, Romaldini JH, Perini N, Santos RB, Villagelin D. The change in the clinical presentation of Graves' disease: a 30 years retrospective survey in an academic Brazilian tertiary center. *Arch Endocrinol Metab.* 2021 May 18;64(5):514-520.
18. Khong JJ, Finch S, De Silva C, *et al.* Risk Factors for Graves' Orbitopathy; the Australian Thyroid-Associated Orbitopathy Research (ATOR) Study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016 Jul;101(7):2711-20.
19. Hiromatsu Y, Eguchi H, Tani J, Kasaoka M, Teshima Y. Graves' ophthalmopathy: epidemiology and natural history. *Intern Med.* 2014;53(5):353-60.
20. Abraham-Nordling M, Bystrom K, Torring O, Lantz M, Berg G, Calissendorf J, et al. Incidence of hyperthyroidism in Sweden. *Eur J Endocrinol.* 2011; 165:899–905.
21. Perros P, Crombie AL, Matthews JN, Kendall-Taylor P. Age and gender influence the severity of thyroid-associated ophthalmopathy: a study of 101 patients attending a combined thyroid-eye clinic. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1993 38:367–72.
22. Dong YH, Fu DG. Autoimmune thyroid disease: mechanism, genetics and current knowledge. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2014;18(23):3611-8.
23. Płoski R, Szymański K, Bednarczuk T. The genetic basis of graves' disease. *Curr Genomics.* 2011;12(8):542-563.

24. El-Kassi S, Frauman AG, Wall JR. Thyroid-associated ophthalmopathy: a practical guide to classification, natural history and management. *Intern Med J* 2004; 34:482–9.
25. Yin X, Latif R, Bahn R, Tomer Y, Davies TF. Influence of the TSH receptor gene on susceptibility to Graves' disease and Graves' ophthalmopathy. *Thyroid*. 2008. 18:1201–1206.
26. Yin X, Latif R, Bahn R, Davies TF. Genetic profiling in Graves' disease: further evidence for lack of a distinct genetic contribution to Graves' ophthalmopathy. *Thyroid*. 2012;22(7):730-736.
27. Bufalo NE, Dos Santos RB, Marcello MA, Piai RP, Secolin R, Romaldini JH, Ward LS. TSHR intronic polymorphisms (rs179247 and rs12885526) and their role in the susceptibility of the Brazilian population to Graves' disease and Graves' ophthalmopathy. *J Endocrinol Invest*. 2015 May;38(5):555-61.
28. Esteghamati A, Khalilzadeh O, Mobarra Z, *et al*. Association of CTLA-4 gene polymorphism with Graves' disease and ophthalmopathy in Iranian patients. *Eur. J. Intern. Med.* 2009;20(4),424-428.
29. Vaidya B, Imrie H, Perros P, *et al*. Cytotoxic T lymphocyte antigen- 4 (CTLA-4) gene polymorphism confers susceptibility to thyroid associated orbitopathy. *Lancet*. 1999;354, 743-744
30. Villanueva R, Inzerillo AM, Tomer Y, *et al*. Limited genetic susceptibility to severe Graves' ophthalmopathy: no role for CTLA-4 but evidence for an environmental etiology. *Thyroid*. 2000 Sep;10(9):791-8.
31. Huber AK, Jacobson EM, Jazdzewski K, Concepcion ES, Tomer Y. Interleukin (IL)-23 receptor is a major susceptibility gene for Graves' ophthalmopathy: the IL-23/T-helper 17 axis extends to thyroid autoimmunity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008 Mar;93(3):1077-81.
32. Zhou F, Liang Z, Wang X, *et al*. The VDR gene confers a genetic predisposition to Graves' disease and Graves' ophthalmopathy in the Southwest Chinese Han population. *Gene*. 2021 Aug 15;793:145750.
33. Akaishi PMS, Cruz AAV, Silva FLM, *et al*. The Role of Major Histocompatibility Complex Alleles in the Susceptibility of Brazilian Patients to Develop the Myogenic Type of Graves' Orbitopathy. *Thyroid*. 2008; 18(4),443–447.
34. Wang Y, Ma XM, Wang X, *et al*. Emerging Insights Into the Role of Epigenetics and Gut Microbiome in the Pathogenesis of Graves' Ophthalmopathy. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022 Jan 5;12:788535.

35. Feil R, Fraga MF. Epigenetics and the Environment: Emerging Patterns and Implications. *Nat Rev Genet* (2012) 13(2):97–109.
36. Tang WY, Ho SM. Epigenetic reprogramming and imprinting in origins of disease. *Rev Endocr Metab Disord*. 2007 Jun;8(2):173-82.
37. Mazzone R, Zwergel C, Artico M, et al. The Emerging Role of Epigenetics in Human Autoimmune Disorders. *Clin Epigenet* (2019) 11(1):34.
38. Xin Z, Hua L, Shi TT, *et al*. A genome-wide DNA methylation analysis in peripheral blood from patients identifies risk loci associated with Graves' orbitopathy. *J Endocrinol Invest*. 2018 Jun;41(6):719-727.
39. Hu YF, Hua L, Tuo X, et al. “Preliminary evidence of the association between DNAm and orbital volumetry in GO.” *Endocr Connect*. 2020 Jun 1;9(7):617–26.
40. Wei H, Guan M, Qin Y, et al. Circulating Levels of miR- 146a and IL-17 Are Significantly Correlated With the Clinical Activity of Graves’ Ophthalmopathy. *Endocrine J*.2014; 61(11):1087–92.
41. Wang N, Chen FE, Long ZW. Mechanism of MicroRNA-146a/Notch2 Signaling Regulating IL-6 in Graves Ophthalmopathy. *Cell Physiol Biochem*.2017. 41(4):1285–97.
42. Woeller CF, Roztocil E, Hammond C, Feldon SE. TSHR Signaling Stimulates Proliferation Through PI3K/Akt and Induction of miR-146a and miR-155 in Thyroid Eye Disease Orbital Fibroblasts. *Invest Ophthalmol Vis Sci*.2019;60 (13):4336–45.
43. De Luca F, Shoenfeld Y. The microbiome in autoimmune diseases. *Clin Exp Immunol*. 2019;195(1):74-85.
44. Virili C, Stramazzo I, Centanni M. Gut microbiome and thyroid autoimmunity. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2021 May;35(3):101506.
45. Shi TT, Xin Z, Hua L, *et al*. Alterations in the intestinal microbiota of patients with severe and active Graves' orbitopathy: a cross-sectional study. *J Endocrinol Invest*. 2019 Aug;42(8):967-978.
46. Shi TT, Hua L, Wang H, Xin Z. The Potential Link between Gut Microbiota and Serum TRAb in Chinese Patients with Severe and Active Graves' Orbitopathy. *Int J Endocrinol*. 2019 Dec 18;2019:9736968.
47. Bahn RS. Clinical review 157: Pathophysiology of Graves' ophthalmopathy: the cycle of disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003 May;88(5):1939-46.

48. Kumar S, Coenen MJ, Scherer PE, Bahn RS. Evidence for enhanced adipogenesis in the orbits of patients with Graves' ophthalmopathy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004 Feb;89(2):930-5.
49. Forbes G, Gorman CA, Brennan MD, Gehring DG, Ilstrup DM, Earnest F 4th. Ophthalmopathy of Graves' disease: computerized volume measurements of the orbital fat and muscle. *AJNR Am J Neuroradiol.* 1986 Jul-Aug;7(4):651-6.
50. Hufnagel TJ, Hickey WF, Cobbs WH, Jakobiec FA, Iwamoto T, Eagle RC. Immunohistochemical and ultrastructural studies on the exenterated orbital tissues of a patient with Graves' disease. *Ophthalmology.* 1984 Nov;91(11):1411-9.
51. Eckstein AK, Plicht M, Lax H, *et al.* Thyrotropin receptor autoantibodies are independent risk factors for Graves' ophthalmopathy and help to predict severity and outcome of the disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006 Sep;91(9):3464-70.
52. Wang Y, Smith TJ. Current concepts in the molecular pathogenesis of thyroid-associated ophthalmopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2014 Mar 20;55(3):1735-48.
53. Rapoport B, Chazenbalk GD, Jaume JC, McLachlan SM. The thyrotropin (TSH) receptor: interaction with TSH and autoantibodies. *Endocr Rev.* 1998 Dec;19(6):673-716. Erratum in: *Endocr Rev* 1999 Feb;20(1):100.
54. Iyer S, Bahn R. Immunopathogenesis of Graves' ophthalmopathy: the role of the TSH receptor. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2012 Jun;26(3):281-9.
55. Holthoff HP, Goebel S, Li Z, *et al.* Prolonged TSH receptor A subunit immunization of female mice leads to a long-term model of Graves' disease, tachycardia, and cardiac hypertrophy. *Endocrinology.* 2015 Apr;156(4):1577-89.
56. Diana T, Holthoff HP, Fassbender J, *et al.* A Novel Long-Term Graves' Disease Animal Model Confirmed by Functional Thyrotropin Receptor Antibodies. *Eur Thyroid J.* 2020 Dec;9(Suppl 1):51-58.
57. Zhang M, Ding X, Wu LP, *et al.* A Promising Mouse Model of Graves' Orbitopathy Induced by Adenovirus Expressing Thyrotropin Receptor A Subunit. *Thyroid.* 2021 Apr;31(4):638-648.
58. Grubeck-Loebenstien B, Trieb K, Sztankay A, Holter W, Anderl H, Wick G. Retrobulbar T cells from patients with Graves' ophthalmopathy are CD8+ and specifically recognize autologous fibroblasts. *J Clin Invest.* 1994 Jun;93(6):2738-43.
59. Zhang L, Baker G, Janus D, Paddon CA, Fuhrer D, Ludgate M. Biological effects of thyrotropin receptor activation on human orbital preadipocytes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006 Dec;47(12):5197-203.

60. Tramontano D, Cushing GW, Moses AC, Ingbar SH. Insulin-like growth factor-I stimulates the growth of rat thyroid cells in culture and synergizes the stimulation of DNA synthesis induced by TSH and Graves'-IgG. *Endocrinology*. 1986 Aug;119(2):940-2.
61. Tsui S, Naik V, Hoa N, *et al*. Evidence for an association between thyroid-stimulating hormone and insulin-like growth factor 1 receptors: a tale of two antigens implicated in Graves' disease. *J Immunol*. 2008 Sep 15;181(6):4397-405.
62. Hegediüs L, Brix TH, Vestergaard P. Relationship between cigarette smoking and Graves' ophthalmopathy. *J Endocrinol Invest*. 2004 Mar;27(3):265-71.
63. Prummel MF, Wiersinga WM. Smoking and risk of Graves' disease. *JAMA*. 1993 Jan 27;269(4):479-82.
64. Eckstein A, Quadbeck B, Mueller G. Impact of smoking on the response to treatment of thyroid associated ophthalmopathy. *Br J Ophthalmol*. 2003 Jun;87(6):773-6.
65. Pfeilschifter J, Ziegler R. Smoking and endocrine ophthalmopathy: impact of smoking severity and current vs lifetime cigarette consumption. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1996 Oct;45(4):477-81.
66. Prummel MF, Wiersinga WM, Mourits MP, Koornneef L, Berghout A, van der Gaag R. Effect of abnormal thyroid function on the severity of Graves' ophthalmopathy. *Arch Intern Med*. 1990 May;150(5):1098-101.
67. Do TH, Kahana A. Thyroid Eye Disease: Pathogenic Risk Factors. *Int Ophthalmol Clin*. 2021 Apr 1;61(2):3-20.
68. Kahaly GJ. Management of Graves Thyroidal and Extrathyroidal Disease: An Update. *J Clin Endocrinol Metab*. 2020 Dec 1;105(12):3704–20.
69. Diana T, Ponto KA, Kahaly GJ. Thyrotropin receptor antibodies and Graves' orbitopathy. *J Endocrinol Invest*. 2021 Apr;44(4):703-712. Erratum in: *J Endocrinol Invest*. 2022 Jan;45(1):233.
70. Kahaly GJ, Wüster C, Olivo PD, Diana T. High Titers of Thyrotropin Receptor Antibodies Are Associated With Orbitopathy in Patients With Graves Disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2019 Jul 1;104(7):2561-2568.
71. Jang SY, Shin DY, Lee EJ, Lee SY, Yoon JS. Relevance of TSH-receptor antibody levels in predicting disease course in Graves' orbitopathy: comparison of the third-generation TBII assay and Mc4-TSI bioassay. *Eye (Lond)*. 2013 Aug;27(8):964-71. Erratum in: *Eye (Lond)*. 2013 Oct;27(10):1231.

72. Ponto KA, Kanitz M, Olivo PD, Pitz S, Pfeiffer N, Kahaly GJ. Clinical relevance of thyroid-stimulating immunoglobulins in graves' ophthalmopathy. *Ophthalmology*. 2011 Nov;118(11):2279-85.
73. Jain MK, Ridker PM. Anti-inflammatory effects of statins: clinical evidence and basic mechanisms. *Nat Rev Drug Discov*. 2005 Dec;4(12):977-87.
74. Stein JD, Childers D, Gupta S, *et al*. Risk factors for developing thyroid-associated ophthalmopathy among individuals with Graves disease. *JAMA Ophthalmol*. 2015 Mar;133(3):290-6.
75. Sabini E, Mazzi B, Profilo MA, *et al*. High Serum Cholesterol Is a Novel Risk Factor for Graves' Orbitopathy: Results of a Cross-Sectional Study. *Thyroid*. 2018 Mar;28(3):386-394.
76. Nilsson A, Tsoumani K, Planck T. Statins Decrease the Risk of Orbitopathy in Newly Diagnosed Patients with Graves Disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2021 Apr 23;106(5):1325-1332.
77. Ponto KA, Zang S, Kahaly GJ. The tale of radioiodine and Graves' orbitopathy. *Thyroid*. 2010 Jul;20(7):785-93.
78. Atkinson S, McGregor AM, Kendall-Taylor P, Peterson MM, Smith BR. Effect of radioiodine on stimulatory activity of Graves' immunoglobulins. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1982 Jun;16(6):537-43.
79. Laurberg P, Wallin G, Tallstedt L, Abraham-Nordling M, Lundell G, Tørring O. TSH-receptor autoimmunity in Graves' disease after therapy with anti-thyroid drugs, surgery, or radioiodine: a 5-year prospective randomized study. *Eur J Endocrinol*. 2008 Jan;158(1):69-75.
80. Andrade VA, Gross JL, Maia AL. Serum thyrotropin-receptor autoantibodies levels after I therapy in Graves' patients: effect of pretreatment with methimazole evaluated by a prospective, randomized study. *Eur J Endocrinol*. 2004 Oct;151(4):467-74.
81. Tallstedt L, Lundell G, Tørring O, *et al*. Occurrence of ophthalmopathy after treatment for Graves' hyperthyroidism. The Thyroid Study Group. *N Engl J Med*. 1992 Jun 25;326(26):1733-8.
82. Bartalena L, Marcocci C, Bogazzi F, *et al*. Relation between therapy for hyperthyroidism and the course of Graves' ophthalmopathy. *N Engl J Med*. 1998 Jan 8;338(2):73-8.

83. Acharya SH, Avenell A, Philip S, Burr J, Bevan JS, Abraham P. Radioiodine therapy (RAI) for Graves' disease (GD) and the effect on ophthalmopathy: a systematic review. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2008 Dec;69(6):943-50.
84. Tallstedt L, Lundell G, Blomgren H, Bring J. Does early administration of thyroxine reduce the development of Graves' ophthalmopathy after radioiodine treatment? *Eur J Endocrinol*. 1994 May;130(5):494-7.
85. Perros P, Kendall-Taylor P, Neoh C, Frewin S, Dickinson J. A prospective study of the effects of radioiodine therapy for hyperthyroidism in patients with minimally active graves' ophthalmopathy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005 Sep;90(9):5321-3.
86. Träisk F, Tallstedt L, Abraham-Nordling M, *et al*. Thyroid-associated ophthalmopathy after treatment for Graves' hyperthyroidism with antithyroid drugs or iodine-131. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009 Oct;94(10):3700-7.
87. Shiber S, Stiebel-Kalish H, Shimon I, Grossman A, Robenshtok E. Glucocorticoid regimens for prevention of Graves' ophthalmopathy progression following radioiodine treatment: systematic review and meta-analysis. *Thyroid*. 2014 Oct;24(10):1515-23.
88. Vannucchi G, Campi I, Covelli D. Graves' orbitopathy activation after radioactive iodine therapy with and without steroid prophylaxis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009 Sep;94(9):3381-6.
89. Vannucchi G, Covelli D, Campi I. Prevention of Orbitopathy by Oral or Intravenous Steroid Prophylaxis in Short Duration Graves' Disease Patients Undergoing Radioiodine Ablation: A Prospective Randomized Control Trial Study. *Thyroid*. 2019 Dec;29(12):1828-1833.
90. Bartalena L, Baldeschi L, Boborides L, *et al*. The 2016 European Thyroid Association/European Group on Graves' Orbitopathy guidelines for the management of Graves' orbitopathy. *Eur Thyroid J* 2016; 5(1):9-26.
91. Bartley GB. Rundle and His Curve. *Arch Ophthalmol*. 2011;129(3):356–358.
92. Panagiotou G, Perros P. Asymmetric Graves' Orbitopathy. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020 Dec 17;11:611845.
93. Wang Y, Tooley AA, Mehta VJ, Garrity JA, Harrison AR, Mettu P. Thyroid Orbitopathy. *Int Ophthalmol Clin*. 2018 Spring;58(2):137-179.
94. Tramunt B, Imbert P, Grunenwald S, Boutault F, Caron P. Sight-threatening Graves' orbitopathy: Twenty years' experience of a multidisciplinary thyroid-eye outpatient clinic. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2019 Jan;90(1):208-213.

95. Machado KFS, Garcia, MM. Oftalmopatia tireoidea revisitada. *Radiologia Brasileira* [online]. 2009, v. 42, n. 4 [cited 17 Junho 2022], pp. 261-266. Available from : <<https://doi.org/10.1590/S0100-39842009000400014>>.
96. Xu L, Li L, Xie C, Guan M, Xue Y. Thickness of Extraocular Muscle and Orbital Fat in MRI Predicts Response to Glucocorticoid Therapy in Graves' Ophthalmopathy. *Int J Endocrinol*. 2017;2017:3196059.
97. Matsuzawa K, Izawa S, Kato A, *et al*. Low signal intensities of MRI T1 mapping predict refractory diplopia in Graves' ophthalmopathy. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2020 Jun;92(6):536-544.
98. Marinò M, Ionni I, Lanzolla G, *et al*. Orbital diseases mimicking graves' orbitopathy: a long-standing challenge in differential diagnosis. *J Endocrinol Invest*. 2020 Apr;43(4):401-411.
99. Barrio-Barrio J, Sabater AL, Bonet-Farriol E, Velázquez-Villoria Á, Galofré JC. Graves' Ophthalmopathy: VISA versus EUGOGO Classification, Assessment, and Management. *J Ophthalmol*. 2015;2015:249125.
100. Genere N, Stan MN. Current and Emerging Treatment Strategies for Graves' Orbitopathy. *Drugs*. 2019 Feb;79(2):109-124.
101. Grisolia ABD, Couso RC, Matayoshi S, Douglas RS, Briceño CA. Non-surgical treatment for eyelid retraction in thyroid eye disease (TED). *Br J Ophthalmol*. 2017;102(2):158-163.
102. Marcocci C, Kahaly GJ, Krassas GE, *et al*. European Group on Graves Orbitopathy: Selenium and the course of mild Graves' orbitopathy. *N Engl J Med* 2011;364:1920-31.
103. Winther KH, Rayman MP, Bonnema SJ, Hegedüs L. Selenium in thyroid disorders - essential knowledge for clinicians. *Nat Rev Endocrinol*. 2020 Mar;16(3):165-176.
104. Zang S, Ponto KA, Kahaly GJ. Clinical review: Intravenous glucocorticoids for Graves' orbitopathy: efficacy and morbidity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011 Feb;96(2):320-32.
105. Kahaly GJ, Pitz S, Hommel G, Dittmar M. Randomized, single blind trial of intravenous versus oral steroid monotherapy in Graves' orbitopathy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005 Sep;90(9):5234-40.
106. Bartalena L, Krassas GE, Wiersinga W, *et al*. European Group on Graves' Orbitopathy. Efficacy and safety of three different cumulative doses of intravenous

- methylprednisolone for moderate to severe and active Graves' orbitopathy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012 Dec;97(12):4454-63.
107. Allison AC, Eugui EM. Mycophenolate mofetil and its mechanisms of action. *Immunopharmacology.* 2000 May;47(2-3):85-118.
108. Ye X, Bo X, Hu X, *et al.* Efficacy and safety of mycophenolate mofetil in patients with active moderate-to-severe Graves' orbitopathy. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2017 Feb;86(2):247-255.
109. Kahaly GJ, Riedl M, König J, *et al.* European Group on Graves' Orbitopathy (EUGOGO). Mycophenolate plus methylprednisolone versus methylprednisolone alone in active, moderate-to-severe Graves' orbitopathy (MINGO): a randomised, observer-masked, multicentre trial. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2018 Apr;6(4):287-298.
110. Stan MN, Garrity JA, Carranza Leon BG, Prabin T, Bradley EA, Bahn RS. Randomized controlled trial of rituximab in patients with Graves' orbitopathy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015 Feb;100(2):432-41.
111. Salvi M, Vannucchi G, Currò N, *et al.* Efficacy of B-cell targeted therapy with rituximab in patients with active moderate to severe Graves' orbitopathy: a randomized controlled study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015 Feb;100(2):422-31.
112. Kahaly G, Schrezenmeir J, Krause U, *et al.* Ciclosporin and prednisone v. prednisone in treatment of Graves' ophthalmopathy: a controlled, randomized and prospective study. *Eur J Clin Invest.* 1986 Oct;16(5):415-22.
113. Prummel MF, Mourits MP, Berghout A, *et al.* Prednisone and cyclosporine in the treatment of severe Graves' ophthalmopathy. *N Engl J Med.* 1989 Nov 16;321(20):1353-9.
114. Rajendram R, Taylor PN, Wilson VJ, *et al.* Combined immunosuppression and radiotherapy in thyroid eye disease (CIRTED): a multicentre, 2 × 2 factorial, double-blind, randomised controlled trial. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2018 Apr;6(4):299-309.
115. Sánchez-Bilbao L, Martínez-López D, Revenga M, *et al.* Anti-IL-6 Receptor Tocilizumab in Refractory Graves' Orbitopathy: National Multicenter Observational Study of 48 Patients. *J Clin Med.* 2020 Aug 31;9(9):2816.
116. Perez-Moreiras JV, Gomez-Reino JJ, Maneiro JR, *et al.* Efficacy of Tocilizumab in Patients With Moderate-to-Severe Corticosteroid-Resistant Graves Orbitopathy: A Randomized Clinical Trial. *Am J Ophthalmol.* 2018 Nov;195:181-190.

117. Kahaly GJ, Douglas RS, Holt RJ, Sile S, Smith TJ. Teprotumumab for patients with active thyroid eye disease: a pooled data analysis, subgroup analyses, and off-treatment follow-up results from two randomised, double-masked, placebo-controlled, multicentre trials. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2021 Jun;9(6):360-372.
118. Tanda ML, Bartalena L. Efficacy and safety of orbital radiotherapy for graves' orbitopathy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012 Nov;97(11):3857-65.
119. Wakelkamp IM, Baldeschi L, Saeed P, Mourits MP, Prummel MF, Wiersinga WM. Surgical or medical decompression as a first-line treatment of optic neuropathy in Graves' ophthalmopathy? A randomized controlled trial. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2005 Sep;63(3):323-8.

5- ARTIGO

Clinical profile and predictors of response to treatment of patients with thyroid associated ophthalmopathy

Nina Ramalho Alkmim¹, Kamilla Maria Araújo Brandão Rajão², Ana Rosa Pimentel Figueiredo³, Walter dos Reis Caixeta Braga², Letícia Ferreira Gontijo Silveira²

¹Centro de Tecnologia em Medicina Molecular (CTMM), Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Av Alfredo Balena 190, Belo Horizonte-MG, Brazil.

²Serviço de Endocrinologia, Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Av Alfredo Balena 190, Belo Horizonte-MG, Brazil.

³ Serviço de Oftalmologia, Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Av Alfredo Balena 190, Belo Horizonte-MG, Brazil.

Address for correspondence: Nina Ramalho Alkmim M.D. or Letícia Silveira, M.D. Serviço de Endocrinologia, Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais. Av. Professor Alfredo Balena, 190, Santa Efigênia, 30130 100- Belo Horizonte, MG, Brazil. E-mails: nina.alkmim@gmail.com and leticiafsgs@gmail.com

Keywords: Thyroid associated ophthalmopathy (TAO), Autoimmune thyroid disease, radioactive iodine, methylprednisolone, pulse therapy

Word count: 3852

Abbreviations: anti-TPO, antibodies to thyroid peroxidase; CAS, Clinical Activity Score; DM, diabetes *mellitus*; DON, dysthyroid optic neuropathy; F:M, female to male; GD, Graves' disease; HT, Hashimoto's thyroiditis; IGF-1R, insulin-like growth factor receptor; iv, intravenous; NR, non-responders; RAI, radioactive iodine; R, responders; TAO, thyroid associated ophthalmopathy; TRAb, autoantibodies to the TSH receptor; TSHR, thyrotropin receptor; T4, thyroxine

Abstract

Context: Thyroid associated ophthalmopathy (TAO) is an inflammatory, autoimmune disease of the orbits with profound impact in quality of life. TAO is a major therapeutic challenge in its active moderate-to-severe forms. Intravenous glucocorticoid has been indicated as the first-line treatment in this form of TAO. **Objective:** To evaluate the clinical characteristics and predictive factors of response to pulse therapy with methylprednisolone in patients with active moderate-to-severe TAO. **Methods:** Recorded data of 64 patients (45 women) with active moderate-to-severe TAO were retrospectively collected. All patients were treated with a minimum cumulative dose of 4.5 g of methylprednisolone, given in 12 weekly infusions. Patients were classified as responders (R) or non-responders (NR). Detailed clinical characteristics and putative determinants for therapy response were assessed and compared between pulse therapy responders (R) and non-responders (NR). **Results:** 62 patients had Graves' disease, 2 had Hashimoto's thyroiditis, median age of thyroid dysfunction diagnosis, TAO manifestation and pulse therapy were 46, 48 and 51yrs, respectively, 48 (25%) were smokers, 36 (56,2%) were euthyroid when TAO manifested. 47 patients (73.4%) were classified as R. R and NR groups did not differ in gender, age, smoke status, serum antibodies, thyroid function, time of disease, pre-treatment CAS and adverse events. Radioactive iodine (RAI) was used to treat hyperthyroidism in 49 patients: 16 (32,7%) received RAI during the pulse therapy for TAO, 17 (34.7%) after pulse therapy, 15 (30.6%) before the active phase of TAO (before pulse therapy) and one at 2 moments: pre and after pulse therapy. The rate of response among patients who received RAI during pulse therapy (active TAO) was 93.7% compared with 57.5% of response in patients who received RAI before or after pulse therapy ($p=0.018$). **Conclusion:** Efficacy of pulse therapy was observed in the vast majority of patients. No predictive factor to response to pulse therapy was demonstrated, except for the moment of RAI administration. While RAI has been contraindicated in active phase of TAO, our results suggest that it seems to be safe and possibly contribute to a favorable response, when used concomitantly with pulse therapy.

INTRODUCTION

Thyroid associated ophthalmopathy (TAO), also named Graves' orbitopathy or thyroid eye disease, is a potentially sight-threatening disorder of the orbits.¹ TAO is an autoimmune inflammatory condition, that has profound impact in quality of life, even in its mild form.² While typically manifested with Graves' disease associated hyperthyroidism, TAO may occur in association with Hashimoto's thyroiditis, in hypo or euthyroidism.³ Its pathogenesis is complex, and not fully understood. Current evidence points out to an autoimmune reaction against autoantigens constitutively expressed by orbital fibroblasts, specially thyrotropin receptor (TSHR) and insulin-like growth factor receptor (IGF-1R).⁴ Apart from uncertain genetic, epigenetic and demographical variables, the recognized and modifiable risk factors associated with TAO are cigarette smoking, thyroid dysfunction and radioiodine therapy (RAI). High LDL-cholesterol is also an emerging risk factor for TAO.⁵

The relation between RAI and TAO has long been debated. RAI is regularly used as a definitive treatment for Graves' hyperthyroidism. It is an effective and well-tolerated approach, with rare adverse events, however it has been associated with progression of pre-existing TAO and, less often, with *de novo* occurrence of TAO.⁶ Glucocorticoid prophylaxis is thought to be beneficial in preventing this adverse event, when used concomitant with RAI in predisposed patients with hyperthyroidism.⁷

TAO has a clinically heterogeneous presentation, and treatment decision should rely on thorough assessment of its activity and severity. The active moderate to severe presentation of TAO is yet a therapeutic challenge.⁸ Intravenous (iv) methylprednisolone is considered the first-line therapy of this presentation, with a satisfactory outcome in most patients, especially if carried out early, within the first year of its onset. Limitations of this modality of treatment include poor effect on proptosis and diplopia and inability to prevent relapses.^{9,10}

Currently there are no baseline definitive parameters capable of predicting the therapy response to glucocorticoid therapy. In this study, we retrospectively examined the clinical characteristics and predictive factors of response to steroid therapy in a Brazilian cohort with active moderate to severe TAO.

METHODS

Patients

Patients were selected from the Thyroid outpatient clinic of the Endocrinology Service, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) and from two private endocrinology clinics. The project was approved by the Ethics Committee of Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). A retrospective review of patients' records, who attended the clinic from 2006 to 2021, was carried out in order to identify patients with active moderate-to-severe form of TAO. Ocular involvement was defined according to criteria reported in the European Group on Grave's Orbitopathy (EUGOGO) consensus statement.⁵ We selected patients ≥ 18 years old, with a Clinical Activity Score (CAS) ≥ 3 , who had been treated with a minimum cumulative dose of 4.5 g of methylprednisolone, given in 12 weekly infusions (six infusions of 0,5 g, followed by six infusions of 0.25 g). Patients with missing essential data or who had already received specific treatment for TAO, except from previous use of oral glucocorticoid, were excluded. Patients were followed-up for 12 to 60 months (median 36 months) after pulse therapy.

Data assessment

Recorded information collected included gender, age at biochemical diagnosis of thyroid dysfunction, age at diagnosis of TAO, age at specific treatment of TAO, smoking behavior at the time of active TAO and presence of comorbidities. The occurrence of dysthyroid optic neuropathy (DON) and exposure keratopathy were documented. Regarding clinical presentation, patients who initially presented with unilateral disease and progressed to bilateral disease were classified as having bilateral disease. Standard criteria were used for the diagnosis of autoimmune thyroid disease: (1) Graves' disease (GD) was defined by the presence of biochemical hyperthyroidism or euthyroidism with positive autoantibodies to the TSH receptor (TRAb); (2) Hashimoto's thyroiditis (HT) was defined by the presence of biochemical hypothyroidism and positive antibodies to thyroid peroxidase (anti-TPO).

Results of serum TRAb and anti-TPO, measured before treatment of TAO, were collected and described as positive or negative. Regardless of the primary diagnosis (GD or HT), patients were classified as having hyper, hypo or euthyroidism at the moment of active TAO, according to levels of serum FT4 and TSH. In addition, data regarding the therapeutic approaches for the thyroid dysfunction were assessed. In the cases in which RAI was employed, the use of concomitant prophylaxis with glucocorticoid was assessed and described. Data regarding adverse reactions from methylprednisolone were collected and described as well as data about surgical intervention of the orbits.

Responders and non-responders

CAS was assessed pre and post pulse therapy with methylprednisolone and patients were classified in two groups: responders (R) or non-responders (NR). Patients with CAS < 3/7 at the end of pulse therapy, who did not demand any additional urgent therapy for TAO after the beginning of pulse therapy, were classified as R. Those who remained with active TAO at the end of the 12-week-therapy (CAS \geq than 3/7) and/or required urgent intervention during or after pulse therapy were classified as NR. Among NR, those who achieved CAS < 3/7 after extra doses of methylprednisolone, and did not demand the use of any other therapy, were classified as steroid-resistant. Putative determinants for pulse therapy response were assessed and compared between these two groups (age, gender, smoking status, *etc.*). Finally, patients who received RAI during the pulse therapy were analyzed separately and compared with patients who received RAI before or after the steroid therapy.

Statistical analysis

The description of data was performed using median and interquartile range for quantitative variables and using absolute frequency and relative frequency for categorical variables. The Wilcoxon Test and Fisher Exact Test were used to compare groups (responders *vs.* non-responders and RAI during pulse therapy *vs.* RAI after or before pulse therapy). All the analyses were done using R Software (version 4.0.2), for Windows. Results were considered statistically significant if the P-value was < 0.05.

RESULTS

Demographics and clinical characteristics at baseline

Data of 89 consecutive patients diagnosed with active moderate-to-severe TAO were retrospectively collected. After applying exclusion criteria, 64 patients were classified as eligible. The clinical features of the patients are shown in Table 1. The majority of patients were women (70.3%) and had GD (96.9%). Among all patients, 25% were current smokers, and 68% had at least one comorbidity, hypertension and diabetes *mellitus* (DM) being the most prevalent ones. Nineteen (29.6%) patients, who came from other therapy centers, had already used oral corticosteroid to treat TAO.

The median ages at onset of symptoms related to the thyroid dysfunction and to eye dysfunction were similar (46 and 48 yrs, respectively). Fifty six percent of the patients were diagnosed with thyroid dysfunction (GD/HT) and TAO at the same time. Two patients never manifested thyroid dysfunction and 36 (56%) patients were euthyroid during active phase of TAO. Among those who had information about autoantibodies, 47 (81%) had a positive TRAb. Eight patients (12.5%) manifested unilateral TAO. Regarding pretreatment CAS, 41 patients (67.2%) presented with CAS = 3 at the first visit, 16 patients (26.2%) presented with CAS = 4 and 4 patients (6.6%) presented with CAS = 5. Twelve patients (18.7%) presented at the first visit with clinical signs of DON, two (3.1%) with exposure keratopathy, and one (1,5%) with both conditions. They first received a cumulative dose of 3 g of methylprednisolone in a 3-day therapeutic scheme. After initial improvement, the 12-week pulse therapy with a cumulative dose of 4.5 g methylprednisolone was administered.

TABLE 1: Baseline characteristics of the patients

Gender (n= 64)	n ¹
Female	45 (70.3%)
Male	19 (29.7%)
Thyroid disease (n=64)	
Graves' disease	62 (96.9%)
Hashimoto's thyroiditis	2 (3.1%)
Smoking status (n=64)	
Non-smoker	48 (75%)
Current smoker	16 (25%)
Age onset GD/HT (n=60)	46 (37,8 – 56,2)
Age onset TAO (n=60)	48 (37 - 59)
Time between ocular and thyroid symptoms (months) (n=5)	24 (17 - 24)
Time between thyroid and ocular symptoms (months) (n=23)	20 (11,5 - 72)
Age at TAO treatment (yrs) (n=62)	51 (39 - 60.8)
Time between pulse therapy and last medical visit (months) (n=59)	36 (12 - 60)
TRAb (n=58)	
Negative	11 (19%)

Positive	47 (81%)
Anti-TPO (n=25)	
Negative	16 (64%)
Positive	9 (36%)
Thyroid function at active phase TAO (n=64)	
Euthyroidism	36 (56.2%)
Hyperthyroidism	21 (32.8%)
Hypothyroidism	7 (10.9%)
Comorbidity	43 (68.3%)
Dysthyroid optic neuropathy (DON)	13 (20,3%)
Exposure keratopathy	3 (4,6%)

¹n (%); Median (Interquartile range, 25-75 percentile)

For GD treatment, 24 patients were using antithyroid drug (thionamides) during pulse therapy. RAI was administered to 49 patients: 16 patients (32.7%) received RAI during the active phase of TAO (during pulse therapy with methylprednisolone), 17 (34.7%) after pulse therapy, 15 (30.6%) before active phase of TAO and one patient received RAI twice (before and after pulse therapy). Among those who received RAI before the active phase of TAO, nine (56%) received prophylaxis with oral corticosteroid and the median of time between RAI treatment and the beginning of active phase TAO was 24 months.

Assessment of treatment response

After a 12-week-treatment with 4.5 g of methylprednisolone, 47 (73.4%) patients improved CAS to ≤ 2 and were classified as responders (R). Seventeen (26.5%) patients were classified as non-responders (NR): (a) three patients were steroid-resistant (b) four needed additional therapy with azathioprine or tocilizumab, (c) nine presented with sight threatening TAO after the pulse therapy and demanded emergency treatment with intravenous glucocorticoid and/or decompression surgery (d) one patient was diagnosed with chronic hepatitis C after pulse therapy, which postponed further treatment for active TAO. Cumulative doses of methylprednisolone among steroid-resistant patients were 10 g, 13.5 g and 7.5 g.

Among NR, four patients were treated with second-line pharmacological options. One patient did not improve CAS after pulse therapy (CAS=3) and received tocilizumab (8 mg/kg on weeks 0, 4, 8 and 12), without any further extra doses of methylprednisolone. After 4 injections of tocilizumab, CAS improved to 0. Azathioprine was used associated with oral prednisone (20 mg) in 3 patients, after additional doses of methylprednisolone. Treatment duration with azathioprine was variable (6, 18 and 24 months), and all three patients improved CAS to less than 3.

Putative determinants for pulse therapy response were analyzed and the two groups (R vs. NR) were compared. No differences were observed regarding gender, age at diagnosis, smoking status, thyroid dysfunction, presence of autoantibodies, comorbidities, time between thyroid and eye dysfunction, and clinical presentation of TAO (pretreatment CAS). Occurrence of sight threatening TAO at eye disease onset (before 12-week-treatment with

methylprednisolone), demanding emergency treatment, did not differ between both groups ($p=0.197$) (Table 2, Supplemental Table 1).

RAI was administered to 49 (76,5%) patients, 16 (25%) of them during pulse therapy and 33 (51,5%) before and/or after pulse therapy. Analyzing the outcome of TAO treatment regarding the time of RAI in relation to pulse therapy, 93.7% of the patients who received RAI during pulse therapy (active TAO) progressed to CAS < 3 and were classified as R, whereas in the group of patients who received RAI before or after pulse therapy 57.5% were R ($p=0.018$) (Table 3). Patients who received RAI ($n= 16$) during active phase of TAO, concurrently with pulse therapy, were compared to those who received RAI after pulse therapy ($n=17$). The baseline clinical features of the patients were similar in both groups, except for that there were more women and they were younger in the group that received RAI during pulse therapy (Supplemental Table 2).

TABLE 2: Variables likely to predict response to glucocorticoid: comparison between responders and non-responders

		Responders	Non-responders	
	n = 64¹	n = 47¹	n = 17¹	p-value²
Gender (n=64)				0.067
F	45 (70.3%)	36 (76.6%)	9 (52.9%)	
M	19 (29.7%)	11 (23.4%)	8 (47.1%)	
History of thyroid disease (n=64)				>0.999
Graves' disease	62 (96.9%)	45 (95.7%)	17 (100.0%)	
Hashimoto's thyroiditis	2 (3.1%)	2 (4.3%)		
Smoking status (n=64)				0.329
Non-smoker	48 (75.0%)	37 (78.7%)	11 (64.7%)	
Smoker	16 (25.0%)	10 (21.3%)	6 (35.3%)	
Age onset GD/HT (n=60)	46.0 (37.8, 56.2)	45.0 (36.5, 57.8)	47.5 (39.8, 52.2)	0.967
Age onset OT (n=60)	48.0 (37.0, 59.0)	46.0 (36.0, 59.5)	51.0 (46.0, 57.0)	0.313
Thyroid function at active phase OT (n=64)				0.773
Euthyroidism	36 (56.2%)	25 (53.2%)	11 (64.7%)	
Hyperthyroidism	21 (32.8%)	16 (34.0%)	5 (29.4%)	
Hypothyroidism	7 (10.9%)	6 (12.8%)	1 (5.9%)	
Time between ocular and thyroid symptoms (months) (n=5)	24.0 (17.0, 24.0)	20.5 (15.8, 27.0)	24.0 (24.0, 24.0)	>0.999
Time between thyroid and ocular symptoms (months) (n=23)	20.0 (11.5, 72.0)	15.0 (11.0, 48.0)	90.0 (24.0, 171.0)	0.123
Duration of eye disease (years)	1,0 (0-2,0)	1.0 (0,0-1,5)	1,0 (0-2,0)	0,482
Sight threatening at the first medical visit	15 (23,4%)	9(19,1%)	6(35,3%)	0,197
TRAb (n=58)				0.259
Negative	11 (19.0%)	10 (23.8%)	1 (6.2%)	
Positive	47 (81.0%)	32 (76.2%)	15 (93.8%)	
anti_TPO (n=25)				0.355
Negative	16 (64.0%)	10 (55.6%)	6 (85.7%)	
Positive	9 (36.0%)	8 (44.4%)	1 (14.3%)	

¹n (%); Median (Interquartile range, 25-75 percentile) ² Qui-Square Test; Fisher Exact Test; Wilcoxon Test

Adverse events were observed in 36 (56.2%) patients during pulse therapy (Supplemental Table 3). The most frequent adverse event was weight gain (39.1%). Three patients gained more than 10% and eleven gained between 5-10% of total body weight. Among seven patients with previous diagnosis of type 2 DM, four demanded antidiabetic medications adjustment because of the worsening of glycemic parameters. Three patients without previous diagnosis of DM presented with mild and transient increase in glycemic parameters. Other mild adverse events included insomnia, headache, vomit and acne. One patient had bacterial pneumonia. Relevant hepatotoxicity, defined as a 3-fold or greater increase in serum liver enzymes occurred transiently in two patients. There were no adverse events in patients treated with azathioprine and tocilizumab.

TABLE 3: Radioactive iodine therapy

		Responders	Non-responders	
	n = 64¹	n = 47¹	n = 17¹	p-value²
RAI	49 (76.6%)	34 (72.3%)	15 (88.2%)	0.317
RAI moment				0.018
During pulse therapy	16 (32.7%)	15 (44.1%)	1 (6.7%)	
Before or after pulse therapy	33 (67.3%)	19 (55.9%)	14 (93.3%)	
RAI moment				0.032
During pulse therapy	16 (32.7%)	15 (44.1%)	1 (6.7%)	
After pulse therapy	17 (34.7%)	10 (29.4%)	7 (46.7%)	
Before and after	1 (2.0%)	1 (2.9%)		
Before pulse therapy	15 (30.6%)	8 (23.5%)	7 (46.7%)	
Steroid prophylaxis	34 (75.6%)	24 (77.4%)	10 (71.4%)	0.717

¹n (%), ²Qui-Quadrado Test; Fisher Exact Test

DISCUSSION

In this study, we described clinical characteristics of a unique Brazilian cohort of patients with the diagnosis of active moderate to severe form of TAO. Like other autoimmune diseases, TAO is more frequent in females than males, although the ratio female to male (F:M) decreases as the severity of TAO increases.¹¹ The patient profiles observed in our study were similar to previous studies regarding F:M ratio (4:1) and average age of patients with TAO (48 years).¹¹⁻¹³

Apart from being the major extrathyroidal manifestation of GD, TAO can occur in patients with normal thyroid function and hypothyroidism as well. In general, TAO is associated with hyperthyroidism in 90% of cases.^{14,15} In our cohort, we observed 96.9% of the patients with GD and only 2 (3,1%) patients with HT. Overall, evidence suggest that eu-/hypothyroid forms of TAO are less severe.^{15,16} Therefore, our result could be explained by the inclusion criteria of this present study, which comprise only moderate to severe forms of TAO.

Current evidence demonstrates significant advantage of intravenous (iv) compared to oral corticosteroids in decreasing CAS in patients with active moderate to severe TAO. Moreover, iv pulse therapy has a clearly better profile regarding adverse events.¹⁷ In our study, one third of the patients reported previous use of oral corticosteroid for TAO treatment at the first visit. Some facts could explain the relative high rate of use of this less effective treatment modality. As we are a tertiary reference center, most patients come from other small centers, with poor health resources and usually located far from academic centers. In addition, iv corticosteroids demand infusion centers, that are often unavailable or costly. Hence, it is possible that oral corticosteroids are still widely used for treating active TAO.

The temporal relationship between the onset of TAO and thyroid disease observed in the present study showed that most patients develop eye disease simultaneously with thyroid disease. In our cohort, 36% of the patients developed TAO after thyroid disease, in concordance with a cross-sectional study in which 37% developed TAO after thyroid disease).¹⁸ In contrast, a population-based study found that 63% of the patients with moderate to severe TAO developed eye disease after developing Graves' hyperthyroidism.¹⁹

Intravenous glucocorticoids have been indicated as the first-line treatment in active moderate to severe TAO, with a response rate of approximately 70-80%.^{10,20} In agreement with this previous data, 73.4% of our cohort progressed to inactive TAO (CAS <3) after pulse therapy with 4,5 g of methylprednisolone, without demanding any further acute therapy. In the NR

group, 3 patients progressed to inactive TAO after extra doses of iv methylprednisolone, and were considered steroid-resistant. As recommended by the EUGOGO guideline, a second course of iv glucocorticoid might be offered to patients who do not respond to the initial cumulative dose of 4,5 g of methylprednisolone before starting a new drug.⁵ Even though specialists recommend avoiding cumulative doses exceeding 8 g, to prevent especially acute liver damage,¹⁰ higher doses (10 g and 13,5 g) were used in two steroid-resistant patients, with no adverse events. In the clinical practice, response to iv corticosteroid usually occurs early, what calls into question the real impact of prescribing a second course of iv corticosteroid to non-responder patients. Vanucchi et al²¹ found that the lack of early response at 6-8 weeks was associated with a small (10%) chance of response at the 12-16 weeks. In contrast, a recent study suggested that unresponsive patients at six weeks had a 30% chance of posterior improvement.²²

In the NR group, three patients used azathioprine in association with oral prednisone, after failing to improve with extra doses of methylprednisolone. Azathioprine is a purine analog that works as antiproliferative agent. Despite ineffective as monotherapy to treat TAO, it was demonstrated that azathioprine can reduce relapses after withdrawal of steroids.²³ In this present study, prednisone combined with azathioprine was effective in reducing CAS. Azathioprine has been recommended by EUGOGO guideline as one of the second-line options to treat TAO.⁵ In our tertiary referral center, azathioprine is one of most accessible option, especially considering cost and patient compliance, what justified its use as second-line treatment of TAO. We also reported a single case of poor response to methylprednisolone (NR) that completely improved after complementary therapy with tocilizumab, without any adverse event. Tocilizumab is recombinant humanized monoclonal antibody against soluble interleukin-6 receptors. In a prospective non-randomized study, it was effective in improving CAS in patients with poor response to iv glucocorticoid.²⁴ Although this immunotherapy is an interesting option as a second-line treatment for TAO, its cost still limits its widespread use in patients with TAO.

Although effective in terms of reducing inflammation, glucocorticoids are not a targeted treatment for TAO, and as many as 30% patients with active moderate to severe TAO may be unresponsive to treatment.²¹ In this scenario, finding risk factors associated with poor response to corticosteroids is quite important. We did not find differences between R and NR groups in regard to gender, comorbidities, age at onset of TAO, age onset at thyroid dysfunction

and positivity of autoantibodies. Smoking has been associated to poor response to glucocorticoids in TAO patients.²⁵ In our study, although, R and NR did not differ regarding smoking status. In a prospective study, the duration of eye disease correlated negatively with response to corticoid treatment.²⁶ Our results did not confirm this finding, as R and NR were similar in respect to duration of TAO.

It could be hypothesized that NR had a more severe and inflammatory eye disease at baseline. Our findings do not support this hypothesis, since both groups did not differ in regard to pretreatment CAS. Likewise, R and NR groups were similar regarding proportion of patients with DON at baseline.

Interestingly, we observed that R differed from NR regarding the moment of RAI administration: patients who received RAI during pulse therapy responded more than those who received RAI pre or after pulse therapy. RAI was associated with a small but consistent risk of developing or worsening TAO.⁷ One of the possible explanations to this phenomenon is the activation of autoimmune reactions directed to the orbit, in response to the release of thyroid antigens. Nonetheless, the confounding effect of hypothyroidism after the RAI must be considered. In two observational studies, administration of thyroxine (T4) systematically two weeks after RAI, instead of waiting for laboratory hypothyroidism to be established to start T4 replacement, prevented activation of TAO.^{27,28} In our service, we do not usually prescribe T4 systematically after RAI, but thyroid function is assessed 30 days after RAI to prevent overt hypothyroidism to be installed, and T4 is prescribed if necessary. It is well demonstrated that the use of corticosteroid concomitantly with RAI prevents TAO activation/progression.²⁹ Besides the original regimens with oral prednisone, iv glucocorticoid has been proposed as a possible regimen of prophylaxis.³⁰ In this context, RAI was administered in 16 patients with active moderate to severe TAO during the 12-week pulse therapy, and 93,7% showed a satisfactory response.

Patients who received RAI during active phase of TAO were younger compared with those who received it after pulse therapy (inactive TAO). In addition, in the former group there were more women. Since advanced age and reduced F:M had been directly associated with severity of TAO¹¹ It could be hypothesized that the favorable result of patients who received RAI during pulse therapy were influenced by these differences. It is also possible that RAI produces a more stable thyroid function compared to the use of thionamides in patients with active TAO, influencing the severity of TAO and its response to glucocorticoids.

The reported adverse events confirm that iv glucocorticoids are mainly associated with mild complications. Two patients presented with transient hepatotoxicity. Hepatic adverse event is generally associated with high cumulative doses of methylprednisolone (8-10 g).²⁰ However, in the present study, both patients who developed transient hepatotoxicity received the minimum dose of 4,5 g and were classified as R.

This study must be considered in the context of its limitations. Firstly, it is a retrospective observational study, which obtained information from recorded data. Therefore, it should be considered that potentially confounding registered data exists and some relevant information of patients could be missing in the records. Secondly, we used only CAS as a primary endpoint to evaluate response to pulse therapy and detailed information about proptosis, lid retraction and diplopia were not assessed.

We believe that the results of this study provide valuable information about TAO. To the best of our knowledge, this is the first study to collect data of this subgroup of Brazilian patients, with a relative uncommon disease. In addition, RAI has been reported as negatively associated with TAO. In clinical practice is quite common during the treatment of Graves' hyperthyroidism to choose RAI instead of antithyroid drug and our results point to a favorable synergy between RAI and iv glucocorticoids.

In conclusion, pulse therapy proved to be effective in the vast majority of patients with active moderate to severe TAO. We could not find any predictive factor associated with response to pulse therapy, except for the moment of RAI administration. It has been suggested that RAI is contraindicated in active phase of TAO, due to a general fear that RAI may be associated to worsening of TAO. Nevertheless, our results do not support this current recommendation. On the contrary, RAI seems to be safe and possibly contribute to inactivation of TAO, when used concomitantly with pulse therapy. Further studies are required to explore prospectively the interaction of RAI and glucocorticoids in the treatment of this challenging disease.

REFERENCES

1. Bahn RS. Graves' Ophthalmopathy. *N Engl J Med* 2010; 362(8):726–38.
2. Gerding MN, Terwee CB, Dekker FW, Koornneef L, Prummel MF, Wiersinga WM. Quality of life in patients with Graves' ophthalmopathy is markedly decreased: measurement by the medical outcomes study instrument. *Thyroid*. 1997 Dec;7(6):885-9.
3. Bartalena, L., Piantanida, E., Gallo, D., Lai, A., & Tanda, M. L. Epidemiology, Natural History, Risk Factors, and Prevention of Graves' Orbitopathy. *Frontiers in Endocrinology*. 2020. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020 Nov 30;11:615993
4. Neag EJ, Smith TJ. 2021 update on thyroid-associated ophthalmopathy. *J Endocrinol Invest*. 2022 Feb;45(2):235-259.
5. Bartalena L, Kahaly GJ, Baldeschi L, *et al* .The 2021 European Group on Graves' orbitopathy (EUGOGO) clinical practice guidelines for the medical management of Graves' orbitopathy. *Eur J Endocrinol*. 2021 Aug 27;185(4):G43-G67.
6. Ross DS, Burch HB, Cooper DS, *et al* . 2016 American Thyroid Association Guidelines for Diagnosis and Management of Hyperthyroidism and Other Causes of Thyrotoxicosis. *Thyroid*. 2016 Oct;26(10):1343-1421. Erratum in: *Thyroid*. 2017 Nov;27(11):1462.
7. Acharya SH, Avenell A, Philip S, Burr J, Bevan JS, Abraham P. Radioiodine therapy (RAI) for Graves' disease (GD) and the effect on ophthalmopathy: a systematic review. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2008 Dec;69(6):943-50.
8. Genere N, Stan MN. Current and Emerging Treatment Strategies for Graves' Orbitopathy. *Drugs*. 2019 Feb;79(2):109-124.
9. Douglas RS, Dailey R, Subramanian PS, *et al* . Proptosis and Diplopia Response With Teprotumumab and Placebo vs the Recommended Treatment Regimen With Intravenous Methylprednisolone in Moderate to Severe Thyroid Eye Disease: A Meta-analysis and Matching-Adjusted Indirect Comparison. *JAMA Ophthalmol*. 2022;140(4):328–335.
10. Zang S, Ponto KA, Kahaly GJ. Clinical review: Intravenous glucocorticoids for Graves' orbitopathy: efficacy and morbidity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011 Feb;96(2):320-32.

11. Perros P, Crombie AL, Matthews JN, Kendall-Taylor P. Age and gender influence the severity of thyroid-associated ophthalmopathy: a study of 101 patients attending a combined thyroid-eye clinic. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1993;38:367–72.
12. Perros P, Žarković M, Azzolini C, *et al.* PREGO (presentation of Graves' orbitopathy) study: changes in referral patterns to European Group On Graves' Orbitopathy (EUGOGO) centres over the period from 2000 to 2012. *Br J Ophthalmol*. 2015 Nov;99(11):1531-5.
13. Khong JJ, Finch S, De Silva C, *et al.* Risk Factors for Graves' Orbitopathy; the Australian Thyroid-Associated Orbitopathy Research (ATOR) Study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016 Jul;101(7):2711-20.
14. Hiromatsu Y, Eguchi H, Tani J, Kasaoka M, Teshima Y. Graves' ophthalmopathy: epidemiology and natural history. *Intern Med*. 2014;53(5):353-60.
15. Ponto KA, Binder H, Diana T, *et al.* Prevalence, Phenotype, and Psychosocial Well-Being in Euthyroid/Hypothyroid Thyroid-Associated Orbitopathy. *Thyroid*. 2015 Aug;25(8):942-8.
16. Eckstein AK, Lösch C, Glowacka D, *et al.* Euthyroid and primarily hypothyroid patients develop milder and significantly more asymmetrical Graves ophthalmopathy. *Br J Ophthalmol*. 2009 Aug;93(8):1052-6.
17. Stiebel-Kalish H, Robenshtok E, Hasanreisoglu M, Ezrachi D, Shimon I, Leibovici L. Treatment modalities for Graves' ophthalmopathy: systematic review and metaanalysis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009 Aug;94(8):2708-16.
18. Wiersinga WM, Smit T, van der Gaag R, Koornneef L. Temporal relationship between onset of Graves' ophthalmopathy and onset of thyroïdal Graves' disease. *J Endocrinol Invest*. 1988 Sep;11(8):615-9.
19. Laurberg P, Berman DC, Bülow Pedersen I, Andersen S, Carlé A. Incidence and clinical presentation of moderate to severe graves' orbitopathy in a Danish population before and after iodine fortification of salt. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012 Jul;97(7):2325-32.
20. Längericht J, Krämer I, Kahaly GJ. Glucocorticoids in Graves' orbitopathy: mechanisms of action and clinical application. *Ther Adv Endocrinol Metab*. 2020 Dec 14;11:2042018820958335.
21. Vannucchi G, Covelli D, Campi I, *et al.* The therapeutic outcome to intravenous steroid therapy for active Graves' orbitopathy is influenced by the time of response

- but not polymorphisms of the glucocorticoid receptor. *Eur J Endocrinol*. 2013 Nov 22;170(1):55-61.
22. Bartalena L, Veronesi G, Krassas GE, *et al*. Does early response to intravenous glucocorticoids predict the final outcome in patients with moderate-to-severe and active Graves' orbitopathy? *J Endocrinol Invest*. 2017 May;40(5):547-553.
 23. Rajendram R, Taylor PN, Wilson VJ, *et al*. Combined immunosuppression and radiotherapy in thyroid eye disease (CIRTED): a multicentre, 2 × 2 factorial, double-blind, randomised controlled trial. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2018 Apr;6(4):299-309.
 24. Perez-Moreiras JV, Gomez-Reino JJ, Maneiro JR, *et al*. Efficacy of Tocilizumab in Patients With Moderate-to-Severe Corticosteroid-Resistant Graves Orbitopathy: A Randomized Clinical Trial. *Am J Ophthalmol*. 2018 Nov;195:181-190.
 25. Xing L, Ye L, Zhu W, *et al*. Smoking was associated with poor response to intravenous steroids therapy in Graves' ophthalmopathy. *Br J Ophthalmol*. 2015 Dec;99(12):1686-91.
 26. Hart RH, Kendall-Taylor P, Crombie A, Perros P. Early response to intravenous glucocorticoids for severe thyroid-associated ophthalmopathy predicts treatment outcome. *J Ocul Pharmacol Ther*. 2005 Aug;21(4):328-36.
 27. Perros P, Kendall-Taylor P, Neoh C, Frewin S, Dickinson J. A prospective study of the effects of radioiodine therapy for hyperthyroidism in patients with minimally active graves' ophthalmopathy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005 Sep;90(9):5321-3.
 28. Tallstedt L, Lundell G, Blomgren H, Bring J. Does early administration of thyroxine reduce the development of Graves' ophthalmopathy after radioiodine treatment? *Eur J Endocrinol*. 1994 May;130(5):494-7.
 29. Shiber S, Stiebel-Kalish H, Shimon I, Grossman A, Robenshtok E. Glucocorticoid regimens for prevention of Graves' ophthalmopathy progression following radioiodine treatment: systematic review and meta-analysis. *Thyroid*. 2014 Oct;24(10):1515-23.
 30. Vannucchi G, Covelli D, Campi I, *et al*. Prevention of Orbitopathy by Oral or Intravenous Steroid Prophylaxis in Short Duration Graves' Disease Patients Undergoing Radioiodine Ablation: A Prospective Randomized Control Trial Study. *Thyroid*. 2019 Dec;29(12):1828-1833

6-CONCLUSÃO

A forma ativa moderada a grave da OT é uma condição relativamente rara e que possui consideráveis lacunas em seu entendimento e manejo. O presente estudo se destaca como pioneiro na descrição de uma coorte brasileira, sob longo seguimento, em um centro de referência do Estado. Em relação à resposta terapêutica aos glicocorticoides, terapêutica não-direcionada, mas ainda considerada como primeira linha no manejo da OT ativa, observou-se resposta semelhante aos resultados obtidos em estudos internacionais. No nosso trabalho, o único parâmetro que diferenciou os pacientes respondedores dos não-respondedores à metilprednisolona foi o momento da realização da radioiodoterapia. A resposta favorável da RAI nos pacientes com OT ativa levanta hipóteses e questionamentos sobre a real interação da RAI e o tratamento da OT. No contexto atual, em que terapias alvo-específicas para OT ainda não foram incorporadas à prática clínica, o melhor entendimento sobre possíveis preditores da resposta terapêutica aos glicocorticoides é imperativo.

7-ANEXOS

Supplemental Table 1: Pretreatment CAS

		Responders	Non-responders	
	n = 61	n = 45¹	n = 16¹	p-value²
Pretreatment CAS				0.170
3	41 (67.2%)	32 (71.1%)	9 (56.2%)	
4	16 (26.2%)	12 (26.7%)	4 (25.0%)	
5	4 (6.6%)	1 (2.2%)	3 (18.8%)	

¹n (%); ² Wilcoxon Test

Supplemental Table 2: Baseline clinical features of patients who received RAI during pulse therapy versus RAI after pulse therapy

		RAI during pulse therapy	RAI after pulse therapy	
Characteristic	N = 33¹	N = 16¹	N = 17¹	p-value²
Gender				0.041
F	21 (63.6%)	13 (81.2%)	8 (47.1%)	
M	12 (36.4%)	3 (18.8%)	9 (52.9%)	
Smoking status				0.175
Non-smoker	27 (81.8%)	15 (93.8%)	12 (70.6%)	
Smoker	6 (18.2%)	1 (6.2%)	5 (29.4%)	
Age onset GD/HT (years)	40.5 (29.5, 56.2)	31.0 (27.0, 38.2)	52.5 (45.5, 61.8)	<0.001
Age onset OT (years)	44.0 (34.0, 56.0)	33.0 (28.0, 39.0)	51.0 (47.0, 63.0)	<0.001
Thyroid function at active phase OT				0.632
Euthyroidism	17 (51.5%)	9 (56.2%)	8 (47.1%)	
Hyperthyroidism	14 (42.4%)	7 (43.8%)	7 (41.2%)	
Hypothyroidism	2 (6.1%)		2 (11.8%)	

¹n (%); Median (Interquartile range, 25-75 percentile)

Supplemental Table 3: Adverse events

	n = 64¹
Adverse events	36 (56.2%)
Weight gain	25 (39.1%)
Weight gain (%) (n=24)	
≤ 5%	10 (41.7%)
5% - 10%	11 (45.8%)
≥ 10%	3 (12.5%)
Hyperglycemia	7 (19.4%)
Hepatotoxicity	2 (3.1%)
Headache	2 (3.1%)
Insomnia	2 (3.1%)
Acne	1 (1.6%)
Bacterial pneumonia	1 (1.6%)
Vomit	1 (1.6%)

¹n (%)