



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**  
**FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA**

Fundada em 18 de fevereiro de 1808



---

**Monografia**

**Utilização de agentes antioxidantes no tratamento da  
orbitopatia de Graves leve ou moderada: revisão da  
literatura**

**Gabriel Kamei Guimarães**

Salvador (Bahia)

Novembro, 2015

**FICHA CATALOGRÁFICA: Em construção**

(elaborada pela Bibl. **SONIA ABREU**, da Bibliotheca Gonçalo Moniz : Memória da Saúde Brasileira/SIBI-UFBA/FMB-UFBA)

Guimarães, Gabriel Kamei

G963 Utilização de agentes antioxidantes no tratamento orbitopatia de graves leve ou moderada: revisão da literatura / Gabriel Kamei Guimarães. Salvador: GK Guimarães, 2015.

viii, 30 fls.

Professor orientador: Helton Estrela Ramos.

Monografia como exigência parcial e obrigatória para Conclusão de Curso de Medicina da Faculdade de Medicina da Bahia (FMB), da Universidade Federal da Bahia (UFBA).

1. Graves orbithoparhy. 2. Antioxidant treatment. 3. Oftalmopatia de graves. I. Ramos, Helton Estrela. II. Universidade Federal da Bahia. Faculdade de Medicina da Bahia. III. Título.

CDU – 616.441-008.6c1



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**  
**FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA**  
Fundada em 18 de fevereiro de 1808



## **Monografia**

# **Utilização de agentes antioxidantes no tratamento da orbitopatia de Graves leve ou moderada: revisão da literatura**

**Gabriel Kamei Guimarães**

Professor orientador: **Helton Estrela Ramos**

Monografia de Conclusão do Componente Curricular MED-B60/2015.1, como pré-requisito obrigatório e parcial para conclusão do curso médico da Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia, apresentada ao Colegiado do Curso de Graduação em Medicina.

Salvador (Bahia)  
Novembro, 2015

**Monografia:** *Utilização de agentes antioxidantes no tratamento da orbitopatia de Graves leve ou moderada: revisão da literatura*, de **Gabriel Kamei Guimarães**.

Professor orientador: **Helton Estrela Ramos**

**COMISSÃO REVISORA:**

- **Helton Estrela Ramos** (Presidente, Professor orientador), Professor do Departamento de Biorregulação do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia.
- **Angelina Xavier Acosta**, Professora do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia.
- **Paula Cristina Andrade Almeida**, Doutoranda do Curso de Doutorado do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde (PPgCS) da Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia.
- **Luciene da Cruz Fernandes**, Professora do Departamento de Fonoaudiologia do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia

**TERMO DE REGISTRO ACADÊMICO:**

Monografia avaliada pela Comissão Revisora, e julgada apta à apresentação pública no IX Seminário Estudantil de Pesquisa da Faculdade de Medicina da Bahia/UFBA, com posterior homologação do conceito final pela coordenação do Núcleo de Formação Científica e de MED-B60 (Monografia IV). Salvador (Bahia), em \_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2015.

*"Les temps sont durs pour les rêveurs"*  
(extraído do filme "O fabuloso destino de Amélie Poulain", de **Jean-Pierre Jeunet**)

Aos meus Pais, Ricardo Guimarães e Telma Kamei, e meu irmão Raphael Kamei, por todo amor e apoio de toda uma trajetória de vida.

**EQUIPE**

- Gabriel Kamei Guimarães, Faculdade de Medicina da Bahia/UFBA. Correio-e: gk.guimaraes@hotmail.com; e
- Helton Estrela Ramos, Instituto de Ciências da Saúde/UFBA.

**INSTITUIÇÕES PARTICIPANTES****UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**

- Faculdade de Medicina da Bahia (FMB)
- Instituto de Ciências da Saúde (ICS)

**FONTES DE FINANCIAMENTO**

1. Recursos próprios
----------------------

## AGRADECIMENTOS

- ◆ Ao meu Professor orientador, Doutor **Helton Estrela Ramos**, por apoio e dedicação prestados durante esses anos de orientação, me ajudando a fazer o melhor trabalho possível.
- ◆ À minha amiga e colega de sala, **Eveline Xavier Pereira de Souza**, que com seus conhecimentos avançados em pesquisa e informática me deu amplo suporte e apoio para que este trabalho pudesse ser realizado, me socorrendo nas horas mais difíceis.



## SUMÁRIO

<b>ÍNDICE DE FIGURAS, GRÁFICOS, QUADROS E TABELAS</b>	<b>2</b>
<b>I. RESUMO</b>	<b>4</b>
<b>II. OBJETIVOS</b>	<b>5</b>
<b>III. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b>	<b>6</b>
<b>IV. REVISÃO DA LITERATURA</b>	<b>9</b>
IV.1. Princípios gerais no manejo clínico da orbitopatia de Graves	9
IV.2. Selênio como protagonista no tratamento da orbitopatia de Graves	10
<b>V. METODOLOGIA</b>	<b>13</b>
<b>VI. RESULTADOS</b>	<b>15</b>
VI.1. Fluxograma de estratégia de seleção dos artigos	15
VI.2. Estudos in vivo	15
VI.2.1. Alopurinol e a nicotinamida	15
VI.2.2. Selênio e a pentoxifilina	17
VI.2.3. Colchicina	17
VI.3. Estudos in vitro	19
VI.3.1. N-acetilcisteína e Vitamina C	19
<b>VII. DISCUSSÃO</b>	<b>21</b>
<b>VIII. CONCLUSÕES</b>	<b>23</b>
<b>IX. SUMMARY</b>	<b>24</b>
<b>X. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>25</b>

## ÍNDICE DE QUADROS

### **QUADRO**

QUADRO I. Termos utilizados para pesquisa na base de dados	<b>14</b>
QUADRO II. Dados demográficos e sintomas dos pacientes do grupo tratamento antes e depois do uso das drogas	<b>18</b>

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

OG	Orbitopatia de Graves
DG	Doença de Graves
GAG	Glicosaminoglicanos
MEO	Musculatura extraocular
IGF-1	Fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1
TSH	Hormônio estimulador da tireóide
TRAb	Anticorpo anti-receptor do TSH
ATP	Adenosina trifosfato
RL	Radicais Livres
EO	Estresse oxidativo
GC	Glicocorticóides
RO	Radioterapia orbital
IL-2	Interleucina 2
RNA <sub>m</sub>	Ácido ribonucleico mensageiro
GPx4	Glutathione peroxidase
ERO	Espécies reativas de oxigênio
SEPP1	Selenoproteína P
ApoER2	Receptor 2 da apolipoproteína E
NO SPECS	Nenhum sinal ou sintoma (N), somente sintomático (O), envolvimento tecidual (S), proptose (P), envolvimento muscular (E), envolvimento corneal (C), perda de visão (S)
EUGOGO	Grupo Europeu de Estudo da Orbitopatia de Graves
EAC	Escore de atividade clínica
NAC	N-acetilcisteína
H2O2	Peróxido de hidrogênio
TGF- $\beta$ 1	Fator de crescimento tumoral beta tipo 1
IL-1 $\beta$	Interleucina beta tipo 1

## I. RESUMO

### **UTILIZAÇÃO DE AGENTES ANTIOXIDANTES NO TRATAMENTO DA ORBITOPATIA DE GRAVES LEVE OU MODERADA: REVISÃO DA LITERATURA**

A orbitopatia de Graves (OG), manifestação extratiroideana mais frequente da doença de Graves (DG), possui etiopatogenia indefinida e pode levar a quadro desfigurante, com intenso prejuízo funcional e profundo impacto na qualidade de vida dos indivíduos, além de existir amplas ofertas quanto a terapêutica. O uso de glicocorticóides (GC) é bem estabelecido para o tratamento da OG há mais de 40 anos e dentre as opções de agentes antioxidantes, o selênio e a pentoxifilina são dois dos mais debatidos nessa área, porém apesar do crescente interesse nos estudos que apontam a potencial utilidade clínica dos agentes antioxidantes em pacientes com OG, ainda não há evidência científica para a utilização rotineira. **Objetivos:** Avaliar estudos sobre a eficácia de tratamentos com uso de antioxidantes na OG leve a moderada e determinar se há uma melhoria na qualidade de vida comparado aos outros tratamentos pré-estabelecidos. **Metodologia:** Realizada revisão sistemática da literatura científica, sem metanálise, de acordo com metodologia proposta no protocolo PRISMA e utilizando como base de dados o PubMed. **Resultados:** Foram encontrados através de estratégia de busca aplicada no PubMed 980 artigos, onde 44 foram selecionados para leitura dos resumos com base nos títulos, e apenas 13 foram incluídos devido aos critérios de elegibilidade, dos quais apenas 4 artigos foram incluídos para coleta e análise qualitativa dos dados. **Discussão:** Apesar de alguns estudos demonstrarem a eficácia dos agentes antioxidantes perante a DG leve a moderada, a limitação desses estudos quanto a quantidade de pacientes, desenhos de estudos inapropriados, levantam a dúvida sobre a real capacidade dos antioxidantes em combater os sintomas da OG. **Conclusões:** É possível dizer que há uma necessidade de realização de estudos mais coesos, capazes de ampliar e validar externamente a premissa de que os agentes antioxidantes são eficazes em combater os sintomas leves a moderados da OG, uma vez que os poucos estudos realizados foram capazes de comprovar tal eficácia, porém alguns deixam a desejar quanto a qualidade do estudo realizado.

**Palavras chaves:** Graves Orbitopathy; Antioxidant treatment; Oftalmopatia de Graves

## **II. OBJETIVOS**

### PRINCIPAL

1. Comparar estudos sobre a eficácia de tratamentos com uso de antioxidantes na Orbitopatia de Graves leve a moderada;

### SECUNDÁRIOS

- I. Determinar se há uma melhoria na qualidade de vida com o uso de antioxidantes como tratamento da Orbitopatia de Graves;

### III. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A fisiopatologia da Orbitopatia de Graves (OG) envolve inflamação e expansão do tecido adiposo presente na órbita, superprodução de glicosaminoglicanos (GAG) por fibroblastos orbitais, levando a aumento do volume da musculatura extraocular (MEO) e gordura orbital/tecido conjuntivo. O aumento do volume da MEO é alteração muito comum, e pode alcançar de 2 à 3 vezes o volume normal. O início é, em geral, insidioso, com progressiva deterioração clínica (fase de atividade) que pode durar vários meses, e que reflete a exacerbação de um intenso processo autoimune de base. Em seguida, ocorre uma fase de estabilização da inflamação (fase de *plateau*), com subsequente evolução para uma fase de melhora clínica, lenta e gradual, dos sinais inflamatórios, podendo ainda surgir fibrose e sequelas como alteração da aparência, proptose e disfunção da musculatura extraocular (Dolman, 2012). Embora OG seja doença autolimitada, pode causar prejuízo estético e funcional permanente, com vários estudos demonstrando impacto negativo severo na qualidade de vida, quanto o observado na doença pulmonar obstrutiva crônica ou diabetes mellitus (Bartalena *et al.*, 2000). O reto inferior é o músculo predominantemente envolvido, seguido do reto medial, enquanto que os outros músculos são menos afetados, existindo uma preferência de acometimento central, onde os tendões são poupados, o que contribui para o diagnóstico diferencial com miosite (Dolman, 2012). O edema tecidual resultante e consequente aumento do conteúdo orbital (no interior da cavidade orbital óssea) resultam em elevação da pressão intra-orbitária.

Observa-se, ainda, extenso infiltrado inflamatório, tanto focal como difuso, principalmente no endomísio muscular e tecido adiposo intersticial, que representam as alterações inflamatórias mais precoces. Com o aumento do número de linfócitos e macrófagos, os fibroblastos intersticiais se proliferam e crescem em tamanho, produzindo grande quantidade de colágeno e mucopolissacarídeos. Nesta etapa, macroscopicamente, os músculos poderão estar aumentados, com consistência endurecida e coloração avermelhada; microscopicamente observa-se edema e fibrose, seguido de aumento do conteúdo lipídico, de água e mucina, e esta proliferação de fibroblastos no perimísio muscular pode levar à processo cicatricial com atrofia da musculatura, fibrose e, finalmente, esclerose (Dolman, 2012).

É interessante ressaltar que, as fibras musculares são relativamente poupadas na OG, sendo que o processo inflamatório se instala, sobretudo, no tecido conjuntivo

intersticial. A possibilidade da existência de auto-antígenos orbitais já foi extensamente explorada na literatura, dentre estes, a tireoglobulina, antígenos da musculatura extraocular, receptores da superfície celular (ex: Receptor de fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1)). e obviamente o receptor de TSH (TSHR) figuram entre os mais promissores candidatos (Dolman, 2012).

Retração palpebral, o achado clínico mais frequente em OG, pode ser secundária à atividade simpática exacerbada na musculatura de Müller, mas também pode ser consequência da retração do músculo elevador da pálpebra. O TRAb (Anticorpo anti-receptor do TSH) é encontrado em praticamente 100% dos pacientes com OG, correlacionando-se com a gravidade da OG (Dolman, 2012). Sexo masculino e idade também se correlacionam com a gravidade da doença, porém tabagismo é o fator de risco modificável de maior relevância em OG. O tabagismo, numa relação dose-dependente, pode influenciar negativamente na resposta ao tratamento medicamentoso, aumentando o risco de desenvolvimento da OG (Tsai *et al.*, 2011). O tabagismo também pode ser fator independentemente relacionado à maior recidiva do próprio hipertireoidismo (Hondur *et al.*, 2008). Os mecanismos desta ação deletéria do tabagismo ainda não foram completamente elucidados, porém hipóxia, modulação de citocinas pró-inflamatórias e proliferação de fibroblastos são possíveis eventos implicados (Balazs *et al.*, 1997).

A doença de Graves é também marcada pelo aumento do estresse oxidativo e aumento da geração de radicais livres de oxigênio, determinando seu papel na patogenia da OG (Maccocci *et al.*, 2011). Do ponto de vista bioquímico, uma reação oxidativa é aquela em que a perda de elétrons ocorre junto a uma liberação de hidrogênio ou captura de oxigênio. Quando acontece, é acompanhada por uma reação em que uma outra molécula é reduzida, de modo que uma reação oxidativa sempre ocorre no contexto de uma reação de oxi-redução, que é essencial para obtenção de energia que pode ser armazenada na forma de adenosina trifosfato (ATP) (Saavedra *et al.*, 2012). Processos metabólicos fisiológicos produzem grandes quantidades de oxidantes, ou radicais livres (RL), que possuem um elétron não acoplado e são, portanto, muito reativos e tendem a subtrair um elétron a partir de outras moléculas estáveis que os rodeiam, de modo a alcançar estabilidade eletroquímica. Quando esta reação ocorre, a molécula estável que perdeu o elétron torna-se, por sua vez, um RL porque um de seus elétrons é desacoplado. Isto dá origem a uma reação em cadeia que produz danos macromoleculares (lipídios, proteínas e hidrocarboneto) com consequente dano

fisiológico e metabólico (funcionalidade da membrana, respiração celular e transcrição gênica) (Saavedra *et al.*, 2012). Afim de neutralizar a atividade e as consequências dos RL, mecanismos de anti-oxidação compostos por sistemas enzimáticos e não enzimáticos atuam mutualmente para permitir um perfeito equilíbrio do estado redox. Mesmo com a produção frequente de RL, estes não são propriamente prejudiciais, pois nosso corpo já os sintetiza em pequenas quantidades para combater os agentes patogênicos. No entanto, no excesso de RL ocorre o denominado estresse oxidativo (EO). A cascata de produção de citocinas, fatores de crescimento, produzidos a partir de linfócitos T, que atacam antígenos da órbita ou até mesmo da tireoide, é que leva a proliferação de fibroblastos, adipogênese e a síntese de GAGs (Saavedra *et al.*, 2012). A participação do EO na gênese de OG tem sido o foco de muitos estudos *in vitro* e *in vivo* que sugerem que, embora a atividade dos sistemas antioxidantes esteja aumentada em vários pacientes, o nível de estresse oxidativo é demasiadamente elevado (Tsai *et al.*, 2010; Tsai *et al.*, 2011; Hondur *et al.*, 2008).



## IV. REVISÃO DA LITERATURA

### IV.1. Princípios gerais no manejo clínico da OG

O uso de glicocorticóides (GC) é bem estabelecido para o tratamento da OG há mais de 40 anos. A radioterapia orbital (RO) também é utilizada há aproximadamente 60 anos e ainda representa uma das principais vias para tratamento da doença (Bartalena *et al.*, 2000). Recentemente, alguns protocolos clínicos adotaram o tratamento combinado de GC associado a RO. Há também tratamentos não estabelecidos, como o uso da ciclosporina e da apresentação de antígenos a partir de monócitos/macrófagos, estimulando células T supressoras e inibindo a produção de citocinas. Outras novas opções terapêuticas, como análogos da somastatina e imunoglobulinas intravenosa já foram testadas, sem superioridade comprovada quando comparados ao GC e imunossuppressores convencionais (Bartalena *et al.*, 2000). Dentre as opções antinfamatórias, a colchicina também já foi utilizada em OG, pois atua inibindo a fagocitose do macrófago, reduzindo a quimiotaxia de leucócitos polimorfonucleares, com consequente diminuição da expressão de receptores de interleucina 2 (IL-2), e formação de leucotrienos, estimulando a liberação de Prostaglandina E e inibindo a secreção de imunoglobulina (Bartalena *et al.*, 2000).

Dentre as opções de agentes antioxidantes, o selênio e a pentoxifilina são dois dos mais debatidos nessa área. O selênio é mineral essencial para a síntese da selenocisteínas, que são incorporadas em várias selenoproteínas, onde o selênio age como centro oxi-redutor com função antioxidante. Devido ao seu possível papel no sistema imunológico, o selênio vem sendo investigado para doenças autoimunes da tireoide, inclusive OG (Marcocci *et al.*, 2011). A pentoxifilina é um inibidor não específico da fosfodiesterase, usado no tratamento de claudicação intermitente, e também possui efeito antiinflamatório e imunomodulador, com comprovada redução da produção, *in vitro*, de GAGs por fibroblastos orbitais (Marcocci *et al.*, 2011).

Apesar do crescente interesse nos estudos que apontam à potencial utilidade clínica dos agentes antioxidantes em pacientes com OG, ainda não há evidência científica para a utilização rotineira (Saavedra *et al.*, 2012). Poucos ensaios clínicos, não randomizados e com número reduzidos de pacientes testaram a eficácia da pentoxifilina, alopurinol e nicotinamida no tratamento de OG (Balazs *et al.*, 1997 e Bouzas *et al.*, 2000). Recentemente, um único ensaio clínico prospectivo, controlado

randomizado e multicêntrico, coordenado pelo grupo europeu de estudo da orbitopatia de graves (EUGOGO), mostrou que a suplementação de selênio durante 6 meses, em pacientes com OG moderada vivendo em área selênio-deficiente, pode melhorar significativamente a inflamação de partes moles e retração palpebral (Marcocci *et al.*, 2011).

#### IV.2. Selênio como protagonista no tratamento da OG

Em seres humanos, as funções nutricionais do selênio são realizadas pelas 25 selenoproteínas que tem selenocisteína no seu centro ativo (Kryukov *et al.*, 2003). A inserção da selenocisteína para formar uma selenoproteína é especificada pelo códon UGA no ácido ribonucleico mensageiro (RNAm), com participação de outros cofatores (Kryukov *et al.*, 2003 e Reeves e Hoffmann, 2009). Em situação de baixa ingestão de selênio, a síntese de algumas selenoproteínas (exemplo, glutathiona peroxidase, GPx4) é priorizada (Reeves e Hoffmann, 2009). Muitas selenoproteínas são enzimas essenciais e a sua importância para a saúde humana é demonstrada pelo efeito de um único polimorfismo nucleotídeo nos genes da selenoproteína em risco de doenças e na mortalidade (Rayman, 2009).

A ingestão de selênio é muito variável entre situações de excesso ou toxicidade que podem desencadear hálito alterado, perda de cabelo e unhas, além de distúrbios do sistema nervoso, pele, dentes e motricidade (Johnson *et al.*, 2010). O conteúdo de selênio na dieta vai de 7 µg até 4990 µg por dia, com média entre 40 µg/dia em países da Europa; podendo ser de 93 µg/dia (em mulheres) ou 134 µg/dia (em homens) nos Estados Unidos da América (Rayman, 2005; Fairweather-Tait *et al.*, 2011). A ingestão é mais elevada em países como Venezuela, Canadá, Estados Unidos e Japão, e muito baixa na Europa, particularmente em países do leste Europeu. China tem áreas tanto de deficiência como de excesso do selênio. Na Nova Zelândia, a ingestão cresceu após grande aumento da importação de trigo australiano rico em selênio (Rayman, 2008). Em resumo, as recomendações para o consumo de selênio são de 60 µg para homens e 53 µg para mulheres (Rayman, 2004).

Em pelo menos três estudos prospectivos (Bleys *et al.*, 2008; Akbaraly *et al.*, 2005; Ray *et al.*, 2006), demonstrou-se que altas taxas de selênio estavam associados com baixa mortalidade global. Uma associação não linear foi notada entre as taxas de selênio e mortalidade por câncer e outras causas em 13.887 participantes adultos acompanhados por 12 anos no *US Third National Health and Nutrition Examination*

*Survey*, demonstrando que concentrações séricas acima de 135 µg/L foram associadas com diminuição da mortalidade. (Bleys *et al.*, 2008).

Estudos *in vitro* e em animais mostram o selênio como importante elemento para o sistema imunológico, no entanto, em humanos, as evidências são escassas (Hoffmann *et al.*, 2010; Hoffmann, 2007; Carlson *et al.*, 2010). Suplementação de selênio, mesmo em indivíduos aparentemente sem deficiência de selênio, pode ter efeito imunoestimulatório pronunciado, com aumento da proliferação de células T ativadas, aumento da citotoxicidade linfócito-mediada e da atividade das células *natural killers* (Hoffmann *et al.*, 2010; Rayman, 2000). Num estudo caso-controle com 259 usuários de drogas infectados por HIV-1, aqueles com selênio plasmático abaixo de 135 µg/L tiveram um risco três vezes maior de desenvolver doença por mycobacterium (em 75% por tuberculose) do que os indivíduos com o selênio plasmático  $\geq 135$  µg/L (Schoenmakers *et al.*, 2010). Selênoproteínas são essenciais para a função de células T ativadas (Rayman, 2000). Células T são especialmente sensíveis ao estresse oxidativo, e células T deficientes em selenoproteínas não conseguem proliferar em resposta à estimulação do receptor de células T devido a sua inabilidade de suprimir a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) (Carlson *et al.*, 2010).

O selênio é crucial para o cérebro e na deficiência grave pode causar danos cerebrais irreversíveis. A Selenoproteína P (SEPP1) tem papel especial na distribuição de selênio para o cérebro, ligando-se ao receptor de superfície apoER2-a, membro da família de receptores lipoprotéicos (Burk e Hill, 2009). SEPP1 tem papel neuroprotetor importante, aumentando a sobrevivência neural e a prevenção da morte celular por apoptose em resposta ao desafio oxidativo induzido pela substância amilóide- $\beta$ . (Takemoto *et al.*, 2010). Nos homens, GPx4 é encontrada na mitocôndria que compõem a peça intermediária da bainha da cauda do esperma. Na fase precoce da espermatogênese, GPx4, sendo uma peroxidase com efeito antioxidante, protege o espermatozoa; já em fase mais tardia, ela forma ligações com proteínas da parte intermediária formando um componente estrutural da bainha mitocondrial circunjacente ao flagelo, que é essencial para a motilidade do esperma (Ursini *et al.*, 1999). Em mulheres, um estudo holandês com 1129 gestantes correlacionou taxas mais elevadas de prematuridade em mulheres que apresentavam níveis reduzidos de selênio no primeiro trimestre da gestação (Rayman *et al.*, 2011).

Possíveis benefícios cardiovasculares encontram suporte no fato de que as selenoproteínas previnem modificação oxidativa dos lípidos, inibem a agregação

plaquetária, e reduzem inflamação (Carlson *et al.*, 2010; Rayman *et al.*, 2011). Entretanto, estudos randomizados de suplementação do selênio não mostraram efeito protetor para doenças cardiovasculares (Flores-Mateo *et al.*, 2006; Stranges *et al.*, 2006; Lippman *et al.*, 2009). Contudo, uma metanálise de 25 estudos observacionais apontou uma significativa associação inversa entre concentração de selênio e risco de doença coronariana, particularmente em populações com baixa ingestão de selênio ou baixos níveis de selenemia (Flores-Mateo *et al.*, 2006). No que tange as neoplasias, estudos prospectivos forneceram algumas evidências de efeito benéfico do selênio para a prevenção de câncer de pulmão (Zhuo *et al.*, 2004), bexiga (Amaral *et al.*, 2010), colorretal (Peters e Takata, 2008), fígado (Yu *et al.*, 1999), estômago-cárdia, esôfago (Wei *et al.*, 2004), tireoide (Glattre *et al.*, 1989) e próstata (Peters e Takata, 2008; Etminan *et al.*, 2005; Brinkman *et al.*, 2006).

## V. METODOLOGIA

Revisão sistemática, sem metanálise, de acordo com o protocolo PRISMA de Liberati et al, 2009. Foi utilizada como base de dados a fonte PUBMED em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>, sendo a pesquisa de referência realizada e estruturada em quatro passos propostos pelo protocolo acima referido:

- 1) Uso de vocabulário técnico científico com descritores estabelecidos pelas bases de dados referenciais ou de texto completo;
- 2) Estratégia de busca estruturada com uso de termos análogos segundo descritores do assunto;
- 3) Busca sistematizada e hierarquizada;
- 4) Estratégia de busca estruturada através do emprego de operadores booleanos específicos da base de dados;

A estratégia de busca constituiu na combinação dos descritores com os operadores booleanos como descritos abaixo (quadro 1). Foi realizada a leitura dos títulos de todas as referências encontradas através da estratégia de busca descrita. A partir da leitura dos títulos, foram pré-selecionados artigos para leitura do resumo, e aqueles que não dispunham de livre acesso aos resumos foram automaticamente eliminados da revisão. Os artigos selecionados foram então designados para leitura na íntegra e somente aqueles que corresponderam aos critérios de elegibilidade foram incluídos para análise qualitativa. Não foi estipulado um período de tempo pois a amostra final ficaria ainda mais resumida devido ao pequeno número de trabalhos sobre o tema.

### V.1. Critérios de Inclusão:

V.1.1. Estudos clínicos, retrospectivos ou prospectivos, com pacientes com OG leve ou moderada;

V.1.2. Estudos *in vitro* e *in vivo*.

V.1.3. Estudos com idiomas em inglês, espanhol ou português.

### V.2. Critérios de Exclusão:

V.2.1. Artigos baseados em estudos experimentais em animais;

V.2.2. Artigos que não foram submetidos ao Conselho de Ética em Pesquisa;

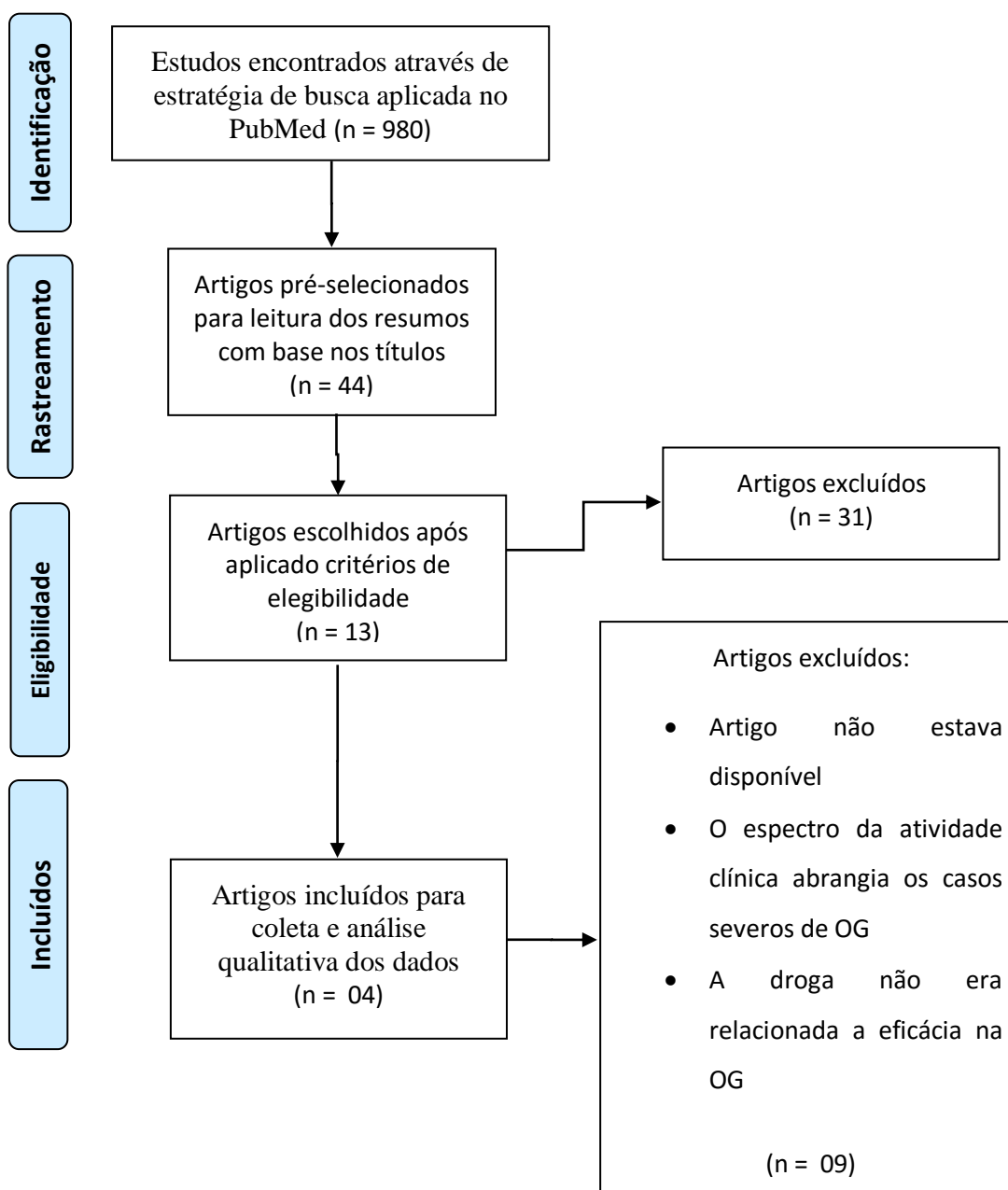
V.2.3. Estudos em humanos com doença grave ou severamente grave;

**Quadro I:** Termos utilizados para pesquisa na base de dados

<b>Língua Inglesa</b>	<b>Língua Espanhola</b>	<b>Língua Portuguesa</b>
Graves Orbitopathy	Orbitopatía de Graves	Orbitopatia de Graves
OR	OR	OR
Graves Ophthalmopathy	Oftalmopatía de Graves	Oftalmopatia de Graves
OR	OR	OR
Graves eye disease	Enfermedad ocular de	Doença Ocular de Graves
OR	Graves	OR
Thyroid Eye Disease	OR	Doença Ocular Tiroidea
OR	Enfermedad ocular tiroidea	OR
Thyroid Associated	OR	Oftalmopatia associada a
Ophthalmopathy	Oftalmopatía asociada a la	tiroide
OR	tiroide	Antioxidante
Antioxidant	Antioxidante	OR
OR	OR	Tratamento antioxidante
antioxidant treatment	tratamiento antioxidante	OR
OR	OR	Efeitos antioxidantes
Antioxidant Effects	Los efectos antioxidantes	OR
OR	OR	Ação Antioxidante
Antioxidant Action	Acción antioxidante	OR
OR	OR	Cura Antioxidante
Antioxidant healing	sanación Antioxidante	OR
OR	OR	Terapia medicamentosa
Drug therapy	Terapia con medicamentos	

## VI. RESULTADOS

### VI.1. Fluxograma de estratégia de seleção dos artigos



### VI.2. Estudos *in vivo*

#### VI.2.1. Alopurinol e a nicotinamida

Em 1999, Bouzas *et al.* realizaram um estudo prospectivo, não randomizado, comparativo, em centro de referência, com vinte e dois pacientes e com OG de leve a moderada. Onze pacientes (9M e 2H, entre 24 e 51 anos, média 36.7 ~ 6.7) formaram o

grupo de tratamento e outros onze (9M e 2H, entre 22 e 55 anos, média 34.8 ~ 7.3) constituíram o grupo controle. Todos os pacientes incluídos no estudo estavam com a doença em atividade definido através do escore de atividade clínica pontuando 4 ou mais (Mourits et al., 1989 e Mourits et al., 1997).

O grupo de tratamento recebeu alopurinol, 300 mg diariamente, via oral, e nicotinamida, 300 mg diariamente, via oral. Os pacientes do grupo controle receberam placebo por via oral. A resposta ao tratamento foi estimada num escore total ocular que foi calculado em cada visita, baseado na escala NO SPECS (Werner, 1977).

Nove dos onze pacientes (82%) tratados com os agentes antioxidantes apresentaram melhora, dois (18%) não apresentaram mudanças. Nenhum paciente apresentou piora. O escore ocular total diminuiu de 4.3 ~ 1.9 antes do tratamento para 2.0 ~ 1.0 após o tratamento. (teste t pareado,  $P = .0001$ ). Antes de iniciar o tratamento, 10 olhos (6 pacientes) apresentaram um leve decréscimo da acuidade visual relacionada a ceratopatia epitelial pontual. Nove desses olhos (5 pacientes) mostraram melhora na acuidade visual após 3 meses de tratamento. Mostrou-se uma melhora considerável a respeito do envolvimento de tecidos moles em 19 olhos (10 pacientes) dos 21 olhos afetados (11 pacientes), com um decréscimo no escore de 6.4 ~ 2.0 para 2.8 ~ 1.6. Pressão diferencial apresentou uma diminuição de 4.3 mm Hg ~ 2.4 para 1.8 mm Hg ~ 1.4. Motilidade ocular era, inicialmente, limitada para fixar o olhar superiormente e lateralmente em 13 olhos (9 pacientes) e em 11 desses olhos (7 pacientes), a motilidade ocular melhorou após o tratamento. Proptose era 20.3 mm ~ 1.9 antes do tratamento e 19.2 mm ~ 2.2 após tratamento. Ao questionário sobre qualidade de vida, 10 de 11 estavam satisfeitos com o tratamento: dois pacientes afirmaram que suas situações tiveram melhora máxima, cinco relataram melhora moderada e três disseram ter melhora mínima e um afirmou não ter obtido melhora. Nenhum efeito colateral foi reportado durante os três meses de estudo (quadro II).

No grupo controle, o escore ocular total foi 4.0 ~ 1.7 no início e 3.6 ~ 2.2 aos três meses de avaliação. Entre os pacientes do grupo controle, baseado na mudança do escore total, dois pacientes (18%) relataram piora, seis (55%) relataram nenhuma mudança e 3 (27%) relataram melhora. Isto é significativamente menor que a melhora observada no grupo de tratamento ( $P < 0.05$ ). Ao questionário, dois pacientes reportaram deterioração moderada, seis reportaram nenhuma mudança, três relataram melhora (uma melhora moderada e duas melhoras mínimas).



### VI.2.2. Selênio e a Pentoxifilina

Marcocci *et al.*, em 2011, realizou um estudo multicêntrico, duplo-cego, randomizado, envolvendo seis centros do EUGOGO, dentre os países estão Amsterdã, Alemanha, Suíça, Itália e Grécia. O selênio era dado na forma de selenito de sódio, na dose de 100 µg, duas vezes ao dia, a pentoxifilina (trental) foi dada na dose de 600 mg, duas vezes ao dia, e o placebo era dado duas vezes ao dia.

De janeiro de 2005 à janeiro de 2009, um total de 204 pacientes elegíveis foram convidados a participar do estudo, sendo a amostra final de 152 pacientes (7 pacientes deixaram o estudo antes da primeira fase, 4 do grupo da pentoxifilina, alegando efeitos adversos, e outros 3 sem causa aparente). 54 pacientes foram alocados no grupo do selênio (média de idade 43.0 ~ 11.0, 48M e 6H), 48 no grupo da pentoxifilina (média de idade 43.7 ~ 12.4, 37M e 9H) e 50 no placebo (média de idade 44.6 ~ 10.7, 41M e 9H).

Aos 6 meses, uma grande proporção dos pacientes do grupo tratado com selênio relataram melhoria na qualidade de vida quando comparado ao grupo placebo ( $P < 0,001$ ), e quando comparados a respeito da taxa de piora da qualidade de vida pelo tratamento, o grupo do selênio obteve uma taxa substancialmente menor comparado ao placebo (17% vs 43%,  $P = 0.004$ ). No resultado oftalmológico geral aos 6 meses, o grupo do selênio teve um resultado estatisticamente significativo comparado ao placebo ( $P = 0,01$ ), e não houve diferença significativa entre o grupo da pentoxifilina e o placebo ( $P = 0.12$ ). O efeito benéfico na qualidade de vida e na avaliação ocular geral no grupo do selênio persistiu por 6 meses após o fim da terapia, e os resultados continuaram sendo melhores no grupo do selênio do que no grupo placebo ( $P < 0.001$  para qualidade de vida e  $P = 0.007$  para avaliação ocular).

### VI.2.3. Colchicina

Estudo randomizado, duplo-cego, realizado por Stamato, et al., 2006, no Brasil, com 25 participantes (16M e 9H, idades entre 23 e 66 anos, média 41 anos), onde foram divididos em dois grupos (G1,  $n = 12$  e G2,  $n = 13$ ), onde o G1 foi tratado com dose oral de colchicina, 1,5 mg/dia por 1 mês, passando a dose de 1 mg/dia por mais 2 meses.

**Quadro II.** Dados demográficos e sintomas dos pacientes do grupo de tratamento antes e após tratamento

Caso	Idade/Sexo	Dor retro-ocular		Dor à movimentação ocular		Diplopia		Problemas estéticos		Sensação de corpo estranho e Epífora		Auto-avaliação total dos pacientes após o tratamento
		Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	
1	36 F	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	Melhora moderada
2	32 F	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	Melhora máxima
3	39 F	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	Melhora moderada
4	51 F	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	Melhora máxima
5	38 F	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	Melhora mínima
6	24 F	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	Melhora mínima
7	37 F	+	-	+	-	+	+	-	-	+	-	Melhora moderada
8	40 M	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	Melhora moderada
9	34 F	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	Melhora mínima
10	32 F	-	-	+	-	+	-	+	+	+	-	Melhora moderada
11	41 F	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	Sem melhora

F = feminino; M = masculino; + = presença; - = ausência.

Fonte: Traduzido de Bouzas, et al., 2000.

G2 foi tratado com prednisona, 0,75 mg/kg/dia por um mês, e posteriormente, redução da dose por mais dois meses. Ambos os grupos eram similares no sexo, idade e hábito de fumar. Um paciente do G1 foi excluído devido ao desenvolvimento de hipotireoidismo e dois pacientes do G2 foram excluídos devido a efeitos colaterais da prednisona (hipertensão, ganho de peso, edema). O escore de atividade clínica (EAC) no G1 era de 5.0 e após o tratamento caiu para 3.0. Da mesma forma, em G2, o EAC inicial era de 4.0 e passou para 1.0 ( $p < 0.0001$  para G1 e  $p = 0.0003$  para G2), e após 3 meses o efeito terapêutico se equipareou em ambos os grupos. A intensidade do sinal à ressonância (ISR) no G1 na fase inicial era de 1.14 e depois caiu para 1.07 ( $p = 0.01$ ) e no G2 o valor inicial era de 1.27 e após tratamento caiu para 0.67 ( $p = 0.01$ ), sem diferença significativa entre os dois grupos. Nenhum dos pacientes do G1 tiveram efeitos adversos ao uso da droga, já no G2, além dos 2 pacientes excluídos no começo do estudo, ocorreram, dentre os efeitos adversos, ganho de peso (3), edema (3), queixas gástricas (2), hirsutismo (1), fraqueza (1), depressão (1) e hipertensão (4).

### VI.3. Estudo *in vitro*

#### VI.3.1. N-acetilcisteína (NAC) e Vitamina C

Tsai et al, em 2013, publicou um estudo em que foram utilizadas culturas de fibroblastos da órbita obtidos pela remoção cirúrgica de 7 pacientes com OG (5M e 2H, média de idade 37.6 anos) e outras culturas obtidas de tecidos normais de outros 5 pacientes com idades equivalentes que foram submetidos a cirurgia por condições não inflamatórias (4M e 1H, média de idade 35.2 anos). Nenhum dos pacientes eram fumantes.

As células foram tratadas com diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) (3.125, 6.25, 12.5, 25, 50 e 100 M) por 24h e foram pré-tratadas com NAC (100 e 200  $\mu M$ ) ou vitamina C (250 e 500  $\mu M$ ) respectivamente, por 1h, seguida do tratamento com  $H_2O_2$  por 24h. Baixas concentrações de  $H_2O_2$  aumentou a sobrevivência dos fibroblastos orbitais da OG (média de crescimento: 16,4%) com o pico de proliferação na concentração de 6.25  $\mu M$  ( $p = 0.0001$ ). Quando os fibroblastos orbitais originados dos pacientes OG positivos foram expostos à concentração de 50  $\mu M$  ou mais, uma citotoxicidade importante foi observada ( $p = 0.0038$ ), e quando comparada às células de cultura normais, uma citotoxicidade importante só foi observada a partir de concentrações de 100  $\mu M$  ( $p = 0.0011$ ).

Foi possível perceber que havia uma diferença basal na expressão de fator de crescimento tumoral beta 1 (TGF- $\beta$ 1) e interleucina beta 1 (IL-1 $\beta$ ) dos fibroblastos oriundos dos pacientes portadores da OG quando comparado aos fibroblastos normais ( $p < 0.001$  e  $p < 0.001$ , respectivamente). A pré-incubação com 100  $\mu$ M ou 200  $\mu$ M de NAC diminuiu significativamente a proliferação induzida dos fibroblastos orbitais dos pacientes GO positivos ( $p < 0.001$  e  $p < 0.0001$ , respectivamente), mesmo resultado esperado aconteceu para a vitamina C, nas doses de 250  $\mu$ M e 500  $\mu$ M ( $p < 0.0048$  e  $p < 0.0001$ , respectivamente), o que levou também a uma redução da expressão intracelular de IL-1 $\beta$  e TGF- $\beta$ 1 dos fibroblastos orbitais OG positivos ( $p < 0.05$  e  $p < 0.001$ , respectivamente) quando tratados com NAC a 200  $\mu$ M e quando tratados com Vitamina C a 500  $\mu$ M (IL-  $\beta$ 1,  $p < 0.005$  e TGF-  $\beta$ 1,  $p < 0.001$ ).

## VII. DISCUSSÃO

Há atualmente poucos estudos que comprovam a eficácia dos antioxidantes no tratamento da OG. Os estudos em sua grande maioria tem amostra pequena, poucos deles são estudos randomizados e duplo-cego, e parte deles ainda são estudos *in vitro*, sem eficácia do antioxidante em questão comprovada em testes realizados em humanos. Em alguns casos, como no estudo realizado por Bouzas *et al*, em 1999, apesar do estudo ter alcançado um bom desfecho de melhora da qualidade de vida e dos sintomas oculares, era um estudo não randomizado com uma amostra reduzida de apenas vinte e dois pacientes. Não significa que a eficácia dos antioxidantes estudados não tenha sido comprovada, mas se tratando de um estudo populacional, devido a essas limitações não é possível ter uma certeza quanto a eficácia se as drogas fossem aplicadas em maior escala. Em contraste, o trabalho realizado por Marcocci *et al*, em 2011, foi um estudo multicêntrico, duplo-cego, randomizado, que conseguiu chegar a um desfecho importante, mostrando que o selênio, antioxidante importante e debatido em muitas outras áreas da saúde, foi capaz de melhorar a qualidade de vida quando comparado ao grupo placebo, além de ter melhorado também o quadro oftalmológico geral, não sendo possível abranger a mesma conclusão comparado à pentoxifilina. Entretanto, algumas coisas precisam ser questionadas sobre o estudo. No próprio artigo os autores mencionam que os pacientes que foram incluídos estão sob influência de uma área pobre em selênio, podendo então responder de maneira superestimada quando ocorre então a reposição do composto. Se os pacientes em questão tivessem suas taxas de selênio corrigidas antes do estudo ser seguido será que os resultados seriam os mesmos. Será que o poder antioxidante do selênio seria capaz de reverter a OG? E como foi citado em alguns estudos, o tabaco está relacionado a piora da doença, e não foi citado em nenhum momento do artigo de Marcocci *et al* se foram excluídos ou incluídos os pacientes tabagistas.

No estudo brasileiro da colchicina realizado por Stamato *et al*, em 2006, foi um estudo que demonstrou efeito positivo do antioxidante, tanto cumprindo seu papel de melhorar os sintomas como não apresentando efeitos adversos, quando comparado ao antiinflamatório. Porém foi um estudo com uma amostra pequena, de apenas 25 participantes. Talvez a importância desse estudo seja atribuída em demonstrar o valor de uma droga antioxidante frente a uma doença inflamatória e como a mesma pode alcançar bons resultados quando comparado aos tratamentos estabelecidos com drogas como o corticoide, que por muitas vezes traz efeitos adversos indesejados e que

poderiam ser evitados com o uso de outra droga sem que o paciente seja prejudicado por isso. O estudo *in vitro* por sua vez veio demonstrar o que já foi comprovado em estudos em humanos, porém de uma forma experimental e molecular. Os resultados foram similares aos estudos anteriores no quesito que os antioxidantes tem a capacidade de reduzir a inflamação e produção de fatores de crescimento relacionados com a patogênese da OG.

## VIII. CONCLUSÕES

Apesar das limitações desses estudos, é possível perceber uma nova brecha na área de tratamento da OG que antes não passava de especulação e hoje é possível que seja o futuro. Já foi descrito muitos outros métodos de tratamento para a doença, como uso de corticoterapia, radiação e até cirurgia para tratar todos os graus da doença. Agora, com alguns resultados promissores a respeito da eficácia dos antioxidantes perante uma doença inflamatória como a OG, se faz necessário que mais estudos randomizados, multicêntricos, duplo-cego, comparativos, e mais padronizados, levando em conta alguns fatores de risco que agravam mais ainda o quadro da doença e pode ser um *bias* nesses estudos, afim de que se alcance uma comprovação do real valor dos antioxidantes como um método de tratamento para essas doenças.

Os antioxidantes, como foi mostrado até em um dos estudos, tem efeitos adversos muito inferiores quando comparado aos outros métodos de tratamentos já descritos na literatura, e se for comprovado através de mais estudos sobre seu impacto na melhoria da qualidade de vida e dos sintomas das OG de leve à moderada será um ganho maior para pessoas que ainda são submetidas a métodos invasivos ou com uma gama muito grande de efeitos adversos. Para o Brasil, que possui uma flora rica em alimentos ricos em antioxidantes, o tratamento baseado na suplementação de selênio, e outros compostos seriam facilmente manejados, corroborando mais ainda a importância de se aprofundar sobre a eficácia destes compostos no tratamento da OG.

## IX. SUMMARY

### **USE OF ANTIOXIDANT AGENTES IN THE TREATMENT OF GRAVES' ORBITOPATHY MILD TO MODERATE: LITERATURE REVIEW**

The graves orbitopathy (GO), most frequent extra thyroid manifestation, possess an undefined pathogenesis and may lead to a disfiguring state, with a high functional loss and a deep impact on the life's quality of individuals affected and despite the recent progresses of it's physiology understanding, the therapeutics are still controversy. The use of glucocorticoids (GC) is well established for the treatment of GO for over 40 years and among the antioxidant options, the selenium and pentoxiphyline are the two most discussed in this area, although the rising interest on studies that point out the potential clinical utility of antioxidant agents in patients with GO, there is still no scientific evidence for a routine management. **Objectives:** Evaluate studies about the efficacy of treatments using antioxidants on GO mild to moderate and determinate if there is an improvement on life's quality compared to other established treatments. **Methods:** Systematic review of the scientific literature, without meta-analysis, according to the PRISMA protocol and using PubMed database. **Results:** Through research strategies applied on PubMed, there were found 980 articles, where 44 were selected for summary readings based on their titles, and only 13 articles were included due the eligibility criteria, which only 4 were included for qualitative analysis of data. **Discussion:** Despite some studies demonstrate the efficacy of antioxidant agents against the smooth to moderated Graves Disease symptoms, the limitations of such studies about their amount of patients, their inappropriate studies designs, raise doubts regarding the real capacity of antioxidants decrease the GO symptoms. **Conclusions:** It is possible to affirm that there is a necessity of execution of stronger studies, able to amplify and validate externally the belief that antioxidant agents are effective to oppose the smooth and moderate symptoms of GO, since a few studies could prove such efficiency, but some of them fall short about the quality of study performed.

**Key-words:** Graves orbitopathy; Antioxidant treatment; Graves ophthalmopathy



## IX. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Akbaraly NT, Arnaud J, Hininger-Favier I, Gourlet V, Roussel AM, Berr C. Selenium and mortality in the elderly: results from the EVA study. *Clin Chem*. 2005;51(11):2117-23.
2. Amaral AF, Cantor KP, Silverman DT, Malats N. Selenium and bladder cancer risk: a meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2010; 19(9):2407-15.
3. Balazs C, Kiss E, Vamos A, Molnar I, Farid NR. Beneficial effect of pentoxifylline on thyroid associated ophthalmopathy (TAO): a pilot study. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82(6):1999-2002.
4. Bartalena L, Pinchera A, Marcocci C. Management of Graves' ophthalmopathy: reality and perspectives. *Endocr Rev*. 2000; 21(2):168-99.
5. Bleys J, Navas-Acien A, Guallar E. Serum selenium levels and all-cause, cancer, and cardiovascular mortality among US adults. *Arch Intern Med*. 2008;168(4):404-10.
6. Brinkman M, Reulen RC, Kellen E, Buntinx F, Zeegers MP. Are men with low selenium levels at increased risk of prostate cancer? *Eur J Cancer* 2006;42:2463-71.
7. Bouzas EA, Karadimas P, Mastorakos G, Koutras DA. Antioxidant agents in the treatment of Graves' ophthalmopathy. *Am J Ophthalmol*. 2000;129(5):618-22.
8. Burch HB, Lahiri S, Bahn RS, Barnes S. Superoxide radical production stimulates retroocular fibroblast proliferation in Graves' ophthalmopathy. *Exp Eye Res*. 1997;65(2):311-6.
9. Burk RF, Hill KE. Selenoprotein P-expression, functions, and roles in mammals. *Biochim Biophys Acta*. 2009; 1790(11):1441-7.
10. Carlson BA, Yoo MH, Shrimali RK, Irons R, Gladyshev VN, Hatfield DL *et al*. Role of selenium-containing proteins in T-cell and macrophage function. *Proc Nutr Soc*. 2010;69(3):300-10.

11. Dolman PJ. Evaluating Graves' orbitopathy. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2012;26(3):229-48.
12. Etminan M, FitzGerald JM, Gleave M, Chambers K. Intake of selenium in the prevention of prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Causes Control.* 2005;16(9):1125-31.
13. Fairweather-Tait SJ, Bao Y, Broadley MR, Collings R, Ford D, Hesketh JE, *et al.* Selenium in human health and disease. *Antioxid Redox Signal.* 2011;14(7):1337-83.
14. Flores-Mateo G, Navas-Acien A, Pastor-Barriuso R, Guallar E. Selenium and coronary heart disease: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr.* 2006;84(4):762-73.
15. Glattre E, Thomassen Y, Thoresen SO, Haldorsen T, Lund-Larsen PG, Theodorsen L, *et al.* Prediagnostic serum selenium in a case-control study of thyroid cancer. *Int J Epidemiol.* 1989;18(1):45-49.
16. Hales IB, Rundle FF. Ocular changes in Graves' disease: A long-term follow-up study. *Q J Med.* 1960;29:113-26.
17. Hoffmann FW, Hashimoto AC, Shafer LA, Dow S, Berry MJ, Hoffmann PR. Dietary selenium modulates activation and differentiation of CD4+ T cells in mice through a mechanism involving cellular free thiols. *J Nutr.* 2010;140(6):1155-61.
18. Hoffmann PR. Mechanisms by which selenium influences immune responses. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2007;55(5):289-97.
19. Hondur A, Konuk O, Dincel AS, Bilgihan A, Unal M, Hasanresoglu B. Oxidative stress and antioxidant activity in orbital fibroadipose tissue in Graves' ophthalmopathy. *Curr Eye Res.* 2008;33(5):421-7.
20. Genol Saavedra I, Toledano Fernández N, Nogueira Goriba A. Oxidative stress and Graves' orbitopathy, *Arch Soc Esp Oftalmol.* 2012;87(2):235-6.
21. Johnson CC, Fordyce FM, Rayman MP. Symposium on 'Geographical and geological influences on nutrition': factors controlling the distribution of

- selenium in the environment and their impact on health and nutrition. *Proc Nutr Soc.* 2010;69(10):119-32
22. Kryukov GV, Castellano S, Novoselov SV, Lobanov AV, Zehtab O, Guigó R, *et al.* Characterization of mammalian selenoproteomes. *Science.* 2003;300(5624):1439-43.
  23. Lippman SM, Klein EA, Goodman PJ, Lucia MS, Thompson IM, Ford LG, *et al.* Effect of selenium and vitamin E on risk of prostate cancer and other cancers: the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT). *JAMA.* 2009;301(1):39-51.
  24. Marcocci C, Kahaly GJ, Krassas GE, Bartalena L, Prummel M, Stahl M, *et al.* Selenium and the course of mild Graves' orbitopathy. *N Engl J Med.* 2011;365(20):1920-31.
  25. Mourits MP, Koornneef L, Wiersinga WM, Prummel MF, Berghout A, van der Gaag R. Clinical criteria for the assessment of disease activity in Graves' ophthalmopathy: a novel approach. *Br J Ophthalmol.* 1989;73(8):639-44.
  26. Mourits MP, Prummel MF, Wiersinga WM, Koornneef L. Clinical activity score as a guide in the management of patients with Graves' ophthalmopathy. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1997;47(1):9-14.
  27. Perros P, Crombie AL, Kendall-Taylor P. Natural history of thyroid associated ophthalmopathy. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1995;42(1):45-50.
  28. Peters U, Takata Y. Selenium and the prevention of prostate and colorectal cancer. *Mol Nutr Food Res.* 2008;52(11):1261-72.
  29. Ray AL, Semba RD, Walston J, Ferrucci L, Coppola AR, Ricks MO, *et al.* Low serum selenium and total carotenoids predict mortality among older women living in the community: the women's health and aging studies. *J Nutr.* 2006;136(1):172-6.
  30. Rayman MP, Stranges S, Griffin BA, Pastor-Barriuso R, Guallar E. Effect of supplementation with high-selenium yeast on plasma lipids: a randomized, controlled trial. *Ann Intern Med.* 2011;154(10):656-65.

31. Rayman MP, Wijnen H, Vader H, Kooistra L, Pop V. Maternal selenium levels during early gestation and risk for preterm birth. *CMAJ*. 2011;183(5):549-55.
32. Rayman MP. Food-chain selenium and human health: emphasis on intake. *Br J Nutr*. 2008;100(2):254-68.
33. Rayman MP. Selenium in cancer prevention: a review of the evidence and mechanism of action. *Proc Nutr Soc*. 2005;64(4):527-42.
34. Rayman MP. Selenoproteins and human health: insights from epidemiological data. *Biochim Biophys Acta*. 2009;1790(11):1533-40.
35. Rayman MP. The importance of selenium to human health. *Lancet*. 2000;356(9225):233-41.
36. Rayman MP. The use of high-selenium yeast to raise selenium status: how does it measure up? *Br J Nutr*. 2004;92(4):557-73.
37. Reeves MA, Hoffmann PR. The human selenoproteome: recent insights into functions and regulation. *Cell Mol Life Sci*. 2009;66(15):2457-78.
38. Schoenmakers E, Agostini M, Mitchell C, Schoenmakers N, Papp L, Rajanayagam O, *et al*. Mutations in the selenocysteine insertion sequence-binding protein 2 gene lead to a multisystem selenoprotein deficiency disorder in humans. *J Clin Invest*. 2010;120(12):4220-35.
39. Solem JH, Seggaard E, Ytteborg J. The course of endocrine ophthalmopathy during antithyroid therapy in a prospective study. *Acta Med Scand*. 1979;205(1-2):111-4.
40. Stamato FJ, Maciel RM, Manso PG, Wolosker AM, Paiva ER, Lopes AC, *et al*. Colchicine in the treatment of the inflammatory phase of Graves' ophthalmopathy: a prospective and randomized trial with prednisone. *Arq Bras Oftalmol*. 2006;69(6):811-6.
41. Stranges S, Marshall JR, Trevisan M, Natarajan R, Donahue RP, Combs GF, *et al*. Effects of selenium supplementation on cardiovascular disease incidence and mortality: secondary analyses in a randomized clinical trial. *Am J Epidemiol*. 2006;163(8):694-9.

42. Streeten D, Anderson G Jr, Reed GF, Woo P. Prevalence, natural history and surgical treatment of exophthalmos. *Clin Endocrinol.* 1987;27(1):125-33.
43. Takemoto AS, Berry MJ, Bellinger FP. Role of selenoprotein P in Alzheimer's disease. *Ethn Dis.* 2010;20(1 Suppl 1):S1-92-5.
44. Tsai CC, Wu SB, Cheng CY, Kao SC, Kau HC, Chiou SH, *et al.* Increase oxidative DNA damage, lipid peroxidation, and reactive oxygen species in cultured orbital fibroblasts from patients with Graves' ophthalmopathy: evidence that oxidative stress has a role in this disorder. *Eye (Lond).* 2010;24(9):1520-5.
45. Tsai CC, Wu SB, Cheng CY, Kao SC, Kau HC, Lee SM, *et al.* Increased response to oxidative stress challenge in Graves' ophthalmopathy orbital fibroblasts. *Mol Vis.* 2011;17:2782-8.
46. Tsai CC, Wu SB, Kao SC, Kau HC, Lee FL, Wei YH. The protective effect of antioxidants on orbital fibroblasts from patients with Graves' ophthalmopathy in response to oxidative stress. *Mol Vis.* 2013;19:927-34.
47. Ursini F, Heim S, Kiess M, Maiorino M, Roveri A, Wissing J, *et al.* Dual function of the selenoprotein PHGPx during sperm maturation. *Science.* 1999;285(5432):1393-6.
48. Wei WQ, Abnet CC, Qiao YL, Dawson SM, Dong ZW, Sun XD, *et al.* Prospective study of serum selenium concentrations and esophageal and gastric cardia cancer, heart disease, stroke, and total death. *Am J Clin Nutr.* 2004;79(1):80-5.
49. Werner SC. Modification of the classification of the eye changes of Graves' disease: recommendations of the Ad Hoc Committee of the American Thyroid Association. *J Clin Endocrinol Metab.* 1977;44(1):203-4.
50. Yu MW, Horng IS, Hsu KH, Chiang YC, Liaw YF, Chen CJ. Plasma selenium levels and risk of hepatocellular carcinoma among men with chronic hepatitis virus infection. *Am J Epidemiol.* 1999;150(4):367-74.

51. Zhuo H, Smith AH, Steinmaus C. Selenium and lung cancer: a quantitative analysis of heterogeneity in the current epidemiological literature. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2004;13(5):771-8.