

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRAFICA E POR RESSONÂNCIA
MAGNÉTICA DA GLÂNDULA TIREOIDE HÍGIDA EM EQUINOS
ADULTOS

GUSTAVO FERNANDES VIANA

Botucatu-SP
Novembro de 2018

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA E POR RESSONÂNCIA
MAGNÉTICA DA GLÂNDULA TIREOIDE HÍGIDA EM EQUINOS
ADULTOS

GUSTAVO FERNANDES VIANA

Tese apresentada junto ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Animal como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor.

Orientadora: Professora Associada Vânia Maria de Vasconcelos Machado.

Coorientador: Professor Doutor José Nicolau Próspero Puoli Filho.

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Viana, Gustavo Fernandes.

Avaliação ultrassonográfica e por ressonância magnética da glândula tireoide hígida em equinos adultos / Gustavo Fernandes Viana. - Botucatu, 2018

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Vânia Maria de Vasconcelos Machado
Coorientador: José Nicolau Próspero Puoli Filho
Capes: 50501038

1. Equino. 2. Ressonância magnética. 3. Tireoide - Doenças. 4. Ultrassonografia veterinária.

Palavras-chave: RM; cavalo; lobos tireoidianos; ultrassom.

Nome do autor: Gustavo Fernandes Viana

Título: Avaliação ultrassonográfica e por ressonância magnética da glândula tireoide hígida em equinos adultos.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Vânia Maria de Vasconcelos Machado

Presidente e Orientadora

Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP – Botucatu/SP

Prof. Dr. André Luiz Filadelpho

Membro Titular

Departamento de Anatomia

Instituto de Biociências - UNESP – Botucatu/SP

Prof. Dr. Rogério Martins Amorim

Membro Titular

Departamento de Clínica Veterinária

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP- Botucatu/SP

Prof. Dr. Marcello Henrique Nogueira-Barbosa

Membro Titular

Departamento: Clínica Médica

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo (USP).

Prof. Dr. Seizo Yamashita

Membro Titular

Departamento de Doenças Tropicais e Diagnóstico por imagem.

Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP.

Data da defesa da tese de doutorado: 12 de novembro de 2018.

DEDICATÓRIA

A Deus:

“Ainda que minha mente e meu corpo enfraqueçam, Deus é a minha força. Ele é tudo o que eu sempre preciso.” (SALMO 73:26).

Aos meus pais (Domingos e Ana) e meus irmãos (Luciana e Khalil):

“Hoje sou muito melhor do que antes e devo parte dessa conquista a vocês. Agradeço por me darem as mãos nas horas mais difíceis da minha vida.”
(Adaptado - Cristiane Maria Martins Galvão).

Aos meus amigos e familiares:

“Obrigado por contribuírem para o meu sucesso e crescimento como pessoa. Sou o resultado da confiança e da força de cada um de vocês.” (Adaptado - Augusto Branco).

Àqueles que me desestimularam profissionalmente:

"Aprendi o silêncio com os faladores, a tolerância com os intolerantes, a bondade com os maldosos; e, por mais estranho que pareça, sou grato a esses professores." (Khalil Gibran).

Aos animais

*Aos cavalos:

Por me darem a oportunidade de ser hoje um melhor médico veterinário. Por terem me permitido adentrar em seus mundos e fazer com que eu percebesse que temos muito em comum. Sabendo lidar melhor com a natureza equina, passei a entender melhor a minha.

*À Jinkx, Carrapeta, Anita e os eternos Quim e Nica (meus cães):

"Não haverá um dia sequer que passe sem que eles atravessem os meus pensamentos. A partir deles, consegui buscar inspiração para a vida e entender minha verdadeira missão. São os únicos seres ainda capazes de surpreender os humanos e fazê-los analisar suas condutas perante a vida. Com eles aprendi a superar os obstáculos e ultrapassar meus próprios limites, unindo determinação e dignidade à minha capacidade de ser racional. A vocês,

companheiros, dedico a minha vida e expresso minha eterna gratidão por terem participado dos meus sonhos de infância, da minha determinação do presente e, certamente, da realização do meu futuro." (Adaptado - Ana Elisa Arruda Rocha).

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha orientadora, Profa. Vânia Machado, por ter me acolhido humildemente como seu orientado. Obrigado pela oportunidade, confiança e incentivo durante a minha trajetória no Doutorado. Agradeço pelo apoio durante os momentos de desânimo e por ter acreditado no meu potencial, quando muitas vezes me subestimei.

Ao Prof. Nicolau pela colaboração no desenvolvimento do meu trabalho de Doutorado, estabelecendo comigo uma aliança que se traduziu numa coorientação amigável.

Aos meus colegas, amigos e funcionários do Hospital Veterinário -FMVZ pela acolhida e apoio nos momentos que mais precisei durante os meus estudos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio financeiro e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo incentivo para a execução deste trabalho.

À FMVZ – UNESP, pela oportunidade de cursar a Pós-graduação, por ceder suas instalações e serviços para que este trabalho pudesse ser realizado.

À família da eterna República Ilha Quadrada (Alexandre, Raíssa, Naiana, Samuel e Keylla) pela parceria durante esses quase quatro anos. Obrigado pelo apoio, companhia e paciência durante os meus momentos conturbados. Obrigado pela compreensão! Sabem que podem contar comigo sempre.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

- Figura 1 Desenhos esquemáticos mostrando a correlação entre as principais estruturas anatômicas adjacentes à glândula tireoide equina no plano sagital e transversal. G. S. P.: glândula salivar parótida; L. C. P.: linfonodo cervical profundo; G. T.: glândula tireoide (lobo tireoidiano direito); M. E.: músculo esternocéfálico; V.LF.: veia linguofacial; M. OEH.: músculo omo/esternohioideo. 6
- Figura 2 Descrição das artérias envolvidas na vascularização da glândula tireoide. 7
- Figura 3 Padrão Doppler espectral da artéria ilíaca esquerda. Observam-se picos sistólicos (seta cheia) nítidos com janela espectral evidente (perfil de velocidade de fluxo achatado). Redução súbita da velocidade com formação de pequena onda retrógrada (seta) seguida por aumento da velocidade (seta vazia) (padrão de fluxo de alta resistência). (SZATMARI et al., 2001). 16
- Figura 4 Padrão Doppler espectral da artéria renal direita. Presença de duplo pico sistólico amplo (seta pontilhada e cheia). Redução da velocidade, mas sem formação de onda retrograda. Depois, observa-se formação de onda de alta velocidade (seta vazia) e redução gradual da mesma (padrão de fluxo de baixa resistência). (SZATMARI et al., 2001). 16
- Figura 5 Padrão Doppler espectral da artéria mesentérica cranial. Pico sistólico amplo (seta cheia), mas sem janela espectral nítida (perfil de velocidade de fluxo intermediário). Depois, observa- 16

se redução da velocidade, mas sem fluxo reverso. Aumento de velocidade (seta vazia), seguida pela redução e aumento da mesma (seta pontilhada) (padrão de fluxo de resistência intermediária). (SZATMARI et al., 2001).

CAPITULO 2

- | | | |
|----------|---|----|
| Figure 1 | Fig. 1: Thyroid lobe in the (A) transverse and (B) longitudinal planes by ultrasonography. In A, the height and width are represented by continuous and dotted lines, respectively. In B, the length is represented by a continuous line (largest axis). Dr: dorsal; La: lateral; Me: medial; Ve: ventral. | 31 |
| Figure 2 | Relation between the thyroid gland total volume and horses' body weight by observers 1 (R^2 : 0.33), 2 (R^2 : 0.32) and 3 (R^2 : 0.36). Lines represent linear regression line; USG: ultrasonography; R^2 : regression coefficient. | 31 |
| Figure 3 | Presentation of the thyroid lobe formats, showing a pair of lobes with distinct aspects [(A) left side, (B) right side] and another pair of similar lobes [(C) left side, (D) right side]. In (A), (B) and (D), it is observed that the gland is hyperechogenic in relation to the sternocephalic muscle (SM). In (C), the lobe is isoecogenic in relation to the SM. | 32 |
| Figure 4 | Right thyroid lobe presenting moderately irregular contour (arrows) in the medial portion by ultrasonography. | 32 |
| Figure 5 | Spectral Doppler of cranial thyroid artery (PRF: 2.8 KHz, angle: 50°). The dotted and continuous arrows indicate a double systolic peak, with the second showing greater amplitude [Early systolic peak (ESP)]. The velocity distribution is broad, without a spectral window, characterizing a parabolic flow velocity profile. The velocity | 33 |

decreases suddenly after the systolic peak but without diastolic reverse flow. Next, a high-velocity wave is observed (empty arrow), followed by gradual reduction of velocity, which characterizes the waveforms with a low-resistance flow pattern.

- Figure 6 Vascularization assessment in the cranial, middle and caudal 33 regions of the thyroid lobe by color Doppler. (A) Calibrated and non-tortuous cranial thyroid artery directed towards the cranial pole of the thyroid lobe. (B) The tortuous branch of the cranial thyroid artery is highlighted proximal to the cranial pole of the thyroid lobe. (C) The caudal thyroid artery supplying the thyroid lobe in its caudal portion. Intralobar vessel characteristics of the (D) cranial, (E) middle and (F) caudal regions of the thyroid lobe.

CAPÍTULO 3

- Figure 1 Horse in right lateral decubitus, with a coil positioned at the 56 level of the trachea and larynx during the MRI study of the normal thyroid gland.
- Figure 2 Fast gradient echo T1-weighted sequence on the transverse 56 (A) and sagittal (B and C) planes of the equine neck proximal region. In A, the height and width of the thyroid lobes are represented by continuous and dotted lines, respectively. In B and C, the length is represented by the continuous line, in the right and left thyroid lobe, respectively. Dr: dorsal; La: lateral; Me: medial; Ve: ventral.
- Figure 3 The transverse fast gradient echo T1-weighted (A) and dorsal 57 spin echo T1-weighted (B) illustrate the proximal and ventral

region of a horse. Sagittal fast spin echo T2-weighted (C) and sagittal STIR (D) belong to another animal. In A, B and D, thyroid lobes present as iso- or slightly hyperintense in relation to the adjacent muscles. Already in C, the gland is shown hyper- or slightly isointense in relation to the adjacent muscles and hypointense in relation to perithyroid fat. In this sequence, it is not possible to differentiate between the thyroid and fatty tissues. In D, the thyroid lobe may be better distinguished in relation to adjacent tissues. 1 – esophagus; 2 – cranial deep cervical lymph node; 3 – carotid artery; 4 – parotid salivary gland; 5 – thyroid gland; 6 – sternocephalic muscle; 7 – sternothyroid muscle; and 8 – omohyoid and sternal-hyoid muscles; 10 – carotid artery; 11 – cranial thyroid artery; 12 – thyroid lobe; 13 – omohyoid and sternal-hyoid muscles; 14 – sternothyroid muscle (Methodology of Rohen & Yokoshi) [18].

Figure 4 Relation between the thyroid gland total volume and horses' 58
body weight by observers 1 (R^2 : 0.60), 2 (R^2 : 0.51) and 3 (R^2 :
0.61). Lines represent linear regression line. MRI: Magnetic
resonance imaging. R^2 : regression coefficient.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

- | | | |
|---------|---|----|
| Table 1 | Rating of interobserver agreement according to the intraclass correlation coefficient (Fleiss et al. 2003). | 28 |
| Table 2 | The descriptive statistics and comparison between the left (Lt) and right (Rt) thyroid lobes according to the ultrasound parameters in a total of 11 horses with an average weight of 403.45 (± 36.23) kilograms. | 28 |
| Table 3 | The means of the intraclass correlation coefficients with 95% confidence intervals for ultrasound dimensions by interobserver agreement. | 29 |
| Table 4 | The descriptive statistics and comparison between the left (Lt) and right (Rt) cranial thyroid arteries according to the parameters of spectral Doppler ultrasonography in a total of 11 horses with an average weight of 403.45 (± 36.23) kilograms. | 29 |
| Table 5 | The means of the intraclass correlation coefficients with 95% confidence intervals for spectral Doppler ultrasound parameters by interobserver agreement. | 30 |

CAPÍTULO 3

- | | | |
|---------|---|----|
| Table 1 | Rating of interobserver agreement according to the intraclass correlation coefficient (Fleiss et al. 2003). | 54 |
|---------|---|----|

Table 2	The descriptive statistics and comparison between the left (Lt) and right (Rt) thyroid lobes with the respective parameters evaluated by MRI in the fast gradient echo T1-weighted (Turbo 3D T1) image sequence in a total of 11 horses with average weight of 403.45 (± 36.23) kilograms.	54
Table 3	The Means of the intraclass correlation coefficients with 95% confidence intervals for MRI dimensions by interobserver agreement.	55

CAPÍTULO 4

Tabela 1	Comparação entre as dimensões dos lobos tireoidianos esquerdo e direito obtidos pelos avaliadores 1 e 2 através da ultrassonografia e RM.	63
----------	---	----

SUMÁRIO

RESUMO.....	1
ABSTRACT.....	2
CAPÍTULO 1.....	3
1. INTRODUÇÃO.....	4
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	5
2.1. Aspectos anatômicos da glândula tireoide equina e de suas estruturas adjacentes.....	5
2.2. Alterações dos lobos tireoidianos dos equinos	8
2.2.1. Histórico e Epidemiologia.....	8
2.2.2. Aspectos clínicos das tireopatias em equinos.....	8
2.2.3. Exames laboratoriais e patológicos para o diagnóstico de tireopatias.....	11
2.3. Ultrassonografia dos lobos tireoidianos.....	12
2.3.1. Em Equinos.....	12
2.3.2. Em outras espécies.....	14
2.4. Ressonância magnética dos lobos tireoidianos.....	17
3. OBJETIVOS.....	20
3.1. Objetivos Gerais.....	20
3.2. Objetivos Específicos.....	20
CAPÍTULO 2.....	21
ARTIGO CIENTÍFICO 1.....	21
ABSTRACT.....	22
RESUMO.....	22
INTRODUCTION.....	23
MATERIALS AND METHODS.....	23
Ethics statement.....	23
Animal selection.....	23
Laboratory exam and search of thyroid neoformations by ultrasonography.....	23
Ultrasound-guided fine needle aspiration cytology (FNAC).....	23
Ultrasonography.....	23
B-Mode Study.....	24
I - Mensuraments.....	24
II - Format, contours echotexture and echogenicity.....	24
Doppler Study.....	24

Statistical analysis.....	24
RESULTS.....	25
Animal selection.....	25
Ultrasonography.....	25
<i>I - B-Mode Study.....</i>	<i>25</i>
<i>II - Doppler Study.....</i>	<i>25</i>
DISCUSSION	25
CONCLUSIONS.....	26
Acknowledgements.....	26
Conflict of interest statement.....	26
REFERENCES.....	27
TABLES.....	28
FIGURES.....	31
CAPÍTULO 3.....	34
ARTIGO CIENTÍFICO 2.....	35
ABSTRACT.....	36
1. INTRODUCTION	37
2. MATERIALS AND METHODS.....	38
2.1 Animal selection.....	38
2.2 Laboratory exam and search of thyroid neoformations by ultrasonography.....	39
2.3 Ultrasound-guided fine needle aspiration cytology (FNAC).....	40
2.3. MRI	40
2.3.1 <i>Images Sequences.....</i>	<i>40</i>
2.3.2 <i>Contour, intensity and homogeneity of signal.....</i>	<i>41</i>
2.3.3 <i>Dimensions.....</i>	<i>41</i>
2.3.4 <i>Format and anatomical structures of the neck ventroproximal portion.....</i>	<i>42</i>
2.3.5 <i>Statistical analysis.....</i>	<i>42</i>
3. RESULTS.....	43
4. DISCUSSION.....	46
5. CONCLUSION.....	49
6. ACKNOWLEDGEMENTS.....	49
7. REFERENCES.....	50

TABLES.....	55
FIGURES.....	57
CAPÍTULO 4.....	60
DISCUSSÃO GERAL.....	61
CONCLUSÕES GERAIS.....	62
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	64

VIANA, G.F. **Avaliação Ultrassonográfica e por Ressonância Magnética da Glândula Tireoide Hígida em Equinos Adultos**. Botucatu, 2018. 69 p. Doutorado – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO – Há poucos estudos disponíveis sobre a aplicação da ultrassonografia para o diagnóstico de tireopatias em equinos e, até onde sabemos, nenhuma pesquisa foi descrita utilizando a ressonância magnética (RM) para o estudo da glândula tireoide em cavalos. Foi observado em alguns relatos de casos que o lobo tireoidiano hígido serviu de base para a avaliação do lobo contralateral alterado. Entretanto, não existem estudos mostrando a relação entre o lobo tireoidiano esquerdo e direito através de técnicas imaginológicas em equinos. A análise de reprodutibilidade pode ser usada para estimar a variação biológica e metodológica para aprovar o processo de validação dos dados. Inicialmente, este estudo objetivou determinar a confiabilidade das medidas tireoidianas, a partir da comparação entre os lobos tireoidianos esquerdo e direito; bem como avaliar os contornos, formatos, ecotextura e ecogenicidade dos lobos tireoidianos através da ultrassonografia em modo B; quali-quantitativamente caracterizar a vascularização da glândula tireoide equina através da ferramenta Doppler. Por fim, este trabalho objetivou, a partir da RM, selecionar as melhores sequências de imagens através da avaliação dos contornos, intensidade e homogeneidade do sinal da glândula tireoide hígida; determinar a confiabilidade das medidas tireoidianas, através da comparação entre os lobos tireoidianos esquerdo e direito; bem como avaliar os contornos, formatos de seus lobos e, por fim, descrever as principais estruturas anatômicas da porção ventroproximal do pescoço dos cavalos. Inicialmente, 13 cavalos com idade avançada (fator de risco para tireopatias) e clinicamente certificados de ausência de aumento de volume no pescoço foram incluídos neste estudo. Deste modo, onze cavalos com lobos tireoidianos hígidos foram selecionados através de testes laboratoriais, ultrassonografia e citologia da tireoide. Essas glândulas foram sequencialmente submetidas à análise por ultrassonografia e RM. Concluiu-se que não houve diferença entre os valores obtidos pelo estudo Doppler da artéria tireoidiana cranial esquerda e direita, sugerindo que a análise unilateral de uma das artérias pode ser utilizada como método para avaliar distúrbios difusos tireoidianos. Por RM, concluiu-se que as sequências dorsal *spin eco* ponderada em T1, sagital *fast gradiente eco* ponderada em T1, sagital *fast spin eco* ponderada em T2 e sagital STIR melhor caracterizaram a glândula tireoide quanto à definição de seus contornos e contraste de intensidade de sinal, em relação aos tecidos adjacentes. Tanto por ultrassonografia, como por RM, verificaram-se: diferenças qualitativas entre os formatos dos lobos tireoidianos direito e esquerdo e excelentes reprodutibilidades, com relação às mensurações realizadas. Deste modo, podemos sugerir que tais diferenças entre o formato dos lobos tireoidianos podem ser explicadas pela diferença significativa e/ou tendência observada no parâmetro de comprimento entre os lobos tireoidianos em ambas as metodologias de imagem. A ultrassonografia e RM foram complementares na caracterização da largura e altura da dos lobos tireoidianos, respectivamente.

Palavras-chave: RM, ultrassom, lobos tireoidianos, cavalo.

VIANA, G.F. **Ultrasonographic Features and Magnetic Resonance Imaging of the Healthy Thyroid Gland in Adult Horses**. Botucatu, 2018. 69 p. Doctorate - School of Veterinary Medicine and Animal Science, São Paulo State University.

ABSTRACT- There are few studies available on the application of ultrasonography for the diagnosis of equine thyropaties and, to the best of our knowledge, no studies have been reported demonstrating the use of magnetic resonance imaging (MRI) in thyroid evaluation in horses. It was observed in some case reports that the healthy thyroid lobe served as model for the evaluation of the altered contralateral lobe. However, there are no studies showing a positive relation between the left and right lobes by using ultrasonography and MRI in horses. Reproducibility analysis can be used to estimate the biological and methodological variation to approve the data validation process. Initially this study aimed at determining reliably of the thyroid measurements from the comparison between the left and right thyroid lobes, as well as assessing the contour, format, echotexture and echogenicity of the thyroid lobes by mode-B ultrasonography. Additionally, the equine thyroid gland vascularization was quali-quantitatively characterized the by Doppler tool. Finally, through the MRI, this study aimed to select the best imaging sequences by the evaluation the contours, intensity and homogeneity of signal of the normal thyroid; to determinate reliably their measurements from the comparison between the left and right thyroid lobes, as well as assessing the format thyroid lobes and to describe the main anatomical structures of the neck ventroproximal portion. The sample size initially was determined by the animal selection with advanced age and without volume increase in the neck proximal region. Finally, eleven horses were selected by laboratory test, search of thyroid neoformations by ultrasonography and cytology thyroid. Next, these animals were submitted to thyroid lobes evaluation by ultrasonography and MRI. It was concluded that there was no significant difference was found between the values of the left cranial thyroid artery compared to those obtained in the right cranial thyroid artery, suggesting that the analysis of the unilateral cranial thyroid artery spectral Doppler values can be used as a method for evaluating diffuse thyroid disorders. By MRI, it was concluded that the dorsal spin echo T1-weighted, sagittal fast gradient echo T1-weighted, fast spin echo T2-weighted and sagittal STIR were the sequences that best characterized the thyroid gland regarding the definition of its contours and signal intensity contrast in relation to the adjacent tissues. By ultrasonography and MRI, there were: qualitative differences between the formats of the right and left thyroid lobes and excellent reproducibility in relation to the measurements performed. Thus, we can suggest that such differences between the format of the thyroid lobes can be explained by the significant difference and/or tendency observed in the length parameter between the thyroid lobes in both imaging methodologies. The ultrasonography and MRI were complementary in the characterization of the width and height of the thyroid lobes, respectively.

Key words: MRI, Ultrasound, Thyroid lobes, Equine.

CAPÍTULO 1

1 – INTRODUÇÃO

A glândula tireoide do cavalo, localizada entre o terceiro e o sexto anel traqueal, é constituída por dois lobos imediatamente caudais à laringe, unidos normalmente por um estreito istmo fibroso. Existem variações na distância de cada lobo quanto à sua localização em relação à parte caudal da laringe. Não é incomum se observar um istmo desenvolvido, exercendo atividade glandular no cavalo adulto. A tireoide é altamente vascularizada, recebendo sangue da artéria tireoidea cranial, o maior ramo da artéria carótida comum (VENZKE, 1986).

Poucos estudos foram publicados relacionando o uso da ultrassonografia como método de análise da glândula tireoide em cavalos. Alguns trabalhos incluíram a determinação das dimensões e características do parênquima da glândula (RANTANEN, 1998; REFF, 1998; DAVIES et al., 2010).

Em seres humanos e mais recentemente em pequenos animais, a ressonância magnética (RM) já um método de diagnóstico por imagem bastante utilizada na avaliação da glândula tireoide. Ela é capaz de fornecer importantes informações anatômicas adjuvantes em afecções tireoidianas, especialmente na avaliação de carcinomas avançados (GOTWAY & HIGGINS, 2000; TAEYMANS et al., 2007). No entanto, estudos ainda não foram desenvolvidos utilizando a ressonância magnética na caracterização da tireoide em cavalos (VIANA et al., 2017).

A neoplasia é o achado mais comum entre as alterações da glândula tireoide em cavalos. Geralmente é unilateral, derivado de adenomas de células parafoliculares (células C) e ocorre principalmente em cavalos idosos. (UEKI et al. 2004; TROILLET et al., 2016). As neoplasias malignas são menos comuns e, em alguns casos, podem ser responsáveis pelo desencadeamento de hipo ou hipertireoidismo (HILLIDGE et al., 1982; HELD et al., 1985; RAMIREZ et al., 1998; TAN et al., 2008).

Alterações tireoidianas em equinos não são frequentemente relatadas na rotina clínica, uma vez que apresentam evolução silenciosa até serem percebidas como um aumento considerável na região ventrolateral do pescoço. Os tumores podem comprometer as estruturas adjacentes à glândula, como a traqueia, causando estridor respiratório, intolerância ao exercício e, em casos graves, sufocamento (LUCKE & LANE, 1984; ELCE et al., 2003; TROILLET et al., 2016).

Para o diagnóstico de neoplasias tireoidianas por técnicas de imagem, há uma tendência dos autores em utilizar o lobo contralateral hígido como base para a avaliação

do lobo alterado (SAULEZ et al., 2013; PEREZ-ECIJA et al., 2017), uma vez que tais tireopatias geralmente são unilaterais em equinos. No entanto, uma relação positiva entre os lobos da tiroide esquerda e direita do cavalo não foi descrita na bibliografia consultada. Deste modo, um estudo mais abrangente dos parâmetros de higidez da glândula tiroide estabelecido pela RM e ultrassonografia a partir da avaliação da relação entre os lobos permitiria uma melhor avaliação da progressão das alterações tireoidianas nesta espécie.

2 - REVISÃO DE LITERATURA

2.1 - Aspectos anatômicos da glândula tiroide equina e de suas estruturas adjacentes.

A glândula tiroide do cavalo, localizada entre o terceiro e o sexto anel traqueal, é constituída por dois lobos imediatamente caudais à laringe, unidos normalmente por um estreito istmo fibroso. Existem variações na distância de cada lobo quanto à sua localização em relação à parte caudal da laringe (VENZKE, 1986). No equino adulto, os lobos apresentam contorno oval e medem aproximadamente de 1,5 a 2,5 cm de altura, por 2 a 3 cm de largura e por 4 a 6 cm de comprimento (REEF, 1998). O polo cranial da tiroide geralmente é largo e arredondado, enquanto o polo caudal é menor, alinhando-se em forma de cauda que é contínua com o istmo. Não é incomum se observar um istmo desenvolvido, exercendo atividade glandular no cavalo adulto. Variações ocorrem no modo como o istmo se liga a cada lobo e na área traqueal que está cruzando. A posição aproximada dos lobos tireoidianos é indicada pelo ângulo de junção das veias maxilar e linguofacial. A superfície externa é convexa e coberta pela porção cervical da glândula parótida, músculo esternocéfálico e omo-hioideo (Figura 1). A superfície interna está ligada pela fáscia cervical profunda e anéis traqueais (VENZKE, 1986; SOJKA, 1995; KÖNIG & LIEBICH, 2011).

A tiroide é altamente vascularizada, recebendo sangue da artéria tiroidea cranial (ATC), o maior ramo da artéria carótida comum. A ATC se direciona para a extremidade cranial do lobo tireoidiano, emitindo diversos ramos. Um dos principais é o laríngeo caudal que emite ramificações para os músculos extrínsecos da laringe e para os músculos constritores da faringe. A ATC se anastomosa com seu ramo principal e, por isso, também é denominada de artéria tirolaríngea. A artéria tiroidea caudal é um pequeno e inconstante vaso que surge da artéria carótida comum a uma distância variável

caudal à ATC. Pode também se originar a partir da ATC, ou da artéria parotídea. A artéria tireoidea caudal se ramifica para dentro da porção caudal da glândula tireoide, traqueia e músculos adjacentes (Figura 2) (VENZKE, 1986; GHOSHAL, 1986; ASHDOWN & DONE, 2012).

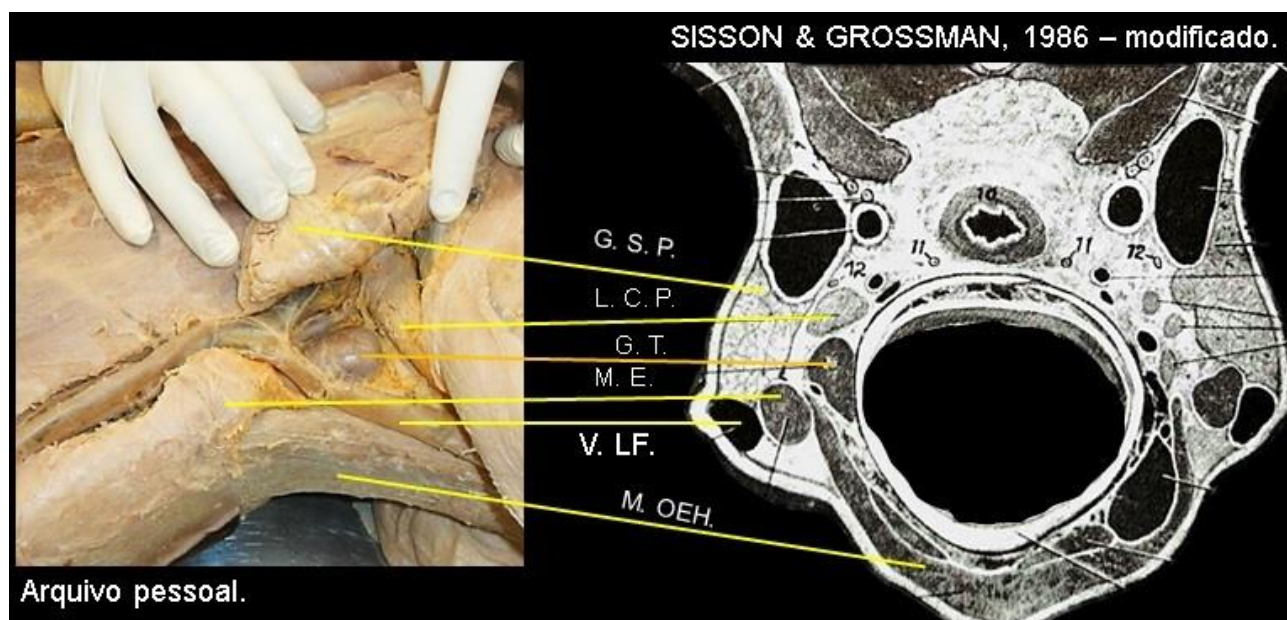


Figura 1: Desenhos esquemáticos mostrando a correlação entre as principais estruturas anatômicas adjacentes à glândula tireoide equina no plano sagital e transversal. G. S. P.: glândula salivar parótida; L. C. P.: linfonodo cervical profundo; G. T.: glândula tireoide (lobo tireoidiano direito); M. E.: músculo esternocefálico; V.LF.: veia linguofacial; M. OEH.: músculo omo/esternohioideo.

O peso das glândulas avaliado pela relação gramas de tecido tireóideo por quilo de peso corpóreo é maior para os fetos e potros (média, 0,28g/kg; variação de 0,12 a 0,56) e diminui progressivamente com a idade. A relação do peso para adultos é, em média, 0,08g/kg, variando de 0,04 a 0,15. (DIMOCK et al., 1944).

Com base nas técnicas imunohistoquímicas, distinguem-se três tipos celulares nas tireoides dos equinos. O primeiro é composto de células indiferenciadas e não reage a anticorpos; o segundo consiste em células parafoliculares (células C), que apresentam grânulos secretores positivos para calcitonina, e o terceiro tipo é constituído de células epiteliais foliculares positivas para tireoglobulina (TATEYAMA et al., 1988).

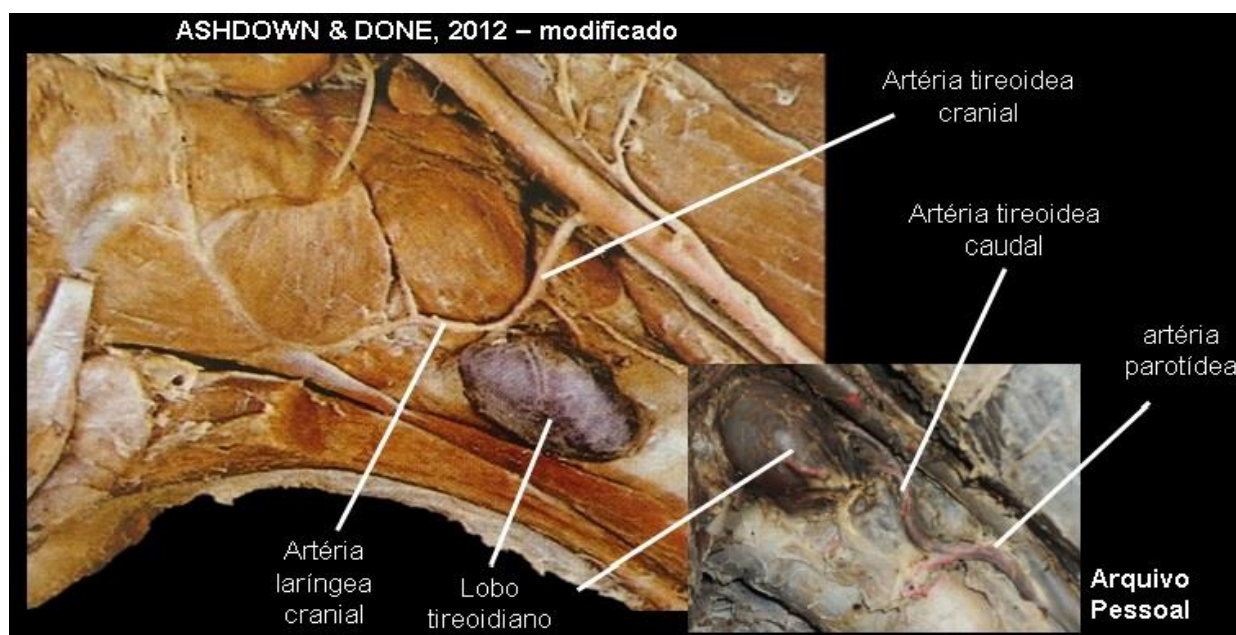


Figura 2: Descrição das artérias envolvidas na vascularização da glândula tireoide.

As glândulas paratireoides externas (craniais) se situam principalmente sobre o bordo dorsomedial e raramente na superfície medial e lateral dos lobos tireoidianos. Ocasionalmente, podem estar infiltradas no tecido conjuntivo nas proximidades do polo cranial dos lobos da glândula tireoide. Frequentemente, podem estar 1 cm cranial à tireoide ou até mesmo 15 cm rostral ao primeiro par de costelas na região das costelas e tronco bicarotídeo. Suas formas podem variar de globular, oval e achatada. Elas têm aproximadamente de 1,0 a 1,3 cm de comprimento e pesam 0,29 a 31 gramas. Já as paratireoides internas (caudais) se localizam infiltradas nos lobos tireoidianos sobre sua superfície medial, geralmente próximas dos bordos dorsais (VENZKE, 1986).

A glândula parótida é a maior glândula salivar do cavalo. Ele ocupa o espaço entre a borda caudal da mandíbula, a asa do atlas e a base da orelha, e ventralmente se estende à veia linguofacial. As relações profundas da glândula parótida são a veia maxilar; as artérias carótidas internas e externas; os nervos facial, glossofaríngeo e hipoglosso, bem como o tronco vagossimpático; e a bolsa gutural. A secreção serosa da glândula é coletada por várias radículas que se combinam para formar o ducto parotídeo (BUDRAS et al., 2009).

Os nódulos linfáticos cervicais profundos cranianos, médios e caudais são agrupados ao longo da traqueia, os quais transportam a linfa da cabeça para as veias na entrada torácica. O grupo craniano é confluyente com os nódulos retrofaríngeos mediais.

Especialmente os maiores nódulos profundos caudais são ocasionalmente difíceis de serem distinguidos dos nódulos linfáticos cervicais superficiais e dos nódulos mediastinais cranianos (Figura 2) (BUDRAS et al., 2009).

2.2 - Alterações dos lobos tireoidianos dos equinos

2.2.1 – Histórico e Epidemiologia

Os estudos das características macroscópicas e microscópicas de glândulas tireoides híginas e alteradas não são recentes. As pesquisas mais significativas datam da década de 30 (SCHLOTTHAUER, 1931) e 40 (DIMOCK et al., 1944). Tais pesquisas se basearam em associar os achados patológicos dos animais provenientes de necropsias com suas respectivas informações clínicas. Segundo Dimock et al., (1944), a maioria dos lobos tireoidianos esquerdos se apresentou discretamente mais pesado do que os lobos direitos. Além disso, esses autores determinaram a relação do peso de cada lobo e de ambos com peso corpóreo dos cavalos. Desde então, alguns trabalhos têm sido reportados ao longo das décadas, com o objetivo principal de fornecer conhecimentos adicionais para o esclarecimento das características morfofuncionais da glândula tireoide hígida e alterada.

Dados epidemiológicos mais recentes obtidos por exames de necropsia mostraram que, de 38 glândulas examinadas a partir de cavalos com mais de 10 anos, 12 continham nódulos tireoidianos no parênquima, uma taxa global de ocorrência de 31,6%. Com relação ao padrão racial, nove eram puro-sangue inglês, dois eram anglo-árabes e um cavalo era de raça desconhecida. Desses animais, seis eram garanhões, quatro éguas e dois eram machos castrados. A taxa de ocorrência em cavalos com mais de 20 anos foi de 75,0%. Além disso, os autores concluíram que, tumores de tireoide, são comumente encontrados em cavalos de idade mais avançada e derivam em sua maioria de adenomas de células parafoliculares (UEKI et al., 2004).

2.2.2 – Aspectos clínicos das tireopatias em equinos

Tireopatias em equinos não são frequentemente relatadas na rotina clínica, pois apresentam evolução silenciosa, evidenciando-se quando há um considerável aumento de volume na região proximal ventrolateral do pescoço. Neoformações da tireoide podem comprometer estruturas adjacentes à glândula, como a traqueia, ocasionando estridor

respiratório, intolerância ao exercício e, nos casos mais graves, sufocamento (LUCKE & LANE, 1984; ELCE et al., 2003).

O adenoma é a neoplasia mais comum em equinos. Apresenta-se em sua maioria em cavalos mais velhos e geralmente é unilateral. (DALEFIELD & PALMER, 1994). Um estudo realizado com equinos portadores de adenoma tireoidiano ou hipofisário sugeriu que estas alterações interferem no metabolismo da glicose e do cortisol, pois esses animais responderam exageradamente à insulina após o teste de tolerância oral à glicose e deixaram de responder a supressão do cortisol 24 horas após o teste de supressão por dexametasona. (RALSTON et al., 1988).

Foi descrito um caso de uma égua de 22 anos diagnosticada adenoma de células C do lobo tireoidiano esquerdo, feocromocitoma e hiperplasia nodular bilateral multicêntrica da medula adrenal. Tais alterações foram descobertas em um exame de necropsia, após a morte do animal por hemorragia uterina depois de um parto. A partir de achados histopatológicos e de resultados de um estudo retrospectivo de 10 anos de registros na Universidade da Califórnia, pesquisadores sugeriram que a síndrome de neoplasia endócrina múltipla (MEN), frequentemente diagnosticada em humanos, também pode ocorrer em equinos. A MEN em humanos é uma síndrome geneticamente determinada caracterizada pelo aparecimento de proliferações benignas ou malignas dentro de duas ou mais glândulas endócrinas (COCK & MACLACHLAN, 1999).

Neoplasias malignas tireoidianas são menos frequentes. Na maioria desses relatos, as concentrações séricas de hormônios tireoidianos mantiveram-se normais, embora, em alguns casos, desencadearam o hipotireoidismo e hipertireoidismo (BREUHAUS, 2011).

Dentre essas neoplasias, casos de carcinoma medular (Células C) se encontram presente na literatura científica. Os equinos acometidos apresentavam tumoração evidente em um dos lados do pescoço. Manifestações clínicas que levassem a suspeita de hipo ou hipertireoidismo não foram observadas, embora testes de função tireoidea não tenham sido realizados (LUCKE & LANE, 1984, VAN DER VELDEN, 1986). Mais recentemente, um estudo relatou um caso de um cavalo de 15 anos com aumento significativo do lobo tireoidiano esquerdo. Realizou-se exame histopatológico após excisão cirúrgica e foi diagnosticado o primeiro caso de um carcinoma misto microfolicular

de células C. Clinicamente, o animal apresentava-se com moderado aumento de volume da região ventrolateral do pescoço e inapetência (SAULEZ et al., 2013).

Existem poucos relatos de casos publicados de cavalos que foram realmente documentados como hipotireoidismo. Os sinais clínicos foram principalmente letargia e intolerância ao exercício. Em três casos de adenocarcinoma, um equino era eutireoideo e dois eram hipotireoideos com base nas concentrações séricas de T3 e T4 (JOYCE et al., 1976; HELD et al., 1985; HILLIDGE et al., 1982). Foi também descrito um caso de um equino com diagnóstico de carcinoma e de adenoma na mesma glândula, onde o nível baixo de T3 constatado era resultante da síndrome do eutireoideo doente, uma vez que a resposta ao estímulo por TSH foi normal (HOVDA et al., 1990). Há um relato de ceratoconjuntivite seca em um cavalo com hipotireoidismo associado (SCHWARZ et al., 2008).

Entretanto, pesquisadores constataram no exame *post-mortem* que 156 (25%) de 622 cavalos apresentavam glândulas grosseiramente anormais. Em 125 dos 156 casos, a aparência histológica foi consistente de uma doença semelhante à tiroidite de Hashimoto (hipotireoidismo), incluindo variações em tamanho e forma do folículo, rarefação de coloide e de infiltração linfocítica e fibrose (PERILLO et al., 2005).

Por outro lado, encontramos mais casos relatados de bócio e hipotireoidismo em potros associados à ingestão de quantidades excessivas de iodo em rações suplementadas com algas marinhas (DRISCOLL et al., 1978; CONWAY & COSGROVE, 1980; BAKER et al., 1983).

Segundo Breuhaus (2011), pelos conhecimentos que vêm se acumulando ao longo dos anos, sugere-se que muitos dos sinais clínicos tradicionalmente associados ao hipotireoidismo em cavalos (letargia e distúrbios dermatológicos) são na realidade resultantes de manifestações clínicas da Síndrome Metabólica Equina (SME). A SME é caracterizada principalmente por intolerância ao exercício, resistência à insulina, aumento dos marcadores inflamatórios, alteração da função reprodutiva, predisposição à obesidade e redução dos níveis séricos de T4 (FRANK, 2009; JOHNSON et al., 2010).

Existem também poucos casos documentados de hipertireoidismo. No primeiro relato, um cavalo manifestou a disfunção associada a um adenocarcinoma (RAMIREZ et al., 1998). Em outro caso, um equino apresentou aumento unilateral da tireoide, associado

a um adenoma endocrinologicamente ativo (ALBERTS et al., 2000). Por último, pesquisadores relataram um caso de uma égua com emagrecimento, polifagia, hiperexcitabilidade, polidipsia e taquicardia e aumento bilateral da região proximal do pescoço. O diagnóstico final foi de adenocarcinoma em lobo esquerdo e adenoma funcional hipofisário, associados ao hipertireoidismo (TAN et al., 2008).

2.2.3 - Exames laboratoriais e patológicos para o diagnóstico de tireopatias.

Para a consecução do correto diagnóstico das disfunções tireoidianas, é necessário que se alie os dados de anamnese com os achados dos exames físicos e laboratoriais, os quais incluem: dosagens séricas de colesterol e de triglicérides e, principalmente, as mensurações dos hormônios tireoidianos. A determinação da relação das concentrações de T4 total, T4 livre e níveis séricos de TSH aumentam significativamente a acurácia da elucidação dos distúrbios da tireoide (RAMSEY et al., 1997; KEMPPAINEN & BEHREND, 2000).

Em medicina humana, mensurações de concentrações de T3, T4 e TSH, embora simples de executar, nem sempre são considerados os indicadores mais confiáveis de função da glândula. Uma variedade de medicamentos, bem como estados fisiológicos ou fisiopatológicos, pode levar a redução dos valores de concentração de seus hormônios, mesmo quando a própria glândula tiroide está normal, pois podem alterar a ligação desses hormônios com as proteínas do sangue, tais como: globulinas, transferinas e albuminas (BARRETT et al., 2010). No cavalo, alguns desses fatores incluem jejum, fenilbutazona ou administração de corticosteroides, exercício extenuante, dietas ricas em energia, proteína, zinco e cobre, e doenças extratireoidianas. Por isso, é importante que as mensurações dos hormônios da tiroide sejam realizadas em cavalos que não receberam qualquer medicação durante, pelo menos, quatro semanas antes dos testes. Deste modo, torna-se mais seguro medir a fração livre de T4 no sangue desses animais, sendo o método de diálise de equilíbrio o recurso mais propenso a refletir o verdadeiro estado da tiroide em animais doentes em comparação com outros métodos de medição da concentração do T4 livre (BREUHAUS, 2011).

A punção aspirativa por agulha fina (PAAF) tem sido utilizada como um bom método para esclarecer o diagnóstico primário de doenças da tiroide (CAP et al., 199; GUTMAN & HENRY, 1998). É indicado inicialmente o diagnóstico pré-operatório da suspeita de alterações tireoidianas pela PAAF e depois a utilização do estudo histológico

da peça cirúrgica correspondente, uma vez que este exame é considerado padrão-ouro no diagnóstico da maioria das doenças da glândula tireoide (GALLOWAY et al., 1991; Montironi et al., 1991; GIUFFRIDA & GHARIB, 1995). Em um dos relatos mais recentes, um carcinoma misto microfolicular de células C de tireoide em equino, diagnosticado por exame histopatológico, apresentou os seguintes achados na citologia: aglomerados de células anaplásicas com anisocitose, anisocariose, cromatina grosseira e proeminente e múltiplos núcleos (SAULEZ et al., 2013).

2.3 – Ultrassonografia dos lobos tireoidianos

2.3.1 – Em Equinos

Doenças do hipotálamo, da glândula pituitária, pâncreas e glândula adrenal são relativamente raras em cavalos e não são facilmente identificadas por técnicas de diagnóstico por imagem. Entretanto, a tireoide é uma estrutura superficial encontrada na região da laringe e pode ser acessada com facilidade pelo exame ultrassonográfico (RANTANEN, 1998).

A ultrassonografia da tireoide em modo B em equinos deve ser realizada com frequência elevada para melhor caracterizar a glândula. O transdutor deve ser posicionado na glândula em planos opostos (transversal e longitudinal) para assegurar a varredura de toda estrutura. Ao exame ultrassonográfico, a tireoide normal apresenta uma textura homogênea, fina e "pontilhada". Em secção transversal, a artéria carótida e a parede da laringe podem ser vistas contactando a glândula (RANTANEN, 1998).

Em um estudo envolvendo o exame ultrassonográfico da glândula tireoide, o volume, ecogenicidade e presença de nódulos foram avaliados em cavalos clinicamente normais para tireopatias. Entre quatorze lobos de equinos idosos, a média do volume total foi de 37,85 ($\pm 10,04$) cm³. Cinco apresentaram nódulos. Com relação à ecogenicidade, dez lobos apresentaram-se hiperecogênicos e quatro isoecogênicos, com relação ao músculo esternocéfálico (DAVIES et al., 2010).

Ao exame ultrassonográfico de casos de adenoma benigno, a glândula apresenta-se uniformemente aumentada e pode ter pequenas estruturas císticas no parênquima. Geralmente não há vascularização importante. A visualização de múltiplos pequenos cistos leva a suspeita dessa neoformação. Lesões malignas, como os

adenocarcinomas, podem aumentar o volume da glândula e também estar associadas a massas presentes na região cervical cranial (RANTANEN, 1998).

Em dois estudos envolvendo a descrição de técnicas cirúrgicas de tireoidectomia unilateral de seis (ELCE et al., 2003) e 14 cavalos (TROILLET et al., 2016). No primeiro trabalho, 5 animais, a tireoide aumentada variou de 125 a 990 cm³. A aparência ultrassonográfica variou de heterogênea (1 cavalo) à cística (2) e homogênea (2). Não foi determinado qual lobo foi acometido. No segundo estudo, o lóbulo tireoidiano direito esteve aumentado em 9 (64%) e no lobo esquerdo em 5 (36%) de cavalos. A dimensão longitudinal média do lobo afetado no exame de ultrassográfico foi de 7,9 cm. Foi observada uma ecogenicidade homogênea e finamente contrastada do parênquima tireoideano em 6 cavalos e a textura parenquimatosa não homogênea com áreas hiperecoicas mal demarcadas foi observada em 8 cavalos.

Segundo Troillet et al. (2016), os resultados mostraram que o aumento das dimensões e nem achados no exame de ultrassonográficos visibilizados antes da cirurgia, foram consistentes com o diagnóstico de tumores malignos (79%). Os cavalos com lóbulos tireoidianos acima e 7,5 cm tiveram uma ocorrência mais frequente de formação de seroma pós-operatório como uma complicação de curto prazo. Os resultados ao longo prazo não foram afetados por nenhum achado clínico pré-operatório e não foram influenciados pelas características histológicas do tumor. Embora nenhum dos achados ultrassonográficos da tireoide seja sugestivo de malignidade, os autores ainda consideram o exame útil para avaliação de tamanho, relação com estruturas anatômicas adjacentes e vascularização do tumor. Além disso, a ultrassonografia pode auxiliar em excluir outras causas de aumento de volume proximal do pescoço, incluindo abscesso retrofaríngeo, hematoma e distúrbios da bolsa gutural.

Em um relato de caso, os autores evidenciaram a sensibilidade do exame ultrassonográfico como método de avaliação da doença tireoidiana na espécie equina, visibilizando aumento de ambos os lobos, onde o lobo esquerdo apresentava ecogenicidade mista com áreas de estrias hiperecogênicas distribuídas difusamente pelo parênquima. Observou-se também presença de regiões císticas com finos septos internos. O lobo direito também apresentava ecogenicidade mista, mas era mais ecogênico e possuía poucas regiões císticas, se comparado ao lobo esquerdo. O exame

histopatológico evidenciou adenocarcinoma em lobo esquerdo e resultado inconclusivo para o lobo direito (Tan et al., 2008).

Em outro relato de caso, um equino foi diagnosticado com carcinoma misto de células C microfolicular. As imagens ultrassonográficas indicaram que o lobo tireoidiano esquerdo apresentava-se proeminente, com abaulamento da cápsula. O parênquima revelou-se perifericamente hipoecogênico e região central hiperecogênica heterogênea. Vascularização central e radial foi evidente utilizando-se Doppler. Para estes autores, a ultrassonografia provou ser uma modalidade imagiológica útil para a caracterização da neoformação. A técnica determinou com precisão o tamanho e marginação do tumor, bem como o fornecimento de informações dinâmicas de perfusão vascular (SAULEZ et al., 2013).

Segundo Viana et al. (2017), apesar da existência de estudos descrevendo alguns parâmetros de normalidade dos lobos tireoidianos pela ultrassonografia em equinos (dimensões e características do parênquima), estes dados ainda se mostram escassos para uma avaliação mais precisa das tireopatias. Informações adicionais quanto aos contornos e formato, assim como estudo Doppler da tireoide ainda não foram estudados. Devido ao processo de evolução das alterações tireoidianas em cavalos, estágios avançados de neoplasias são mais frequentemente diagnosticados. O estudo mais amplo dos parâmetros de normalidade da glândula tireoide estabelecido pelo exame ultrassonográfico possibilitaria melhor avaliação da progressão dessas afecções na espécie equina.

2.3.2 – Em outras espécies

Em Medicina humana, a ultrassonografia em modo B associada ao método Doppler (DUPLEX), tem sido utilizada para uma avaliação mais precisa de doenças difusas e nodulares da glândula tireoide (TURGUT et al., 2009). Esta técnica pode fornecer uma precisão diagnóstica de mais de 90% em carcinoma da tiroide, especialmente carcinoma papilar (FUKUNARI, 2002). É considerado um método útil para avaliação da progressão de doenças autoimunes da tireoide, tais como a doença de Graves e tireoidite de Hashimoto (CHIOU et al., 2006).

Quatro principais artérias são observadas em ambos os lobos tireoidianos em humanos, que incluem duas artérias tireoideas superiores e duas artérias tireoideas

inferiores (CHIOU et al., 2006). A AIT está abaixo da base da tireoide e é mais evidente e fácil de ser verificada que a AST na prática clínica. Pela AIT, é possível avaliar o índice de pulsatilidade (IP), o índice de resistência (IR), velocidade do pico sistólica (VPS). Dois trabalhos evidenciaram a importância desses métodos, detectando o aumento significativo da VPS, IP e IR em seres humanos que apresentaram hiper e hipotireoidismo (TURGUT et al., 2009, CHIOU et al., 2006).

A distribuição da velocidade de fluxo através do lume vascular é demonstrada através da frequência ou do espectro de velocidade de fluxo no Doppler. Os perfis de velocidade de fluxo laminar podem ser classificados em 3 tipos: perfil achatado (A), parabólico (B) e semiparabólico (C). Fluxo turbilhonado pode estar presente nas bifurcações, curvas ou ramos (SZATMARI et al., 2001).

Em A, velocidade do sangue é aproximadamente a mesma no centro do vaso e próximo à sua parede. A curva espectral de velocidade é caracterizada por uma linha fina na sístole, que promove um espaço nítido chamado janela espectral ou janela sistólica. Está presente em artérias mais calibrosas, como a ilíaca (figura 2). Em B, o sangue que se movimenta centralmente tem velocidade mais alta quando comparado àquele próximo da parede do vaso; então, a distribuição da velocidade é ampla através do lúmen vascular. A janela espectral não pode ser vista durante a sístole no monitor espectral, porque as células do sangue com uma variedade de velocidades (do zero ao pico de velocidade) fluem através do volume de amostragem. Está presente em artérias menores, como a artéria renal (figura 3). Já em C, Nas artérias de tamanho médio, o fluxo é semelhante ao perfil A no centro do vaso; no entanto, o fluxo é mais similar ao perfil B nas regiões periféricas do vaso. A distribuição da velocidade através do lúmen vascular tem uma amplitude intermediária, como se observa na artéria mesentérica (figura 4) (SZATMARI et al., 2001).

O mapeamento espectral pode demonstrar diversos padrões de fluxo. São eles: padrão de fluxo de alta resistência (figura 2): alta pulsatilidade e alta resistividade de fluxo são observadas através da presença de picos sistólicos finos (afilados) e fluxo reverso no início da diástole, como pode ser verificado na aorta (SZATMARI et al., 2001);

Padrão de fluxo de baixa resistência (figura 3): baixa pulsatilidade e baixa resistividade de fluxo são caracterizadas pela presença de picos sistólicos amplos e contínuos e alta velocidade de fluxo na diástole com velocidade decrescente. As artérias

de baixa resistividade (artéria renal) suprem órgãos que possuem uma demanda contínua de sangue (SZATMARI et al., 2001);

Padrão de fluxo de resistência intermediária (figura 4): fluxos de pulsatilidade e resistividade intermediária são evidenciados pela presença de picos sistólicos afilados (mais amplos do que os das artérias de padrão de alta resistividade) e fluxo direcional diastólico sem fluxo reverso (tronco celíaco). O pico de velocidade diastólico é mais baixo do que no padrão de fluxo de baixa resistividade quando comparado ao pico de velocidade sistólica (SZATMARI et al., 2001).

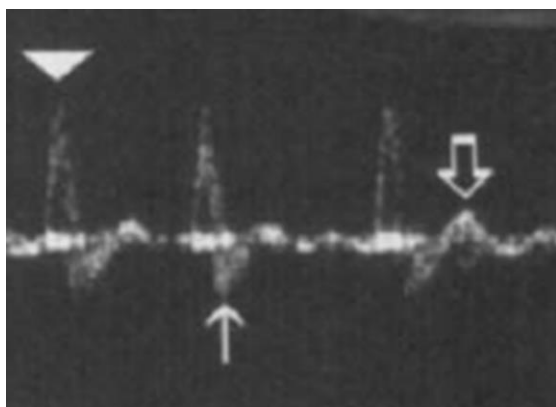


Figura 3: Padrão Doppler espectral da artéria ilíaca esquerda. Observam-se picos sistólicos (seta cheia) nítidos com janela espectral evidente (perfil de velocidade de fluxo achatado). Redução súbita da velocidade com formação de pequena onda retrógrada (seta) seguida por aumento da velocidade (seta vazia) (padrão de fluxo de alta resistência). (SZATMARI et al., 2001).

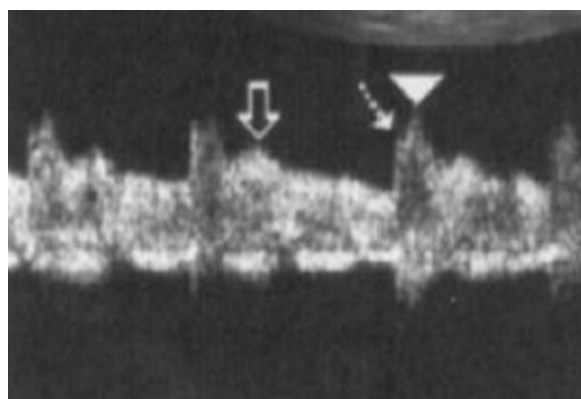


Figura 4: Padrão Doppler espectral da artéria renal direita. Presença de duplo pico sistólico amplo (seta pontilhada e cheia). Redução da velocidade, mas sem formação de onda retrógrada. Depois, observa-se formação de onda de alta velocidade (seta vazia) e redução gradual da mesma (padrão de fluxo de baixa resistência). (SZATMARI et al., 2001)

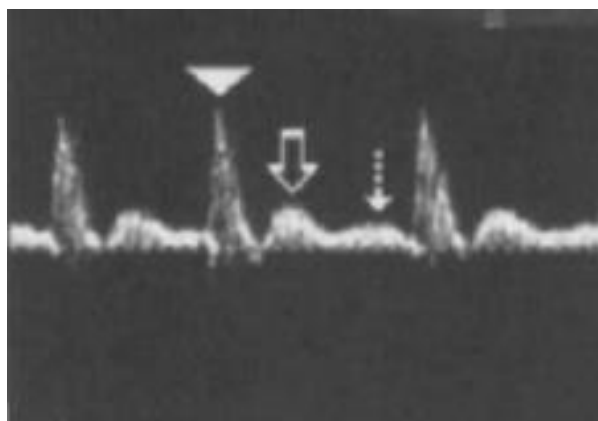


Figura 5: Padrão Doppler espectral da artéria mesentérica cranial. Pico sistólico amplo (seta cheia), mas sem janela espectral nítida (perfil de velocidade de fluxo intermediário). Depois, observa-se redução da velocidade, mas sem fluxo reverso. Aumento de velocidade (seta vazia), seguida pela redução e aumento da mesma (seta pontilhada) (padrão de fluxo de resistência intermediária). (SZATMARI et al., 2001).

Em animais de companhia, estudos já foram desenvolvidos utilizando a ultrassonografia como método de avaliação da glândula tireoide hígida e alterada. Em cães, os trabalhos se encontram mais direcionados para análise das características ultrassonográficas de carcinomas tireoidianos e hipotireoidismo (TAEYMANS et al., 2007; NOVO et al, 2009; De MARCO & LARSSON, 2006). Em gatos, podem ser encontrados trabalhos relacionados com hipertireoidismo (BARBERET et al., 2010).

Adicionalmente, em um estudo específico envolvendo cães da raça Golden Retriever com tireoides saudáveis e com hipotireoidismo, foram observadas diferenças significativas entre as dimensões dos lobos tireoidianos direitos e esquerdos hígidos (BROMEL et al., 2005).

Apesar dos estudos serem escassos em bovinos, uma pesquisa recente realizou análises detalhadas dos lobos tireoidianos de bezerros (METZNER et al., 2015). Os autores correlacionaram dimensões ultrassonográficas dos lobos tireoidianos com as mensuradas em exame *post-mortem* e com peso da massa corpórea. Os resultados mostraram boa relação do volume da glândula tireoide com o peso de animais (média de 120 kg) e também demonstraram que não houve nenhuma diferença significativa entre as dimensões obtidas por imagens ultrassonográficas com as medidas reais da glândula.

Em medicina veterinária, ainda são poucos os trabalhos sobre o uso da ferramenta Doppler como método de avaliação da tireoide. Tais estudos se restringem à função *Power Doppler* para avaliar principalmente a vascularização em alguns relatos de casos de neoplasias tireoidianas (SAULEZ et al., 2013; TAN et al., 2008; TAEYMANS, 2009).

2.4 - Ressonância magnética dos lobos tireoidianos

Em humanos, a tomografia computadorizada (TC) e RM fornecem importantes referências anatômicas adjuvantes nas tireopatias, especialmente na avaliação de carcinomas em estágios avançados, bem como na avaliação do câncer de tireoide recorrente após tireoidectomia. Nestas modalidades, podem desempenhar um papel crítico na detecção de metástases em linfonodos, especialmente em áreas clinicamente ocultas para avaliação ultrassonográfica (retrofaringe e mediastino). A TC e MR são essenciais para a avaliação da extensão das doenças tireoidianas para a musculatura adjacente do pescoço, esôfago, traqueia, laringe e para a veia jugular (GOTWAY

&HIGGINS, 2000). As informações fornecidas por tais métodos nestes casos são de valor inestimável no planejamento da abordagem cirúrgica (LOEVNER et al., 2008).

A RM ganhou grande destaque no diagnóstico do câncer de tireoide em humanos (RAZEK et al., 2008). Os aparelhos de alta tecnologia possuem recursos como a Ponderação em Difusão, uma importante ferramenta de diagnóstico para avaliar a caracterização do tumor in vivo (HERNETH et al., 2003; BAUR et al., 2002). Vários estudos têm mostrado que esta técnica tem potencial para diferenciar nódulos benignos de malignos (SCHUELLER-WEIDEKAMM et al., 2009; WANG et al., 2001). As mudanças estruturais de malignidade ou de benignidade da tireoide podem ser avaliadas através do coeficiente de difusão aparente (CDA), um parâmetro objetivo da capacidade de difusão específica de um tecido biológico (LE BIHAN et al, 1988). Schueller-Weidekamm et al. (2010) mostraram em seus estudos que a Ponderação em Difusão em RM foi superior do que a ultrassonografia e a citologia aspirativa por agulha fina guiada por ultrassom na diferenciação entre nódulos benignos e malignos da tireoide.

Em humanos, imagens de RM da glândula tireoide em aparelhos de ressonância magnética de alto campo (acima de 0,3 Tesla) devem ser multiplanares com várias sequências de pulsos, incluindo imagens ponderadas em T1 (T1-W) sem contraste nos planos sagital e axial, bem como imagens rápidas ponderadas em T2 (T2-W) em plano axial com a aplicação da saturação da gordura. Após a administração do contraste gadolínio através da via intravenosa, imagens T1-W em plano axial com a aplicação da saturação da gordura são adquiridas, pois as lesões podem ser hiperintensas (brilhantes) e gordura no pescoço é hiperintensa em imagens T1-W e T2-W, e a supressão de gordura ajuda aumentar a identificação da lesão. Em T1-W, a glândula tiroide normal mostra a intensidade de sinal homogêneo, ligeiramente maior que a da musculatura do pescoço. Em T2-W, a glândula tireoide é relativamente hiperintensa com relação à musculatura do pescoço. Após a administração de contraste, a glândula normal, aumenta de modo homogêneo (LOEVNER et al, 2008).

Carcinomas de tireoide são visibilizados como lesões isointensas ou ligeiramente hipointensas em T1-W e hiperintensas em T2-W em comparação com tecido tireoidiano normal (MIHAILOVIC et al., 2006).

Em pequenos animais, a RM é utilizada como um método complementar para o exame ultrassonográfico, principalmente em casos de neoplasias com características

invasivas para tecidos adjacentes. Esta metodologia permite melhor visualização da origem de neoplasias, alterações em tecidos moles da porção dorsal à traqueia e distorções anatômicas que massas neoplásicas tireoidianas possam vir a causar no pescoço (TAEYMANS et al., 2008).

Taeymans et al. (2013) avaliaram carcinomas tireoidianos de cães através da ultrassonografia, tomografia computadorizada e ressonância magnética. O estudo mostrou que a RM apresentou o menor número de diagnósticos falso-negativos e sensibilidade semelhante ao exame histopatológico para identificação de invasão neoplásica para tecidos moles do pescoço. Estes resultados justificam o uso da RM como modalidade de eleição para o diagnóstico pré-operatório e elucidação de suspeitas clínicas para o carcinoma da glândula tireoide.

Em equinos, poucos trabalhos descreveram o uso da TC como técnica de análise dos lobos tireoidianos. Nesses casos, a TC foi importante para avaliação das características e extensão das alterações, contribuindo desse modo para determinar a conduta terapêutica e planejamento cirúrgico (SAULEZ et al., 2013, TAN et al., 2008). Não existem estudos demonstrando uso da RM como método de avaliação da tireoide em equinos (VIANA et al., 2017).

3) OBJETIVOS

3.1) Objetivos Gerais

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar através da ultrassonografia e por ressonância magnética (RM) os parâmetros quantitativos e qualitativos da glândula tireoide hígida em equinos adultos.

3.2.) Objetivos Específicos

Determinar a confiabilidade das medidas tireoidianas, a partir da comparação entre os lobos tireoidianos esquerdo e direito tanto por ultrassonografia como por RM;

Quali-quantitativamente caracterizar a vascularização da glândula tireoide equina através da ferramenta Doppler.

Avaliar os contornos e formatos dos lobos tireoidianos através da ultrassonografia e RM;

Por RM, caracterizar a intensidade e homogeneidade de sinal normal da tireoide e descrever as principais estruturas anatômicas da porção ventroproximal do pescoço dos cavalos.

Correlacionar os parâmetros quantitativos comuns à ultrassonografia e a RM.

CAPÍTULO 2

ARTIGO CIENTÍFICO 1

Revista: Pesquisa Veterinária Brasileira (Brazilian Journal of Veterinary Research)

Link de instruções para autores: <http://www.pvb.com.br/?link=trabalho>

Ultrasonographic features of the normal thyroid gland in adult horses

Gustavo F. Viana^{2*}, Luciana Carandina², Alessandro Hataka³, Monica Midon⁴, Camila A. Sarkis², José N. P. Puoli Filho⁵, Vânia M. V. Machado².

ABSTRACT: Viana G.F., Carandina L. Hataka A., Midon M., Sarkis C.A., Puoli Filho J.N.P. 2018. **Ultrasonographic features of the normal thyroid gland in adult horses.** *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):000-000. Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Rua Prof. Dr. Walter Mauricio Correra, s/n, CEP:18618-970, Rubião Junior, Botucatu, São Paulo, Brasil. E-mail: medvetgust@hotmail.com

Few reports have been published regarding the use of ultrasonography as a method of evaluating the thyroid gland in horses. Some studies include the determination of the dimensions and parenchymal characteristics. For these reasons, this study aimed at determining reliably of the thyroid measurements from the comparison between the left and right thyroid lobes, as well as assessing the contour, format, echotexture and echogenicity of the thyroid lobes by mode-B ultrasonography. Additionally, the equine thyroid gland vascularization was qualitatively characterized the by Doppler tool. The sample size initially was determined by the animal selection with advanced age and without volume increase in the neck proximal region. Finally, eleven horses were selected by laboratory test, search of thyroid neoformations by ultrasonography and cytology thyroid. Next, these animals were submitted to thyroid lobes evaluation by ultrasonography. It was observed excellent reproducibilities in relation to the all measurements this study. There were qualitative differences between the right and left thyroid lobes. Thus, we can conclude that such differences between the format of the thyroid lobes can be explained by the significant difference and/or tendency observed in the length parameter between the thyroid lobes. Besides that, no significant difference was found between the values of the left cranial thyroid artery compared to those obtained in the right cranial thyroid artery, suggesting that the analysis of the unilateral cranial thyroid artery spectral Doppler values can be used as a method for evaluating diffuse thyroid disorders.

INDEX TERMS: Thyroid lobes, Ultrasound, Equines.

¹ Recebido em:.....

Aceita para publicação em:.....

² São Paulo State University (UNESP), Department of Animal Reproduction and Veterinary Radiology. Botucatu, São Paulo, BR. +55 14 3811-6000. medvetgust@hotmail.com

³ São Paulo State University (UNESP), Department of Veterinary Clinic. Botucatu, São Paulo, BR. +55 14 3811-6000.

⁴ São Paulo State University (UNESP), Department of Veterinary Surgery and Anesthesiology. Botucatu, São Paulo, BR. +55 14 3811-6000.

⁵ São Paulo State University (UNESP), Department of Animal Production. Botucatu, São Paulo, BR. +55 14 3880-2961.

RESUMO. -[Características ultrassonográficas da glândula tireoide hígida em equinos adultos.] Poucas análises foram publicadas com relação ao uso da ultrassonografia como método de avaliação da glândula tireoide em equinos. Alguns trabalhos incluem a determinação das dimensões e características do parênquima. Por essas razões, este estudo teve como objetivo determinar com segurança as medidas tireoidianas a partir da comparação entre os lobos tireoidianos esquerdo e direito, bem como avaliar os contornos, formato, ecotextura e ecogenicidade das glândulas tireoides pela ultrassonografia em modo B. Além disso, a vascularização da tireoide equina foi caracterizada quali-quantitativamente pela ferramenta Doppler. O tamanho da amostra inicialmente foi determinado pela seleção dos animais com idade avançada e sem aumento de volume na região proximal do pescoço. Por fim, onze equinos foram selecionados por meio de exame laboratorial, pesquisa de neoformações tireoidianas por ultrassonografia e citologia da tireoide. Em seguida, estes animais foram submetidos à avaliação de lobos tireoidianos por ultrassonografia. Observou-se excelente reprodutibilidade em relação a todas as medidas deste estudo. Foram observadas diferenças qualitativas entre os lobos tireoidianos direito e esquerdo. Assim, podemos concluir que tais diferenças entre o formato dos lobos tireoidianos podem ser explicadas pela diferença significativa e/ou tendência observada no parâmetro comprimento entre os respectivos lobos. Além disso, não foi encontrada diferença significativa entre os valores da artéria tireoidiana cranial esquerda em relação aos obtidos na artéria tireoidiana cranial direita, sugerindo que a análise dos valores espectrais do Doppler de uma das artérias tireoidianas craniais possa ser utilizada como método de avaliação de distúrbios difusos da tireoide equina.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Lobos tireoidianos, Ultrassom, Cavalos.

INTRODUCTION

The horse thyroid gland, located between the third and the sixth tracheal ring, consists of two lobes immediately caudal to the larynx, usually joined by a narrow fibrous isthmus. There are variations in the distance of each lobe relative to its location relative to the caudal part of the larynx. It is not uncommon to observe a developed isthmus, exerting glandular activity on the adult horse. The thyroid is highly vascularized, receiving blood from the cranial thyroid artery, the largest branch of the common carotid artery (VENZKE, 1975).

Neoplasia is the most common finding among thyroid gland (*Glandula thyreoidea*) changes in horses. It is usually unilateral, derived from adenomas of parafollicular cells (C cells) and occurs mainly in aged horses (Ueki et al. 2004, Troillet et al. 2016). Malignant neoplasias of the thyroid are less frequent and, in some cases, can be responsible for triggering hypo- or hyperthyroidism (Hillidge et al. 1982, Held et al. 1985, Ramirez et al. 1998, Tan et al. 2008). Few reports have been published regarding the use of ultrasonography as a method of evaluating the thyroid gland in horses. Some studies include the determination of the dimensions and parenchymal characteristics (Rantanen 1998, Reef 1998, Davies et al. 2010).

In human Medicine, B-mode ultrasonography associated with Doppler method has been used in order to perform a more accurate evaluation of nodular and diffused thyroid diseases (Turgut et al. 2009). This technic can provide more than 90% of diagnosis accuracy in thyroid carcinoma (Fukunari 2002). However, in Veterinary Medicine, there are few studies regarding the use of Doppler tool as a thyroid evaluation method. These research are restricted to the use of power Doppler function for the purpose of mainly assess the vascularization in some case reports of equine (Sauliez et al. 2013; Tan et al. 2008) and canine (Taeymans 2009) thyroid neoplasms.

The measurements of structures as normal parameters by imaging methods in veterinary medicine have proved to be controversial in a previous study (Lamb & Nelson 2015). The intraclass correlation coefficient is a relatively simple statistical procedure used to determine the reproducibility of a measurement variable (Donner & Koval 1890, Rosner et al. 1989, Shrout & Fleiss 1979) and can be used to estimate methodological and biological variation for validating data in the normalization procedure (Pellis et al. 2003).

For these reasons, this study aimed at (1) determining reliably of the thyroid measurements from the comparison between the left and right thyroid lobes, as well as (2) assessing the contours, formats, echotexture and echogenicity of the thyroid lobes by mode-B ultrasonography; and (3) quali-quantitatively characterizing the equine thyroid gland vascularization by Doppler tool.

MATERIALS AND METHODS

Ethics statement. This study was carried out from August 2014 to June 2015, and it was approved and performed in accordance with the Ethics Committee of the São Paulo State University (protocol number: 165/2013-CEUA).

Animal selection. The sample size was initially determined by the selection of crossbreed animals with advanced age (risk factor for thyroopathies) and clinically certified as without apparent volume increase in the ventrolateral proximal region adjacent to the larynx. Finally, 11 crossbreed horses (seven males and four females) with healthy thyroid were selected by laboratory test for evaluating the thyroid function. These animals also were submitted to search for neoformation in the thyroid parenchyma by ultrasonography. The age of these horses ranged from 11 to 22 years and the mean weight was 403.45 ($\pm$ 36.23) kg.

Laboratory exam and search of thyroid neoformations by ultrasonography. Blood samples were sent to a specialized laboratory for the diagnosis of veterinary endocrine disorders (B.E.T. Laboratories, Rio de Janeiro, Brazil) for the determination of the free and biologically active fractions of thyroxine (free T4) by the method of radioimmunoassay (equilibrium dialysis).

A portable ultrasound apparatus (MyLab™ 30VETGold; Esaote, Genova, Italy) with an 18 MHz multi-frequency linear transducer was used to investigate the neoformations presence in the thyroid parenchyma.

Ultrasound-guided fine needle aspiration cytology (FNAC). The cytological exam was performed after the ultrasonography studies. It permitted a more reliable evaluation of the thyroid parenchyma without any influence from acute and/or chronic inflammatory alterations, which could be visualized by such techniques.

The horses were sedated through the intramuscular and intravenous administration of acepromazine (0.05 mg/kg) and xylazine hydrochloride (0.5 mg/kg), respectively.

A portable ultrasound apparatus (the same one used for searching for thyroid nodular formations by ultrasound) was used. A transversal image of the examined lobe was generated. The following materials were used in this procedure: disposable hypodermic needles (50 x 7 mm), 10-ml disposable syringes and a Valeri aspirator. The needle was introduced at a 45-degree angle on the skin and was directed toward the center of the thyroid lobe. During the trajectory of the needle, the cervical portion of the parotid salivary gland and the sternocephalic muscle were surpassed so the gland could be reached.

Ultrasonography. The ultrasound apparatus was the same as the one used for the search of thyroid neoformations. The examinations were performed by an employee with a masters' in veterinary imaging and was supervised by a Veterinary Radiology Associate Professor at Sao Paulo State University, with 20 years of experience in equine ultrasonography (Machado VMV). The professor was responsible for making decisions about the inclusion and exclusion of subjects related to the ultrasound examinations.

B-Mode Study. The B-mode analysis for thyroid was performed with the following settings: gain, 94-100%; frequency, 12- 18 MHz; depth, 3-4 cm. Only one focus was utilized, and it was regulated up to the medial margin of the gland. Initially, the transducer was positioned perpendicularly to the larynx, slipped to the proximal portion of the trachea and then displaced laterally to the left and right until obtaining the transverse plane of the thyroid lobes. Starting from the acquired prior image, the longitudinal plane was obtained by rotating the transducer 90°.

I – Mensuraments. The dimensions were acquired on the ultrasound apparatus itself. The width and height were determined in the transverse plane of the thyroid lobe with 18 MHz of frequency. In the longitudinal plane, the length was obtained by total visualization of both poles (cranial and caudal), considering the greatest dimension of the lobe. The transducer was slipped 90° from the initial transverse position to get these images. Slight pressure and angulations were necessary for the total visualization of the cranial and caudal poles. For this evaluation, a frequency from 12 to 18 MHz was utilized, varying according to the general dimensions of the thyroid lobe (Fig. 1).

The determination of the volume of the left thyroid lobe (VLTL) and right TL (VRTL) was estimated by the equation: length X width X height X $\pi/6$. The total glandular volume corresponded to the sum of the two lobes in the same animal (VLTL cm³ + VRTL cm³). This formula, designed to obtain the volume of elliptical forms, has been employed in human and veterinary medicine to calculate thyroid volume (Brown & Spencer 1978, Wisner & Nyland 1998).

II – Format, contours echotexture and echogenicity. These parameters were evaluated qualitatively. For format, the approximate geometric form of the thyroid lobes was described in each image plane with its respective variations. For each technique, the lobes in the longitudinal and sagittal planes were classified as flat and rounded. For the transverse plane, they were classified as spherical and elliptical.

The contours of the thyroid gland were evaluated according to the definition (clearly or poorly defined) and according to the regularity (regular or irregular) of their lateral and medial portions.

The images generated were used to evaluate parenchymal characteristics, such as the echogenicity and echotexture of the thyroid lobes.

Doppler Study. The cranial thyroid artery (*Arteria thyreoidea cranialis*) was selected for the study of the TL arterial vascularization due to its smaller anatomical variation, greater caliber and lower degree of tortuosity when compared with the branches near the LT cranial pole and the caudal thyroid artery (*Arteria thyreoidea caudalis*). Additionally, the cranial thyroid artery was suitable for application of the angle of insonation (less than or equal to 60°).

The cranial thyroid artery was accessed in the longitudinal plane by displacing the transducer from the thyroid cranial pole to the medial aspect of the mandibular angle (*Angulus mandibulae*). Spectral Doppler was triggered after the precise identification of the cranial thyroid artery through the color Doppler in middle third of the vessel, at the thyroid lobe level.

For the color Doppler analysis, the apparatus was calibrated with a gain of 70-78% and a pulse repetition frequency (PRF) of 1.0 - 1.4 KHz. For the assessment by spectral Doppler, the apparatus was calibrated with a PRF of 2.8 - 4.2 KHz and with a wall filter of 50 Hz. The size of the sample volume was regulated according to the diameter of the cranial thyroid artery. The frequencies for color and spectral Doppler analyses ranged from 6.6 to 8.0 MHz.

From the Doppler protocols mentioned, quantitative and qualitative parameters were determined. By spectral Doppler, the means of the peak systolic velocity (PSV), pulsatility index (PI) and resistivity index (RI) of the left and right cranial thyroid artery were automatically calculated by the ultrasound apparatus starting from three pulses of arterial waves. The PI and RI were calculated after manual delimitation of the PSV, final diastolic velocity (FDV) and mean velocity time (MVT), as follows: $RI = PSV - FDV / PSV$; $IP = PSV - FDV/MVT$. The laminar flow velocity profile and the cranial thyroid artery waveforms were determined via spectral Doppler analysis.

The architecture of the blood flow of the thyroid parenchyma was characterized by a color Doppler study. For a better study of blood irrigation, each thyroid lobe was evaluated in the cranial, middle and caudal regions.

Statistical analysis. B-Mode and Doppler measurements were calculated by the analyses of three observers with at least five years of experience in veterinary ultrasonography.

All the statistical analyses were performed by using the Statistical Package for Social Sciences (IBM SPSS Statistics - version 24.0; SPSS Inc., Chicago, IL, EUA). The Kolmogorov-Smirnov statistical test was applied in order to verify a data normal distribution. Student's t test was utilized to compare the means of the right and left cranial thyroid arteries.

The interobserver reproducibility was used to evaluate the reliability of the measurements made by intraclass correlation coefficient. This coefficient was used for data analysis and classification, as proposed by Fleiss et al. [2003 (Table 1)].

RESULTS

Animal selection

The free T4 levels showed a mean of 1.49 ($\pm$ 0.43) ng/dl (normal values range from 0.62 to 3.03 ng/dl). One horse got levels above the limit (6.04 ng/dl) and it was excluded from the experiment. In the screening for thyroid nodular formations by ultrasound, one horse presented a nodular formation of 0.5 cm in height X 0.58 cm in width X 0.77 cm in length in the caudal portion of the right thyroid lobe. There were poorly defined contours, mixed echogenicity and discretely heterogeneous echotexture, compared to the adjacent thyroidal tissue. No significant vascularization was observed in the Doppler study. This animal was excluded from the study.

Finally, by ultrasound-guided FNAC, none of the slides presented alterations related to inflammatory, dysplastic, neoplastic or degenerative processes.

Ultrasonography

I - B-Mode Study

The descriptive statistic values for width, height and volume did not differ significantly between the right and left thyroid lobes for all the observers (Table 2). A significant difference was found related to the length parameter between the left and right thyroid lobes by observers 1 and 2. On the other hand, the observers 3 showed a tendency to present a significant difference between the length of the right and left lobes (Table 2).

The reproducibilities were homogeneous and achieved an excellent reliability for the values obtained for the observers pairs (Tables 3).

The means for the total volume of the thyroid gland calculated by ultrasonography were 13.03 ($\pm$ 4.91), 13.14 ($\pm$ 5.39) and 12.44 ($\pm$ 5.16) by observers 1, 2 and 3, respectively.

The relation between the horses' weight and the total thyroid gland volume was evaluated. A moderate relation was observed between these variables [observers 1 (33%), 2 (32%) and 3 (36%)] (Fig. 2).

In the transverse plane of the thyroid lobes presented a spherical form, and in some cases, it presented a discrete projection toward the thyroid lobe medial aspect (toward the margin of the trachea).

In the longitudinal plane, a high variation related to the elliptical format of the thyroid lobes was observed, oscillating between a rounded and flattened conformation (Fig. 3). Six animals presented pairs of lobes with similar formats (right lobe similar to left lobe, 54.54%) and five presented lobes with different formats (45.46%).

Regarding the contours, 19 thyroid lobes had regular. One left and one right thyroid lobe were slightly irregular. Only one thyroid lobe (right) was shown to be moderately irregular (Fig. 4).

All of the evaluated thyroid glands presented a slightly heterogeneous echotexture. Regarding the echogenicity, nineteen lobes (86.36%) displayed hyperechogenicity (Fig. 3A, 3B and 3D) and two left lobes (9.09%) and one right lobe (4.55%) presented isoechogenicity in relation to the sternocervical muscle (3C).

II - Doppler Study

By spectral Doppler evaluation, the cranial thyroid arteries presented a parabolic flow velocity profile. The waveforms presented a flow pattern of low resistance, which is characterized by wide continuous systolic peaks and a high diastolic with a gradual reduction velocity. The beginning of the cranial thyroid artery waves tracing was characterized by the formation of a double systolic peak, with the second peak presenting a higher amplitude (Fig. 5).

No significant difference was observed between the spectral Doppler values of the left and right cranial thyroid arteries obtained by observers 1, 2 and 3 (Table 4). In general, the Doppler parameters showed an excellent reproducibility among the three observers. However, these values were heterogeneous among pairs of evaluators (Table 5).

Color Doppler enabled a good characterization of the cranial, medial and caudal vascularization of the thyroid lobes in the longitudinal plane. The cranial thyroid artery branches were observed close to the cranial lobe of the thyroid lobes and were tortuous and discretely calibrated (Fig. 6B). The thyroid gland intralobar vessels presented a more evident vascularization in the medial portion of the gland than in the central and lateral regions (Fig. 6D, 6E and 6F). These vessels were branched from the peripheral to the central regions and were a little tortuous through the thyroid parenchyma.

DISCUSSION

The observed echotexture and echogenicity of the equine thyroid gland were similar to those of previous descriptions (Rantanen 1998, Davies et al. 2010).

A significant difference regarding the length parameter between the left and right thyroid lobes was found with ultrasonography (observers 1 and 2). However, a tendency of these values to present a significant difference between the right and left lobes was noticed by observers 3 (Table 1). The differences observed between the dimensions of the contralateral thyroid lobes could be reinforced by a previous study involving ultrasonographic evaluation of Golden Retriever dogs with healthy thyroid glands and hypothyroidism. It was verified that there was a significant difference between the height of the healthy thyroid lobes on the left and right sides (Bromel et al. 2005).

In contrast to the reproducibility analyses performed in this study, an evaluation of the ultrasound measurement variability between different observers of canine thyroid found that the length presented the biggest variation (poor agreement) among them (Taeymans et al. 2005).

The discrete differences observed between thyroid lobes by transverse plane were not significant, as no differences were found between the width and height of the left and right thyroid lobes for the three observers. The difference of format observed between the left and right thyroid lobes could be explained by a significant tendency of the three observers' values to be different. Thus, the height, width and volume of a healthy thyroid lobe can be used more safely than length as reference parameters for evaluation an altered contralateral thyroid lobe in horses. Although it has been shown that radiological measurements performed in small animals cannot be used to evaluate organ changes (Lamb & Nelson 2015), based on the present results, quantitative parameters may serve as a basis for elucidating questions regarding the variation of the format of the unhealthy thyroid lobe.

The Doppler study of the thyroid vascularization confirmed anatomical information previously described by Venzke (1975), which emphasized that the equine cranial thyroid artery is a calibrous vessel that curves over the cranial pole of the thyroid lobe emitting several branches; and that the caudal thyroid artery is a small inconstant vessel that irrigates the caudal portion of the lobes.

In the spectral Doppler analysis of the cranial thyroid artery, the visualization of a low peak preceding a second peak of greater amplitude [Early systolic peak (ESP)] is a characteristic of low resistance arteries. These vessels supply organs that present a continuous demand for blood, and this demand can change according to the functional status of the organs, with consequent alterations of the Doppler flow pattern. In the case of thyroid hormonal disturbances, variations in the Doppler flow pattern of the cranial thyroid artery may be detected, indicating the presence of thyroid disorders with an abnormal release of thyroidal hormones (Szatmári et al. 2001, Chiou et al. 2006).

It is possible to observe several studies in human ultrasonography using reproducibility as methodology for the validation of their data from a single observer and then analyzed by different observers (Järvelä et al. 2003, Raine-fenning et al. 2003, Moron et al. 2010). This same methodology was applied in the present study, justifying the reliability of the measurements made by all of the observers.

The interobserver agreement for the Doppler parameters was concordant but with heterogeneous values. The discrete variations of the systolic peak and final diastole determined by the three observers may have contributed to this heterogeneity. However, a reliable reproducibility was achieved, suggesting that the measurement variations did not interfere with the Doppler tool application in the equine cranial thyroid artery. Considering that the diagnostic accuracy of a method is an essential resource for determining its usefulness, validation of the reducibility of the Doppler parameters becomes useful for the identification of hemodynamic changes (Leão et al. 2008).

Tan et al. reported a mare diagnosed with hyperthyroidism associated with hyperplasia of the entire thyroid gland, adenocarcinoma in the left thyroid lobe and pituitary functional adenoma. The mare was treated with Propylthiouracil, and some months later, a clinical improvement of the affliction was observed (Tan et al. 2008). Ultrasonography evaluation by the cranial thyroid artery Doppler method could determine the values for PSV, RI and PI, as well as qualitative analyzes of the peripheral and intralobar vascularity characteristics of the thyroid lobes. The data obtained in the present study might be useful for establishing proper parameters to be compared with those obtained from thyroids with functional disturbances and thus help in monitoring the progression and the prognosis of the disease throughout the course of a previously established treatment.

CONCLUSIONS

We can infer there was an excellent reproducibility for thyroid quantitative parameters obtained by ultrasonography in B-mode and Doppler. The determination of the thyroid lobes contour and format variations allowed us to increase the criteria of thyroid ultrasonographic evaluation. In addition, the difference in the format of the right and left thyroid lobes in equine healthy thyroids may be explained by the significant difference and/or a tendency of the lobes length parameter to be different.

No significant difference was found between the values of the left cranial thyroid artery compared to those obtained in the right cranial thyroid artery for the three observers, suggesting that the analysis of the unilateral cranial thyroid artery spectral Doppler values can be used as a method for evaluating diffuse thyroid disorders. The qualitative evaluation of the cranial, middle and caudal portions of the thyroid lobes has provided detailed and particular information on the thyroid vascular architecture, which may be adequate to better characterize thyroid parenchymal changes caused by neoformations.

Acknowledgements- The authors thank the São Paulo Research Foundation (FAPESP) for its financial support. We also thank The National Counsel of Technological and Scientific Development (CNPq) and Coordination of Improvement of Higher Level Personnel (CAPES) for encouraging the execution of this work.

Conflict of interest statement- The authors have no competing interests.

REFERENCES

- Bromel C., Pollard R.E., Kass P.H., Samii V.F., Davidson A.P. & Nelson R.W. 2005. Ultrasonographic Evaluation of the Thyroid Gland in Healthy, Hypothyroid, and Euthyroid Golden Retrievers with Nonthyroidal Illness. *J Vet Intern Med.* 19: 499–506.
- Brown M.C. & Spencer R. 1978. Thyroid gland volume estimated by use of ultrasound in addition to scintigraphy. *Acta Radiology Oncology, Radiat. Phys. Biol.* 17 (4): 337–34.
- Davies S., Barber D., Crisman M., Tan R., Larson M. & Daniel G. 2010. Quantitative pertechnetate thyroid scintigraphy and the ultrasonographic appearance of the thyroid gland in clinically normal horses. *Vet. Radiol. Ultrasound.* 51(6): 674–680.
- Donner A. & Koval J.J. 1980. The estimation of intraclass correlation in the analysis of family data. *Biometrics.* 36: 19–25.
- Fleiss J.L., Levin B., Paik M.C. 2003. The Measurement of Interrater Agreement. In: Fleiss J.L., Levin B, Paik M.C. *Statistical Methods for Rates and Proportions.* 5 th ed. Copyright© John Wiley & Sons. 18: 598 – 626.
- Fukunari, N. 2009. Thyroid ultrasonography B-mode and color-Doppler. *Biomed Pharmacother.* 56: 55–59.
- Held J.P., Pastton C.S., Toal R.L. & Geiser D.R. 1985. Work intolerance in a horse with thyroid carcinoma. *J Am Vet Med Assoc.* 187: 1044–1045.
- Hillidge C.J., Sanecki R.K. & Theodorakis M.C. 1992. Thyroid carcinoma in a horse. *J Am Vet Med Assoc,* 181: 711–714.
- Järvelä I.Y., Sladkevicius P., Tekay A.H., Campbell S. & Nargund G. 2003. Intraobserver and interobserver variability of ovarian volume, gray-scale and color flow indices obtained using transvaginal three-dimensional power Doppler ultrasonography. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 21: 277 – 282.
- Lamb C.R. & Nelson J.R. 2015. Diagnostic Accuracy of Tests Based on Radiologic Measurements of Dogs and Cats: A Systematic Review. *Vet Radiol Ultrasound.* 56 (3): 231–244.
- Leão A.R.S., Santos J.E.M., Moulin D.S., Shigueoka D.C., Colleoni R. & D'Ippolito G. 2008. Portal blood flow volume measurement in schistosomal patients: evaluation of Doppler ultrasonography reproducibility. *Radiol Bras.* 41 (5): 305 - 308.
- Moron A.F., Milani H.J.F., Barreto E.Q.S., Araujo Júnior E., Haratz K.K., Rolo L.C. & Nardozza L.M. 2010. Analysis of three-dimensional power Doppler sonography reproducibility in the assessment of fetal brain circulation. *Radiol Bras.* 43 (6):369 - 374.
- Pellis L., Hal N.L.W.F., Burema J. & Keijer J. 2003. The intraclass correlation coefficient applied for evaluation of data correction, labeling methods, and rectal biopsy sampling in DNA microarray experiments. *Physiol Genomics.* 16: 99–106.
- Raine-fenning N.J., Campbell B.K., Clewes J.S., Kendall N.R. & Johnson I.R. 2003. The reliability of virtual organ computer-aided analysis (VOCAL) for the semiquantification of ovarian, endometrial and subendometrial perfusion. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 22:633 – 639.
- Ramirez S., McClure J.J., Moore R.M., Wolfsheimer K.J., Stephen D., Gaunt S.D., Mirza M.H. & Taylor W. 1998. Hyperthyroidism associated with a thyroid adenocarcinoma in a 21-year-old gelding. *J Vet Intern Med.* 12: 475–477.
- Rantanen N.W. 1998. Ultrasound of the Endocrine System. In: Ratanen, N.W., McKinnon. *Equine Diagnostic Ultrasonography.* Baltimore: Williams and Wilkins. 37: 645–647.
- Reef V.B. 1998. Ultrasonographic Evaluation of Small Parts. In: Reef, V.B. *Equine Diagnostic Ultrasound.* W. B. Saunders Company. 11: 480–487.
- Rosner B., Willett W.C. & Spiegelman D. 1989. Correction of logistic regression relative risk estimates and confidence intervals for systematic within-person measurement error. *Stat Med.* 8: 1051–1069.
- Saulez M.N., Kafka M.N., Martinez, L.R., Wilpe E.V. & STEYL, J. 2013. The use of nuclear imaging for a mixed C cell microfollicular carcinoma of the thyroid gland in a mature horse. *Equine vet. Educ.* 25(3): 118–125.
- Shrout P.E. & Fleiss J.L. 1979. Intraclass correlations: uses in assessing rater reliability. *Physiol Bull.* 2: 420–428.
- Szatmári V., Sótónyi P. & Voros K. Normal Duplex Doppler Waveforms of Major Abdominal Blood Vessels in Dogs: A Review. *Veterinary Radiology & Ultrasound.* 2001; 42 (2): 93–107.
- Taeymans, O. 2009. Thyroid Ultrasound in Dogs: a Review. *Ultrasound.* 17 (3): 137–143.
- Taeymans O., Duchateau L., Schreurs E., Kramer M., Daminet S. & Saunders J.H. Intra- and Interobserver Variability of Ultrasonographic Measurements of the Thyroid Gland in Healthy Beagles. *Veterinary Radiology & Ultrasound,* 2005; 46 (2): 139–142.
- Tan R.H.H., Davies S.E., Crisman M.V. & Coyle L. Daniel G.B. 2008. Propylthiouracil for Treatment of Hyperthyroidism in a Horse. *J Vet Intern Med.* 22: 1253–1258.
- Troillet A, Bottcher D, Brehm W & Scharner D. 2016. Retrospective Evaluation of Hemithyroidectomy in 14 Horses. *Veterinary Surgery* © Copyright by The American College of Veterinary Surgeons. 1 – 6.
- Turgut A.T., Erman Ç., Kosar U., Kosar P., Demirbas B. & Aral Y. 2009. Maximum Systolic Velocity of Inferior Thyroid Artery and Thyroideal Color Doppler Flow Pattern in Hypothyroid Subjects Before and After Treatment. *J Med Ultrasound.* 17(1): 44–51.

- Wisner E.R. & Nyland T.G. 1998. Ultrasonography of the thyroid and parathyroid glands. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 28: 973–991.
- Venzke W.G. 1975. Equine Endocrinology. In: Sisson, S., Grossman, J.D. *The Anatomy of the Domestic Animals.* 5th ed, Getty R. (ed). Philadelphia: WB Saunders.; 550-533.
- Ueki H, Kowatari Y., Oyamada T., Oikawa M & Yoshikawa H. 2004. Non-functional C-cell Adenoma in Aged Horses. *J. Comp. Path.* 131: 157–165.

TABLES

Table 1: Rating of interobserver agreement according to the intraclass correlation coefficient (Fleiss et al. 2003).

Intraclass correlation coefficient	Interobserver agreement
< 40	Poor
0.40 - 0.75	Moderate
0.75 – 1.00	Excellent

Table 2: The descriptive statistics and comparison between the left (Lt) and right (Rt) thyroid lobes according to the ultrasound parameters in a total of 11 horses with an average weight of 403.45 (± 36.23) kilograms.

	SITE	Observer 1		Observer 2		Observer 3	
		Mean $\pm$ SD	P	Mean $\pm$ SD	P	Mean $\pm$ SD	P
W	Lt	1.97 $\pm$ 0.37	0.571	2.07 $\pm$ 0.44	0.238	1.97 $\pm$ 0.34	0.255
	Rt	1.90 $\pm$ 0.36		1.89 $\pm$ 0.41		1.84 $\pm$ 0.35	
H	Lt	1.66 $\pm$ 0.34	0.924	1.63 $\pm$ 0.34	0.644	1.61 $\pm$ 0.36	0.716
	Rf	1.67 $\pm$ 0.27		1.59 $\pm$ 0.25		1.58 $\pm$ 0.29	
L	Lt	3.85 $\pm$ 0.44	0.049*	3.90 $\pm$ 0.42	0.027*	3.85 $\pm$ 0.51	0.079
	Rt	3.59 $\pm$ 0.33		3.66 $\pm$ 0.34		3.64 $\pm$ 0.34	
V	Lt	6.96 $\pm$ 3.06	0.217	7.19 $\pm$ 3.38	0.110	6.69 $\pm$ 3.06	0.121
	Rt	6.11 $\pm$ 2.19		5.95 $\pm$ 2.43		5.75 $\pm$ 2.37	

* Statistical t test of paired samples t for $P < 0.05$. SD: standard deviation; W: Width (cm); H: Height (cm); L: Length (cm); V: Volume (cm³).

Table 3: The means of the intraclass correlation coefficients with 95% confidence intervals for ultrasound dimensions by interobserver agreement.

INTEROBSERVER AGREEMENT				
SITE		Observers 1 and 2	Observers 1 and 3	Observers 2 and 3
		ICC (CI at 95%)	ICC (CI at 95%)	ICC (CI at 95%)
W	Lt	0.879 (0.551 - 0.967)	0.973 (0.900 - 0.993)	0.913 (0.677 - 0.977)
	Rt	0.980 (0.924 - 0.995)	0.986 (0.950 - 0.996)	0.961 (0.854 - 0.989)
H	Lt	0.996 (0.986 - 0.999)	0.997 (0.987 - 0.999)	0.994 (0.976 - 0.998)
	Rf	0.983 (0.935 - 0.995)	0.971 (0.893 - 0.992)	0.970 (0.887 - 0.992)
L	Lt	0.971 (0.891 - 0.992)	0.971 (0.892 - 0.992)	0.925 (0.720 - 0.980)
	Rt	0.972 (0.894 - 0.992)	0.963 (0.864 - 0.990)	0.942 (0.784 - 0.984)
V	Lt	0.967 (0.877 - 0.991)	0.996 (0.986 - 0.999)	0.971 (0.892 - 0.992)
	Rt	0.988 (0.956 - 0.997)	0.992 (0.971 - 0.998)	0.988 (0.955 - 0.997)

- ICC: intraclass correlation coefficients; CI at 95%: 95% confidence intervals; W: Width (cm); H: Height (cm); L: Length (cm); V: Volume (cm³).

Table 4: The descriptive statistics and comparison between the left (Lt) and right (Rt) cranial thyroid arteries according to the parameters of spectral Doppler ultrasonography in a total of 11 horses with an average weight of 403.45 (±36.23) kilograms.

SITE		Observer 1		Observer 2		Observer 3	
		Mean ± SD	P	Mean ± SD	P	Mean ± SD	P
PSV	Lt	22.99 ± 5.74	0.981	24,04 ± 6.02	0.976	21.72 ± 5.46	0.529
	Rt	22.92 ± 8.85		23,95 ± 8.84		23.19 ± 9.41	
RI	Lt	0.71 ± 0.10	0.089	0.73 ± 0.10	0.081	0.76 ± 0.10	0.085
	Rt	0.76 ± 0.09		0.78 ± 0.05		0.82 ± 0.05	
PI	Lt	1.90 ± 0.57	0.549	1.81 ± 0.81	0.236	1.69 ± 0.62	0.142
	Rt	2.07 ± 0.57		2.16 ± 0.66		2.10 ± 0.65	

- Statistical t test of paired samples t for p < 0.05. SD: standard deviation. PSV: peak systolic velocity (cm/sec); PI: pulsatility index; RI: resistive index.

Table 5: The means of the intraclass correlation coefficients with 95% confidence intervals for spectral Doppler ultrasound parameters by interobserver agreement.

		INTEROBSERVER AGREEMENT		
SITE		Observers 1 and 2	Observers 1 and 3	Observers 2 and 3
		ICC (CI at 95%)	ICC (CI at 95%)	ICC (CI at 95%)
PSV	Lt	0.846 (0.429 - 0.959)	0.805 (0.275 - 0.948)	0.790 (0.220 - 0.944)
	Rt	0.792 (0.226 - 0.944)	0.989 (0.958 - 0.997)	0.974 (0.903 - 0.993)
RI	Lt	0.990 (0.964 - 0.997)	0.929 (0.738 - 0.981)	0.954 (0.828 - 0.988)
	Rt	0.991 (0.967 - 0.998)	0.761 (0.110 - 0.936)	0.793 (0.232 - 0.944)
PI	Lt	0.952 (0.822 - 0.987)	0.855 (0.462 - 0.961)	0.914 (0.680 - 0.977)
	Rt	0.786 (0.205 - 0.942)	0.836 (0.391 - 0.956)	0.801 (0.261 - 0.947)

- ICC: intraclass correlation coefficients; CI at 95%: 95% confidence intervals; PSV: peak systolic velocity (cm/sec); PI: pulsatility index; RI: resistive index.

FIGURES

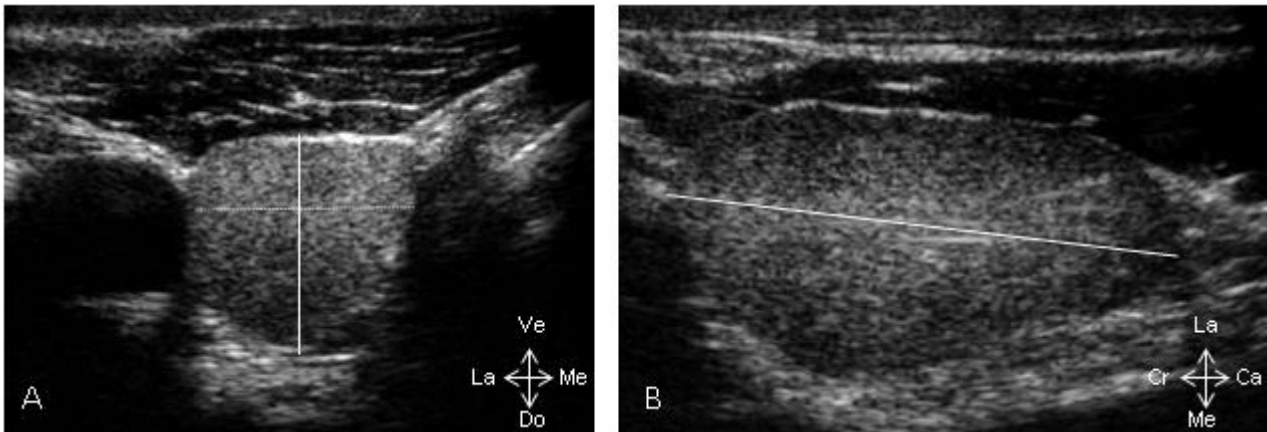


Fig. 1: Thyroid lobe in the **(A)** transverse and **(B)** longitudinal planes by ultrasonography. In A, the height and width are represented by continuous and dotted lines, respectively. In B, the length is represented by a continuous line (largest axis). Dr: dorsal; La: lateral; Me: medial; Ve: ventral.

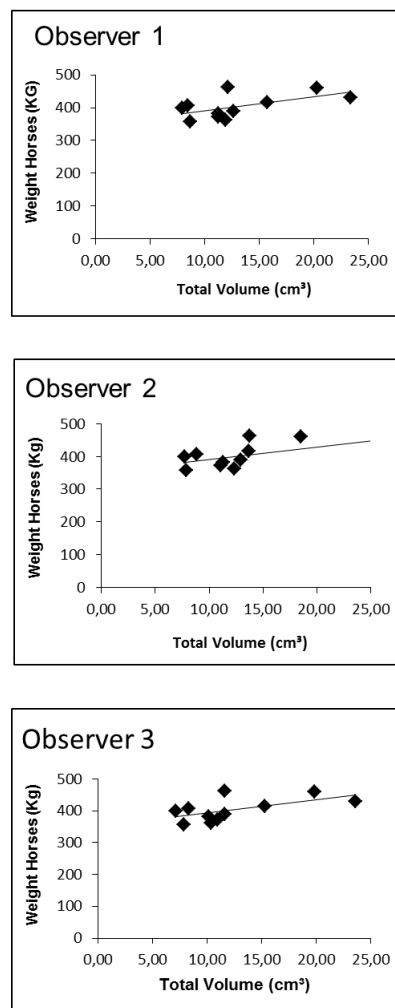


Fig. 2: Relation between the thyroid gland total volume and horses' body weight by observers 1 (R^2 : 0.33), 2 (R^2 : 0.32) and 3 (R^2 : 0.36). Lines represent linear regression line; USG: ultrasonography; R^2 : regression coefficient.

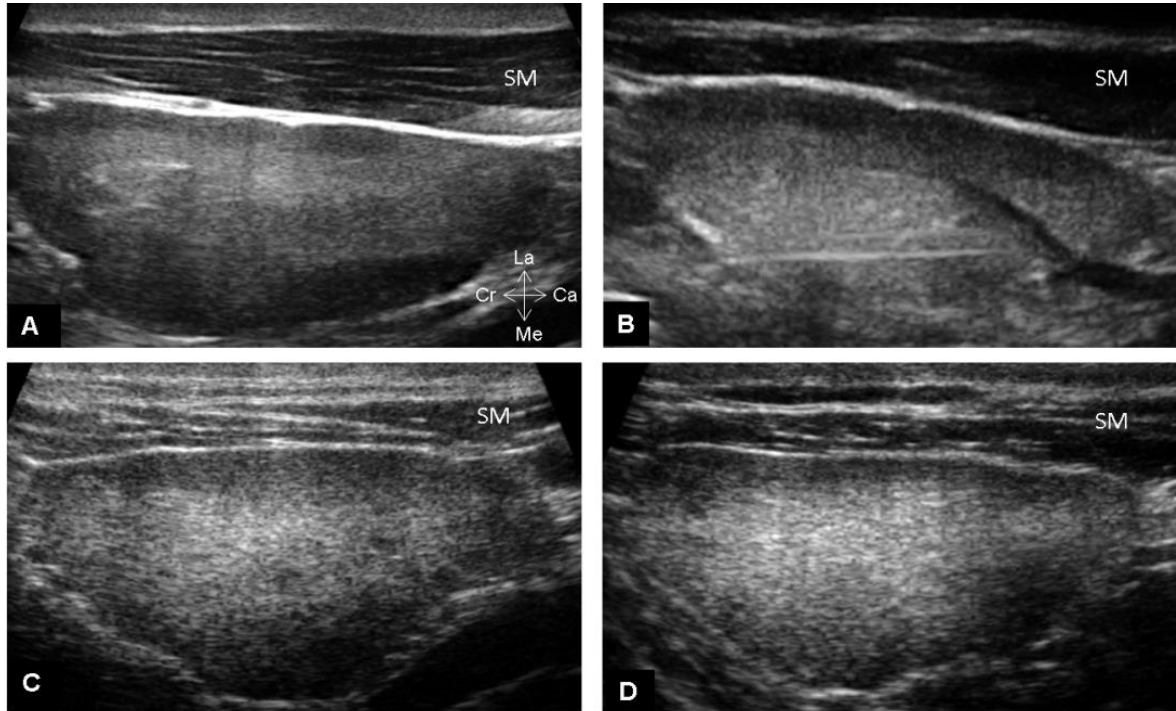


Fig. 3: Presentation of the thyroid lobe formats, showing a pair of lobes with distinct aspects [(A) left side, (B) right side] and another pair of similar lobes [(C) left side, (D) right side]. In (A), (B) and (D), it is observed that the gland is hyperechogenic in relation to the sternocleidomastoid muscle (SM). In (C), the lobe is isoecogenic in relation to the SM.

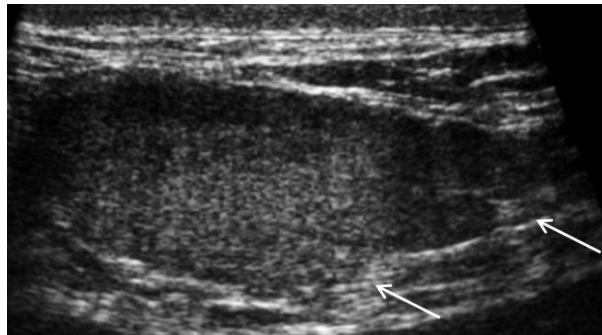


Fig. 4: Right thyroid lobe presenting moderately irregular contour (arrows) in the medial portion by ultrasonography.

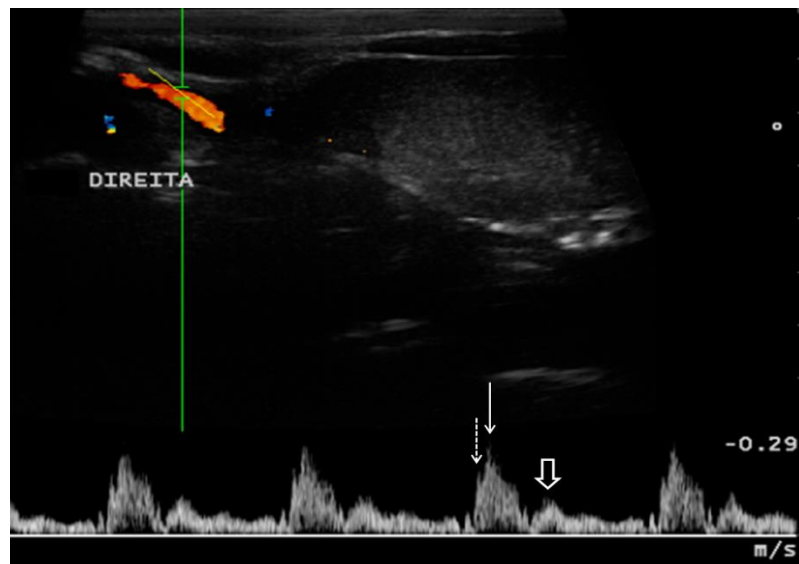


Fig. 5: Spectral Doppler of cranial thyroid artery (PRF: 2.8 KHz, angle: 50°). The dotted and continuous arrows indicate a double systolic peak, with the second showing greater amplitude [Early systolic peak (ESP)]. The velocity distribution is broad, without a spectral window, characterizing a parabolic flow velocity profile. The velocity decreases suddenly after the systolic peak but without diastolic reverse flow. Next, a high-velocity wave is observed (empty arrow), followed by gradual reduction of velocity, which characterizes the waveforms with a low-resistance flow pattern.

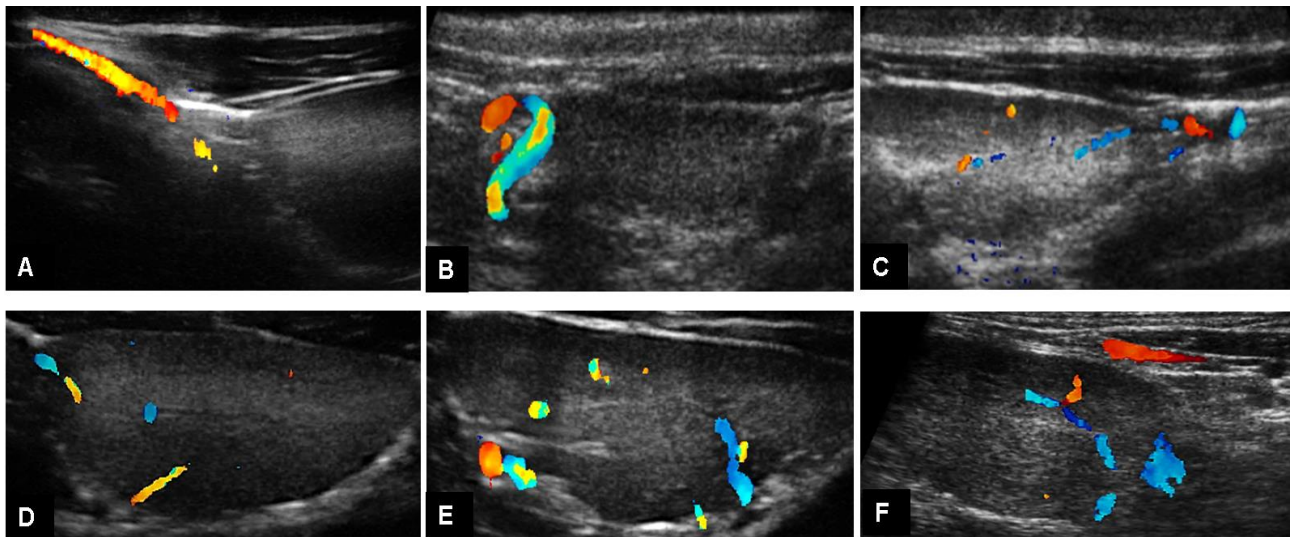


Fig. 6: Vascularization assessment in the cranial, middle and caudal regions of the thyroid lobe by color Doppler. **(A)** Calibrated and non-tortuous cranial thyroid artery directed towards the cranial pole of the thyroid lobe. **(B)** The tortuous branch of the cranial thyroid artery is highlighted proximal to the cranial pole of the thyroid lobe. **(C)** The caudal thyroid artery supplying the thyroid lobe in its caudal portion. Intralobar vessel characteristics of the **(D)** cranial, **(E)** middle and **(F)** caudal regions of the thyroid lobe.

1 *CAPÍTULO 3*

2

3 ARTIGO CIENTÍFICO 2

4

5 Revista: Journal of Equine Veterinary Science

6 Link de instruções para autores: [www.j-](http://www.j-evs.com/content/authorinfo?code=yjevs-site)
7 [evs.com/content/authorinfo?code=yjevs-site](http://www.j-evs.com/content/authorinfo?code=yjevs-site).

8

9

Title: MAGNETIC RESONANCE IMAGING OF THE NORMAL THYROID
GLAND IN ADULT HORSES.

Authors

I - Gustavo Fernandes Viana

São Paulo State University (UNESP), Department of Animal Reproduction and
Veterinary Radiology. Botucatu, São Paulo, BRAZIL. +55 14 3811-6000. E-mail:
medvetgust@hotmail.com.

II- Monica Midon

São Paulo State University (UNESP), Department of Veterinary Surgery and
Anesthesiology. Botucatu, São Paulo, Brazil. +55 14 3811-6000. E-mail:
monicamidon@yahoo.com.br

III– Alexandre Hataka

São Paulo State University (UNESP), Department of Veterinary Clinic.
Botucatu, São Paulo, BRAZIL. +55 14 3811-6000. E-mail:
ahataka@hotmail.com

IV- Luciana Carandina da Silva

São Paulo State University (UNESP), Department of Animal Reproduction and
Veterinary Radiology. Botucatu, São Paulo, BRAZIL. +55 14 38116000. E-mail:
lucianacarandina@uol.com.br

V - Mariana Werneck Fonseca

São Paulo State University (UNESP), Department of Veterinary Surgery and
Anesthesiology. Botucatu, São Paulo, BRAZIL. +55 14 3811-6000. E-mail:
ma_werneck88@hotmail.com

VI – José Nicolau Próspero Puoli Filho

34 São Paulo State University (UNESP), Department of Animal Production.
35 Botucatu, São Paulo, BR. +55 14 3880-2961. E-mail: jnppf@fmvz.unesp.br

36 VII - Vânia Maria de Vasconcelos Machado

37 São Paulo State University (UNESP), Department of Animal Reproduction and
38 Veterinary Radiology. Botucatu, São Paulo, BR. +55 14 3811-6000. E-mail:
39 vaniamvm@fmvz.unesp.br

40 **Corresponding Author:** Gustavo Fernandes Viana (E-mail:
41 medvetgust@hotmail.com).

42 **Abstract**

43 Magnetic resonance imaging (MRI) may play a critical role in the detection of
44 lymph node metastases, and it is critical for evaluating the extension of tumors
45 into adjacent tissues. However, to the best of our knowledge, no studies have
46 been reported demonstrating the use of MRI in thyroid evaluation in horses. The
47 purpose of this study was to select the best imaging sequences through the
48 evaluation the contours, intensity and homogeneity of signal of the normal
49 thyroid; to determinate reliably their measurements from the comparison
50 between the left and right thyroid lobes, as well as assessing the format thyroid
51 lobes and to describe the main anatomical structures of the neck ventroproximal
52 portion. The sample size initially was determined by the animal selection with
53 advanced age and without volume increase in the neck proximal region. Finally,
54 eleven horses were selected by laboratory test, ultrasonography and cytology
55 thyroid. These horses were submitted to thyroid lobes evaluation by MRI. It was
56 concluded that the dorsal spin echo T1-weighted, sagittal fast gradient echo T1-
57 weighted, fast spin echo T2-weighted and sagittal STIR were the sequences
58 that best characterized the thyroid gland regarding the definition of its contours

and signal intensity contrast in relation to the adjacent tissues. These sequences presented an excellent resolution to characterize the anatomical aspects of the thyroid lobes and their adjacent structures. There was an excellent reliability for the determination of the thyroid measurements. Thus, this study allowed us to suggest that the thyroid lobes may be different format (flat and rounded) in healthy glands because of the length parameter.

Keywords: MRI; thyroid lobes; equine.

1. Introduction

Neoplasia is the most common finding among thyroid gland (*Glandula thyreoidea*) changes in horses. It is usually unilateral, derived from adenomas of parafollicular cells (C cells) and occurs mainly in aged horses [1, 2]. Thyroid malignant neoplasias are less frequent and, in some cases, can be responsible for triggering hypo- or hyperthyroidism [3, 4, 5, 6]. Thyroid disorders in horses are not often reported in clinical routine since they present silent evolution until they become visible as a considerable enlargement in the ventrolateral proximal region of the neck. These tumors can compromise adjacent structures to the gland, such as the trachea, causing respiratory stridor, exercise intolerance and, in severe cases, suffocation [1, 7].

In retrospective studies, ultrasonography of the equine thyroid provided excellent spatial resolution, making it suitable for evaluating the thyroid volume and tumors margin. [8, 9, 10]. Ultrasound limitations include the inability to image the soft tissues dorsal to the trachea, limited field of view, and difficulty in confirming thyroid origin of large neck masses that distort the anatomy [11, 12].

In humans and pets, magnetic resonance imaging (MRI) provides important adjunctive anatomic information in thyroid disorders, especially for

assessing advanced carcinomas [11, 13]. This modality may play a critical role in the detection of lymph node metastases, and it is critical for evaluating the extension of tumors into adjacent tissues [14]. However, to the best of our knowledge, no studies have been reported demonstrating the use of MRI in thyroid evaluation in horses. Low field MRI demands an extended anesthesia time for image examination [15]. It is extremely necessary to select the best imaging sequences to evaluate the thyroid lobes in order to reduce anesthetic time and, consequently, the risks produced by this effect in the animal.

Before using MRI for assessing thyroid disease, it is important to know the normal MRI features of the thyroid gland. The purpose of this study was (1) to select the best imaging sequences through the evaluation the contours, intensity and homogeneity of signal of the normal thyroid; (2) to determinate reliably their measurements from the comparison between the left and right thyroid lobes, as well as assessing the format thyroid lobes and (3) to describe the main anatomical structures of the neck ventroproximal portion.

2. Materials and methods

2.1 Animal selection

The sample size was initially determined by the selection of crossbreed animals with advanced age (risk factor for thyropaties) and clinically certified as without apparent volume increase in the ventrolateral proximal region adjacent to the larynx. Finally, eleven crossbreed horses (seven males and four females) with healthy thyroid were selected by laboratory test to evaluate thyroxine by equilibrium dialysis, search for neoformation in the thyroid parenchyma visualized by ultrasonography and fine needle aspiration cytology guided by

ultrasound. The age of these horses ranged from 11 to 22 years and the mean weight was 403.45 ($\pm$ 36.23) kg.

The thyroids of the selected animals were submitted to MRI. At the end of this exam, the horses were submitted to cytological examination of the thyroid lobes to ensure that only healthy thyroid glands were being evaluated. This study was carried out from September 2015 to November 2016, and it was approved and performed in accordance with the Ethics Committee of the Sao Paulo State University (protocol number: 165/2013-CEUA).

2.2. Laboratory exam and search of thyroid neoformations by ultrasonography

Blood samples were sent to a specialized laboratory for the diagnosis of veterinary endocrine disorders (B.E.T. Laboratories, Rio de Janeiro, Brazil) for the determination of the free and biologically active fractions of thyroxine (free T4) by the method of radioimmunoassay (equilibrium dialysis).

A portable ultrasound apparatus (MyLabTM 30VETGold, Esaote, Genova, Italy) with an 18 MHz multi-frequency linear transducer (MyLabTM, Model LA435; Esaote, Genova, Italy) was used to investigate the neoformations presence in the thyroid parenchyma.

2.3. Ultrasound-guided fine needle aspiration cytology (FNAC)

Ultrasound-guided FNAC was performed by a Veterinary Pathology Associate Professor at Sao Paulo State University with more than 20 years of experience in cytology. The cytological exam was performed after the MRI studies. It permitted a more reliable evaluation of the thyroid parenchyma without any influence from acute and/or chronic inflammatory alterations, which could be visualized by such techniques.

The first six horses were submitted to ultrasound-guided FNAC one week later the MRI study with the aim to reduce any adverse effects caused by the increased exposure to anesthesia. For this procedure, the animals were sedated and the puncture performed with the standing animal. A portable ultrasound apparatus with an 18 MHz multi-frequency linear transducer (the same one used for searching for thyroid nodular formations by ultrasound) was used.

The last five horses were kept anesthetized after exam MRI by inhalational anesthesia to perform the FNAC

2.3. MRI

2.3.1. Images Sequences

For the acquisition of MRI sequences, the horses were positioned in right lateral recumbency under general anesthesia, with inhaled isoflurane and oxygen. A 0.25-Tesla field (Vet-MR Grande, Esaote, Genova, Italy) with four RF channels was used for all MRI examinations. The coil [(C-shaped Coil - Small Animals/Equine (head, spine, shoulders, hip, horse extremities) Esaote, Genova, Italy)] was positioned in the area corresponding to C1 and C2 at the level of the larynx/trachea (Fig. 1).

The slice thickness, range of relaxation time (TR), time to echo (TE), flip angle (FA), characterized the MRI sequences. It was included with slice thickness of 5 mm the sagittal and dorsal spin echo T1-weighted (TR: 500; TE: 18), transversal and sagittal fast spin echo T2-weighted (TR: 4300; TE: 90), and transversal and sagittal STIR (Short Time Inversion Recovery): (TR: 2800; TE: 24). A slice thickness of 1.4 mm was used for the sagittal fast gradient echo T1-weighted (TR: 33.33; TE: 14; FA: 65), including its respective transverse

and dorsal plane reconstructions. Additionally, we include another fast gradient echo T1-weighted (TR: 10; TE: 5; FA: 30) sequence in the dorsal plane and with a slice thickness of 1.20 mm.

From a specific program for the analysis of radiological examinations (ClearCanvas Workstation – version 2.0 SP1; Toronto, Canada) the imaging sequences described above were initially evaluated concerning the thyroid definition and thyroid lobes intensity of signal in relation to their adjacent tissues by a Veterinary Radiology Associate Professor at Sao Paulo State University, with seven years of experience in equine MRI.

The sequences of images that better defined the contours and showed greater signal intensity contrast between the thyroid lobes and adjacent structures were selected and stored. These sequences were used later to perform the measurement of its lobes.

2.3.2. Contour, intensity and homogeneity of signal

The thyroid contours were characterized according to the definition (clearly or poorly defined) and regularity (regular or irregular) of their lateral and medial portions. Relative thyroid tissue intensity compared with surrounding structures and homogeneity of the lobes was recorded for all sequences. For intensity of signal, the lobes were classified in isointense, hyperintense and hypointense regarding its adjacent tissue. For thyroid homogeneity: homogeneous and heterogeneous.

2.3.3. Dimensions

Images with greater extension of the thyroid lobes were selected in the sagittal plane to determine the length and in the transversal plane to measure the height and width (Fig. 2).

The presence of isthmus in some pairs of thyroid lobes was detected. The isthmus length was not part of the total length of the thyroid lobe; it was based on the distance between the cranial and caudal poles of the thyroid lobe.

For both techniques, the determination of the volume of the left thyroid lobe (VLTL) and right TL (VRTL) was estimated by the equation: length X width X height X $\pi/6$. The total glandular volume corresponded to the sum of the two lobes in the same animal (VLTL cm³ + VRTL cm³). This formula, designed to obtain the volume of elliptical forms, has been employed in human and veterinary medicine to calculate thyroid volume [16, 17].

2.3.4. Format and anatomical structures of the neck ventroproximal portion

For format, the approximate geometric form of the thyroid lobes was described in each image plane with its respective variations. For each technique, the lobes in the longitudinal and sagittal planes were classified as flat and rounded. For the transverse plane, they were classified as spherical and elliptical.

The main anatomical structures of the neck ventroproximal portion visualized in the best imaging sequences were described by the methodology of Rohen & Yokoshi [18].

2.3.5. Statistical analysis

The MRI measurements were determined by the analyses of three observers with a doctorate in Radiology of Animals with at least five years of veterinary diagnostic imaging experience. The observers did not know the measures obtained by each of them.

All the statistical analyses were performed by using the Statistical Package for Social Sciences (IBM SPSS Statistics for Windows - version 24.0;

SPSS Inc., Chicago, IL, EUA). The Kolmogorov-Smirnov statistical test was applied in order to verify a data normal distribution. Student's t test was utilized to compare the means of the quantitative findings from the left with the right thyroid lobes by MRI.

The interobserver reproducibility was used to evaluate of the measurements performed. The intraclass correlation coefficient was used for data analysis and classification, as proposed by Fleiss et al. [19] (Table 1).

The Simple linear regression analysis was used to correlate the thyroid gland total volume (independent variable) with the animal's weight (dependent variable). The scatter plot and the determination coefficient were used for the interpretation of this test. A confidence interval of 95% was considered for all tests.

3. Results

The dorsal spin echo T1-weighted, sagittal fast spin echo T2-weighted, sagittal STIR and sagittal fast gradient echo T1-weighted (TR: 33,33; TE: 14) and its respective transverse and dorsal plane reconstructions were the sequences that best characterized the thyroid gland regarding the definition of its contours and signal intensity contrast in relation to its adjacent tissues.

A higher heterogeneous signal pattern was observed for spin echo T1-weighted, fast spin echo T2-weighted and STIR when compared with fast gradient echo T1-weighted. Spin echo T1-weighted, STIR and fast gradient echo T1-weighted were iso- or slightly hyperintense in relation to the adjacent muscles. Fast spin echo T2-weighted showed a greater contrast differentiation between adjacent tissues. In this sequence, the thyroid gland was hyper- or

slightly isointense in relation to the adjacent muscles and was hypointense in relation to perithyroid fat (Fig. 3).

The STIR allowed an efficient evaluation of the fat distribution in relation to fast spin echo T2-weighted. At the STIR sequence, fat suppression enabled a better distinction of the thyroid gland in relation to adjacent tissues. The thyroid lobe presented a reduced signal, suggesting the presence of an important amount of fat in its parenchyma. The gland showed a slight increase of signal in relation to its adjacent tissues, enabling their differentiation (Fig. 3).

The image artifact generated by blood flow of the carotid artery hampered the visualization of the thyroid lobes adjacent structures in some cases. The images acquired by fast gradient echo T1-weighted presented less artifact influence.

The sagittal fast gradient echo T1-weighted of the thyroid lobes provided broader and well-defined contour images than all the sequences selected for this study and, consequently, it was possible to better evaluate the lobes regularity. The lateral aspect presented a regular contour in all of the evaluated glands. However, variations were observed in the medial portion. 17 thyroid lobes had regular contours. One left and one right lobe were slightly irregular. The MRI revealed two right thyroid lobes and one left lobe to be moderately irregular.

Dorsal reconstruction revealed a better topographic arrangement of the structures located in the dorsal and ventral portions of the equine neck. Six horses (54.54%) had their thyroid lobe pairs present on the same topographic level. Three animals (27.27%) had the right lobe closer to the larynx than the

left one, and two (18.19%) presented the left lobe closer to the larynx than the right lobe.

The reconstruction in the transverse plane of the sagittal fast gradient echo T1-weighted clearly demonstrated a proper image sequence for the width and height evaluation (Fig. 2A). The thyroid lobes did not appear enlarged or with defined contours in dorsal plane fast gradient echo T1-weighted when compared to the sagittal and transverse plane and, therefore, the accuracy of their measurements (length and width) was questionable. For these reasons, sagittal and transverse fast gradient echo T1-weighted were the sequences used to perform the thyroid lobe measurements.

The descriptive statistic values for width, height and volume significantly did not differ between the right and left thyroid lobes for all the observers (Table 2). A significant difference was found related to the length parameter between the left and right thyroid lobes (observers 1 and 3). On the other hand, the observer 2 showed a tendency to present a significant difference between the length of the right and left lobes (Table 2).

The MRI studies reproducibilities were homogeneous and achieved an excellent reliability for the values obtained for the observers pairs (Table 3).

The means for the total volume calculated were 14.98 ($\pm$ 6.13), 14.32 ($\pm$ 6.77) and 13.63 ($\pm$ 5.54) by observers 1, 2 and 3, respectively.

The relation between the horses' weight and the total thyroid gland volume was evaluated (Fig. 4). It was suggested that this relation may vary from moderate [observers 1 (60%) and 2 (51%)] to strong [observer 3 (61%)].

In the transverse, the MRI evidenced the elliptical thyroid lobe form. Some right lobes were different from the left lobes, varying between flattened

and rounded conformations of the thyroid lobes. Eight animals (72.72%) presented differences between lobes.

It was observed a discrete variety of elliptical forms in the sagittal plane. Six animals presented pairs of lobes with similar formats (right lobe similar to left lobe, 54.54%) and five presented lobes with different formats (45.46%).

The main anatomical structures of the neck ventroproximal portion were described through the figure 3.

4. Discussion

The cytological examination significantly increased the accuracy of selected healthy thyroid glands. Additionally, the use of ultrasound-guided FNAC assured the integrity of important neck structures such as the carotid artery and trachea.

The relatively small dimensions of the gland and its medial delimitation with the tracheal rings limited the puncture movements, and in some cases it was necessary to repeat the ultrasound-guided cytology procedure. The standing position of the horses and the instability of the neck during the sedation generated difficulties in performing this procedure. In contrast, the lateral recumbency position allowed neck stability and a better positioning for applying the 45-degree angle needed for puncturing the thyroid gland. Thus, higher success rates were observed obtaining suitable cytological material with this last position, and it is recommended for further studies.

By using a low field MRI apparatus, it was also not possible to differentiate between the thyroid and parathyroid tissues. In horses, the external (cranial) and internal (caudal) parathyroid glands are usually infiltrated in the dorsomedial borders of the thyroid parenchyma [20].

For the diagnosis of neoplasias by imaging techniques, there is a tendency of the evaluators to use the contralateral healthy lobe as a model for the evaluation of the altered one [9, 10] since such thyropathies are usually unilateral in horses. However, a positive relation between the left and right thyroid lobes of the equine had not yet been verified. This study allowed a broader evaluation of the parameters of the healthy thyroid gland established by MRI, which may contribute to a better assessment of the progression of thyroid changes in horses.

To generate reliable measurements of thyroid lobes, we used the intraclass correlation coefficient. This analysis is the relatively simple statistical procedure used to determine the reproducibility of a variable measurement [21, 22, 23] and can be used to estimate methodological and biological variation for validating data in the normalization procedure [24].

A significant difference regarding the length parameter between the left and right thyroid lobes was found by observers 1 and 3. However, a tendency of these values to present a significant difference between the right and left lobes was noticed by observer 2. The differences observed between the dimensions of the contralateral thyroid lobes could be reinforced by a previous study involving ultrasonographic evaluation of Golden Retriever dogs with healthy thyroid glands and hypothyroidism. It was verified that there was a significant difference between the height of the healthy thyroid lobes on the left and right sides [25].

In contrast to the reproducibility analyses performed in this study, an evaluation of the ultrasound measurement variability between different

observers of canine thyroid found that the length presented the biggest variation (poor agreement) among them [26].

The difference observed between the format of the left and right thyroid lobes could be explained by the difference in the length values. The discrete differences observed between thyroid lobes by transverse plane were not significant, as no differences were found between the width and height of the left and right thyroid lobes for the three observers. Thus, the height, width and volume of a healthy thyroid lobe can be used more safely than length as reference parameters for evaluation an altered contralateral thyroid lobe in horses. Although it has been shown that radiological measurements performed in small animals cannot be used to evaluate organ changes [27], based on the present results, quantitative parameters may serve as a basis for elucidating questions regarding the variation of the format of the unhealthy thyroid lobe.

Davies et al. [8] obtained thyroid gland total volume values greater than those determined in this study. This fact could be explained because horses with heavier breed patterns were used. In our study, the correlation weight versus total volume obtained by MRI (moderate to strong) justify that the animal weight is related to volume of the thyroid. Similar correlations have also been found in other species of animals and humans. A study involving MRI of dog thyroid glands showed a high correlation between the diameters of thyroid lobes and the respective body weights of the corresponding dogs [28]. In human medicine, many variables (weight, height, body surface area, fat-free mass) were correlated with total thyroid volume by ultrasonography [29]. Body surface area accounted for much of the variation of thyroid volume. It is important to

note that this last study had a similar result to ours, suggesting a moderate correlation between weight and volume.

5. Conclusion

It was concluded that the dorsal spin echo T1-weighted, sagittal fast gradient echo T1-weighted, fast spin echo T2-weighted and sagittal STIR were the sequences that best characterized the thyroid gland regarding the definition of its contours and signal intensity contrast in relation to the adjacent tissues. These sequences presented an excellent resolution to characterize the anatomical aspects of the thyroid lobes and their adjacent structures, suggesting the MRI applicability in the evaluation of neoplastic thyroid processes involving their surrounding tissues. There was an excellent reliability for the determination of the thyroid measurements. Thus, this study allowed us to suggest that the thyroid lobes may be different format (flat and rounded) in healthy glands because of the length parameter.

In horses without thyropathies, it is suggested that other variables (such as body surface area) could be correlated with their respective total thyroid volumes. The values resulting from these relationships might aid in the elucidation of the thyroid's affections. New cases reports of thyroid disorders in horses must be described by applying the proposed evaluation methods in this study with the aim of validating them for use in the clinical routine.

6. Acknowledgements

The authors thank the São Paulo Research Foundation (FAPESP) for its financial support. We also thank The National Counsel of Technological and Scientific Development (CNPq) and Coordination of Improvement of Higher Level Personnel (CAPES) for encouraging the execution of this work.

7. References

- [1] Ueki H, Kowatari Y, Oyamada T, Oikawa M, Yoshikawa H. Non-functional C-cell Adenoma in Aged Horses. *J. Comp. Path.*, 2004; 131: 157–165.
- [2] Troillet A, Bottcher D, Brehm W, Scharner D. Retrospective Evaluation of Hemithyroidectomy in 14 Horses. *Veterinary Surgery* © Copyright by The American College of Veterinary Surgeons. 2016: 1 – 6.
- [3] Held JP, Pastton CS, Toal RL, Geiser, DR. Work intolerance in a horse with thyroid carcinoma. *J Am Vet Med Assoc*, 1985; 187: 1044-1045.
- [4] Hildge CJ, Sanecki RK, Theodorakis, MC. Thyroid carcinoma in a horse. *J Am Vet Med Assoc*, 1982; 181: 711-714.
- [5] Ramirez S, McClure, JJ, Moore RM, Wolfsheimer KJ, Stephen D, Gaunt, SD, Mirza MH, Taylor W. Hyperthyroidism associated with a thyroid adenocarcinoma in a 21-year-old gelding. *J Vet Intern Med*, 1998; 12: 475–477.
- [6] Tan RHH, Davies SE, Crisman MV, Coyle L, Daniel, GB. Propylthiouracil for Treatment of Hyperthyroidism in a Horse. *J Vet Intern Med*. 2008; 22: 1253–1258.
- [7] Elce YA, Ross MW, Davidson, EJ, Tulleners, EP. Unilateral thyroidectomy in 6 horses. *Vet. Surg*. 2003; 32:187-190.
- [8] Davies S, Barber D, Crisman M, Tan R, Larson M, Daniel G. Quantitative pertechnetate thyroid scintigraphy and the ultrasonographic appearance of the thyroid gland in clinically normal horses. *Vet. Radiol. Ultrasound*. 2010; 51(6): 674–680.

- 400 [9] Saulez MN, Kafka MN, Martinez LR, Wilpe EV, Steyl J. The use of nuclear
401 imaging for a mixed C cell microfollicular carcinoma of the thyroid gland in a
402 mature horse. *Equine vet. Educ.* 2013; 25 (3): 118-125.
- 403 [10] Perez-Ecija A, Toribio RE, Mendoza FJ. Endocrine tumours in equids.
404 *Equine vet. Educ.* 2017; 1-7.
- 405 [11] Gotway MB, Higgins CB. MR imaging of the thyroid and parathyroid glands.
406 *Magn Reson Imaging* 2000; 8 (1): 163–82.
- 407 [12] Yousem DM, Scheff AM. Thyroid and parathyroid gland pathology. Role of
408 imaging. *Otolaryngol Clin North Am* 1995; 28:621–649.
- 409 [13] Taeymans O, Peremans K, Saunders, JH. Thyroid Imaging in the Dog:
410 Current Status and Future Directions. *J Vet Intern Med.* 2007; 21: 673–684.
- 411 [14] Taeymans O, Penninck DG, Peters RM. Comparison Between Clinical,
412 Ultrasound, CT, MRI, and Pathology Findings in Dogs Presented for Suspected
413 Thyroid Carcinoma. *Vet Radiol Ultrasound.* 2013; 54: 61–70.
- 414 [15] Werpy N. Low-field MRI in horses: practicalities and image acquisition. In:
415 Murray RC. *Equine MRI.* 2011; 3: 75 – 99.
- 416 [16] Wisner ER, Nyland TG. Ultrasonography of the thyroid and parathyroid
417 glands. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 1998; 28: 973–991.
- 418 [17] Brown MC, Spencer R. Thyroid gland volume estimated by use of ultrasound
419 in addition to scintigraphy. *Acta Radiology Oncology, Radiat. Phys. Biol.* 1978; 17
420 (4): 337-34.

- 421 [18] Rohen JM, Yokoshi C. Color Atlas of Anatomy. A Photographic Study of
422 Human Body. Stuttgart: F.K. Schatauer Verlag. 1989.
- 423 [19] Fleiss JL, Levin B, Paik MC. The Measurement of Interrater Agreement. In:
424 Fleiss JL, Levin B, Paik MC. Statistical Methods for Rates and Proportions. 5 th
425 ed. Copyright® John Wiley & Sons, Inc. 2003; 18: 598 – 626.
- 426 [20] Venzke WG. Equine Endocrinology. In: Sisson, S.; Grossman, J. D. The
427 Anatomy of the Domestic Animals. 5 th ed, Getty R. (ed). Philadelphia: WB
428 Saunders. 1975; 550-533.
- 429 [21] Donner A, Koval JJ. The estimation of intraclass correlation in the analysis of
430 family data. Biometrics. 1980; 36: 19–25.
- 431 [22] Rosner B, Willett WC, Spiegelman D. Correction of logistic regression
432 relative risk estimates and confidence intervals for systematic within-person
433 measurement error. Stat Med. 1989; 8: 1051–1069.
- 434 [23] Shrout PE, Fleiss JL. Intraclass correlations: uses in assessing rater
435 reliability. Physiol Bull. 1979; 2: 420–428.
- 436 [24] Pellis L, Hal NLWF, Burema J, Keijer J. The intraclass correlation coefficient
437 applied for evaluation of data correction, labeling methods, and rectal biopsy
438 sampling in DNA microarray experiments. Physiol Genomics. 2003; 16: 99–106.
- 439 [25] Bromel C, Pollard RE, Kass PH, Samii VF, Davidson AP, Nelson RW.
440 Ultrasonographic Evaluation of the Thyroid Gland in Healthy, Hypothyroid, and
441 Euthyroid Golden Retrievers with Nonthyroidal Illness. J Vet Intern Med. 2005;19:
442 499–506.

443 [26] Taeymans O, Duchateau L, Schreurs E, Kramer M, Daminet S, Saunders
444 JH. Intra- and Interobserver Variability of Ultrasonographic Measurements of the
445 Thyroid Gland in Healthy Beagles. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 2005; 46
446 (2): 139–142.

447 [27] Lamb CR, Nelson JR. Diagnostic Accuracy of Tests Based on Radiologic
448 Measurements of Dogs and Cats: A Systematic Review. *Vet Radiol Ultrasound*.
449 2015; 56 (3): 231–244.

450 [28] Taeymans O, Dennis R, Saunders JH. Magnetic Resonance Imaging of the
451 Normal Canine Thyroid Gland. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 2008; 49 (3):
452 238–242.

453 [29] Gómez JM, Maravall FJ, Gómez N, Gumà A, Soler J. Determinants of
454 thyroid volume as measured by ultrasonography in healthy adults randomly
455 selected. *Clinical Endocrinology*. 2000; 53: 629-634.

456

457

458

459

460

461

462

TABLES

Table 1: Rating of interobserver agreement according to the intraclass correlation coefficient (Fleiss et al. 2003).

Intraclass correlation coefficient	Interobserver agreement
< 0.40	Poor
0.40 - 0.75	Moderate
0.75 – 1.00	Excellent

Table 2: The descriptive statistics and comparison between the left (Lt) and right (Rt) thyroid lobes with the respective parameters evaluated by MRI in the fast gradient echo T1-weighted (Turbo 3D T1) image sequence in a total of 11 horses with average weight of 403.45 (± 36.23) kilograms.

SITE		Observer 1		Observer 2		Observer 4	
		Mean $\pm$ SD	P	Mean $\pm$ SD	P	Mean $\pm$ SD	P
W	Lt	1.49 $\pm$ 0.26	0.689	1.32 $\pm$ 0.41	0.474	1.50 $\pm$ 0.30	0.270
	Rt	1.46 $\pm$ 0.28		1.39 $\pm$ 0.30		1.42 $\pm$ 0.35	
H	Lt	2.45 $\pm$ 0.51	0.099	2.50 $\pm$ 0.48	0.247	2.37 $\pm$ 0.41	0.414
	Rt	2.29 $\pm$ 0.39		2.38 $\pm$ 0.33		2.30 $\pm$ 0.34	
L	Lt	4.07 $\pm$ 0.52	0.033*	4.03 $\pm$ 0.53	0.063	3.80 $\pm$ 0.29	0.035*
	Rt	3.79 $\pm$ 0.45		3.76 $\pm$ 0.44		3.58 $\pm$ 0.35	
V	Lt	8.13 $\pm$ 3.53	0.110	7.51 $\pm$ 4.29	0.357	7.31 $\pm$ 2.98	0.113
	Rt	6.85 $\pm$ 2.90		6.80 $\pm$ 2.80		6.35 $\pm$ 2.81	

* Statistical t test of paired samples t for $P < 0.05$. SD: standard deviation. W: Width (cm); H: Height (cm); L: Length (cm); V: Volume (cm³).

Table 3: The Means of the intraclass correlation coefficients with 95% confidence intervals for MRI dimensions by interobserver agreement.

INTEROBSERVER AGREEMENT				
	SITE	Observers 1 and 4	Observers 1 and 2	Observers 2 and 4
		ICC (CI at 95%)	ICC (CI at 95%)	ICC (CI at 95%)
W	Lt	0.873 (0.529 - 0.966)	0.915 (0.686 – 0.977)	0.870 (0.515 – 0.965)
	Rt	0.948 (0.808 – 0.986)	0.953 (0.824 – 0.987)	0.936 (0.762 – 0.983)
H	Lt	0.978 (0.917 – 0.994)	0.990 (0.961 – 0.997)	0.985 (0.943 – 0.996)
	Rf	0.967 (0.878 – 0.991)	0.977 (0.913 – 0.994)	0.959 (0.848 – 0.989)
L	Lt	0.842 (0.412 – 0.957)	0.997 (0.987 – 0.999)	0.837 (0.394 – 0.956)
	Rt	0.867 (0.505 – 0.964)	0.983 (0.938 – 0.996)	0.895 (0.611 – 0.972)
V	Lt	0.958 (0.842 – 0.989)	0.977 (0.915 – 0.994)	0.925 (0.721 – 0.980)
	Rt	0.985 (0.945 – 0.996)	0.999 (0.995 - 1,000)	0.986 (0.949 – 0.996)

* ICC: intraclass correlation coefficients; CI at 95%: 95% confidence intervals; W: Width (cm); H: Height (cm); L: Length (cm); V: Volume (cm³).

FIGURES



Fig. 1: Horse in right lateral decubitus, with a coil positioned at the level of the trachea and larynx during the MRI study of the normal thyroid gland.

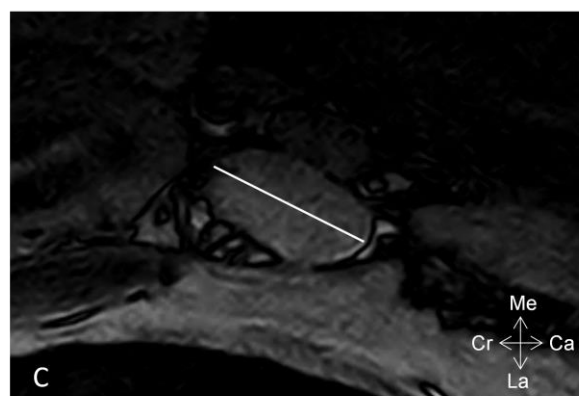
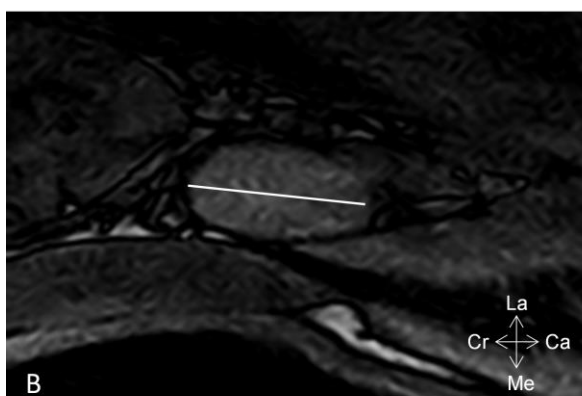
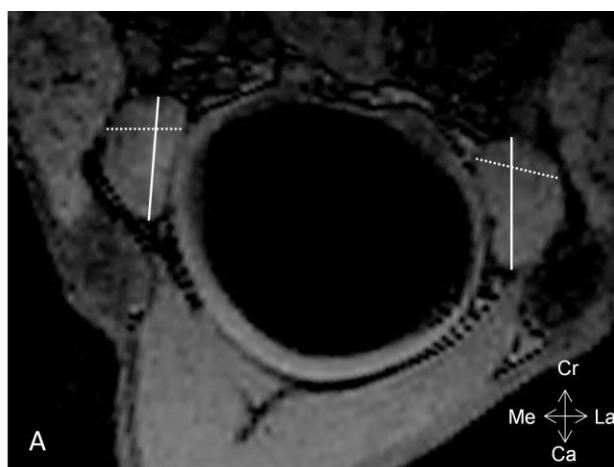


Fig. 2: Fast gradient echo T1-weighted sequence on the transverse (A) and sagittal (B and C) planes of the equine neck proximal region. In A, the height and width of the thyroid lobes are represented by continuous and dotted lines, respectively. In B and C, the length is represented by the continuous line, in the right and left thyroid lobe, respectively. Dr: dorsal; La: lateral; Me: medial; Ve: ventral.

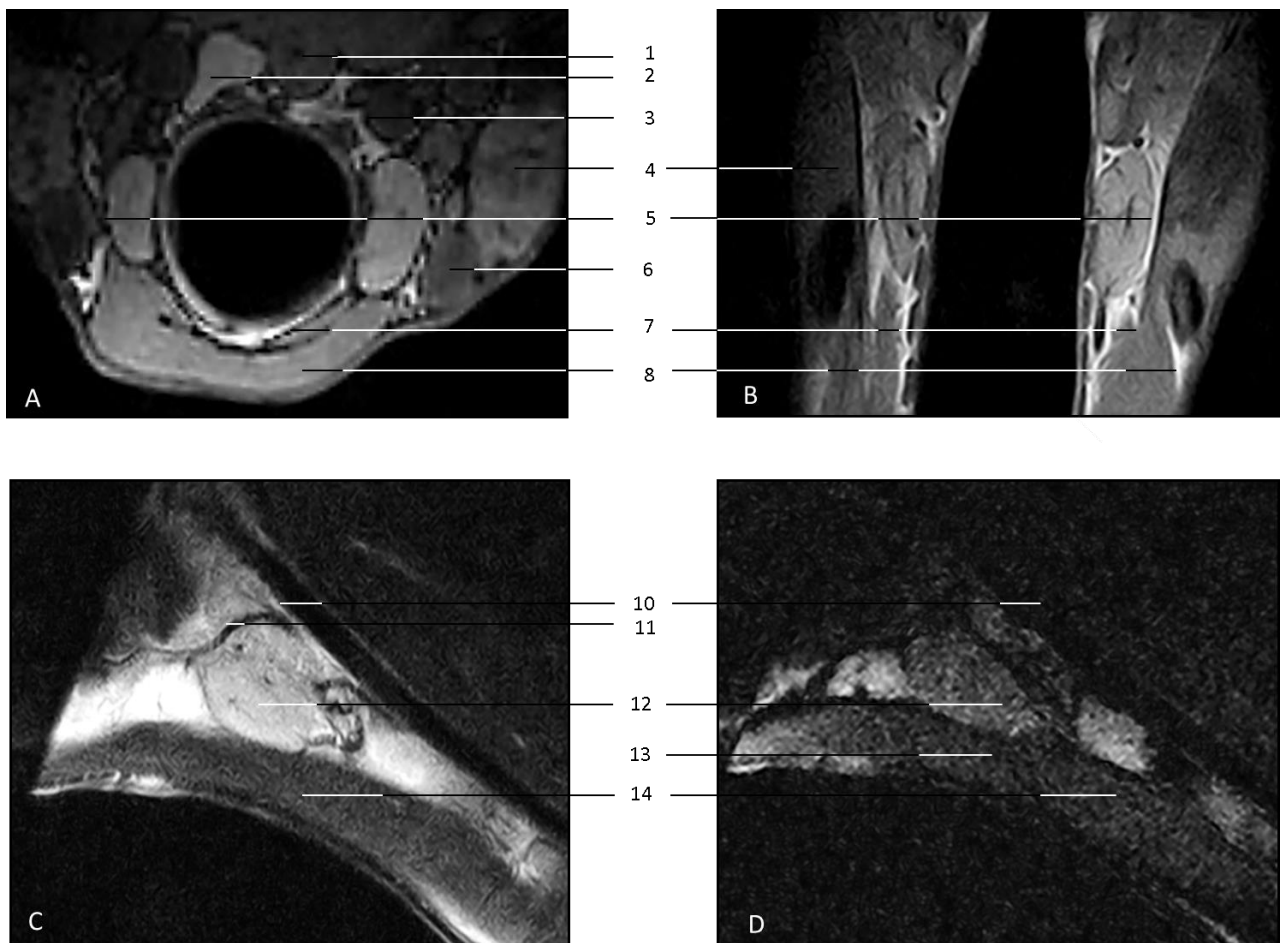
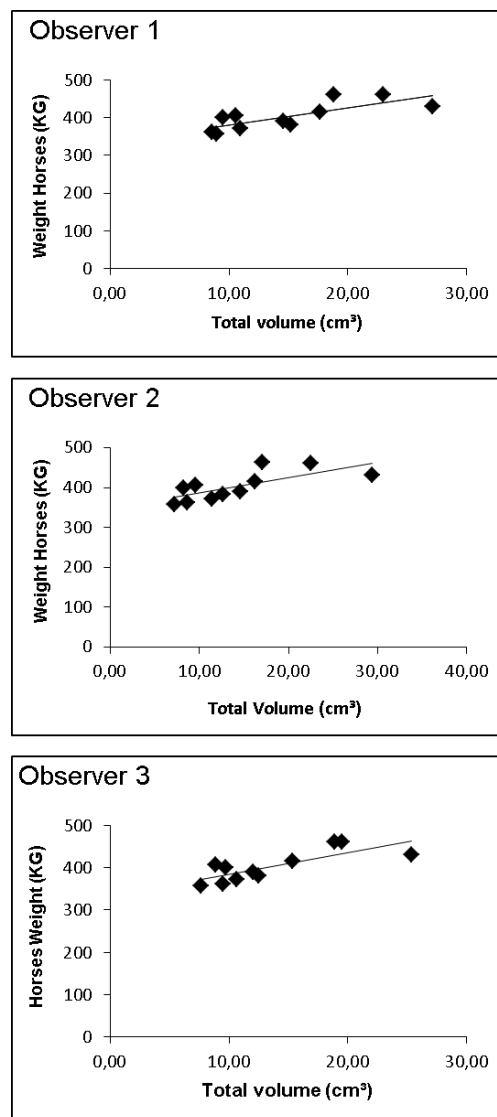


Fig. 3: The transverse fast gradient echo T1-weighted (A) and dorsal spin echo T1-weighted (B) illustrate the proximal and ventral region of a horse. Sagittal fast spin echo T2-weighted (C) and sagittal STIR (D) belong to another animal. In A, B and D, thyroid lobes present as iso- or slightly hyperintense in relation to the adjacent muscles. Already in C, the gland is shown hyper- or slightly isointense in relation to the adjacent muscles and hypointense in relation to perithyroid fat. In this sequence, it is not possible

to differentiate between the thyroid and fatty tissues. In D, the thyroid lobe may be better distinguished in relation to adjacent tissues. 1 – esophagus; 2 – cranial deep cervical lymph node; 3 – carotid artery; 4 – parotid salivary gland; 5 – thyroid gland; 6 – sternocephalic muscle; 7 – sternothyroid muscle; and 8 – omohyoid and sternal-hyoid muscles; 10 – carotid artery; 11 – cranial thyroid artery; 12 – thyroid lobe; 13 – omohyoid and sternal-hyoid muscles; 14 – sternothyroid muscle (Methodology of Rohen & Yokoshi) [18].



530 Fig. 4: Relation between the thyroid gland total volume and horses' body weight by
531 observers 1 (R^2 : 0.60), 2 (R^2 : 0.51) and 3 (R^2 : 0.61). Lines represent linear regression
532 line. MRI: Magnetic resonance imaging. R^2 : regression coefficient.

533

CAPÍTULO 4

1. DISCUSSÃO GERAL

Através desta pesquisa, verificou-se que a ultrassonografia forneceu uma visibilização mais ampliada e setorizada dos lobos tireoidianos, com relação à RM. Entretanto, a RM possibilitou uma melhor avaliação topográfica e definida da glândula tireoide, com relação as suas estruturas adjacentes, se compararmos com o exame ultrassonográfico. Weber et al. (2000) reforçaram tais informações quando relataram que em seres humanos o exame ultrassonográfico é indicado para avaliar lesões menores que 2 cm. Adicionalmente, tais autores informaram também que as indicações para o exame por RM foram restritas a casos especiais, como a avaliação da extensão de bócio substernais, a caracterização de grandes massas cervicais, a estimativa da invasividade local dos carcinomas tireoidianos e a detecção de metástases locais.

Todos os valores obtidos por ultrassonografia para a mensuração da largura foram moderadamente superiores aos obtidos pela RM. Esses resultados geraram diferenças significativas verificadas por dois observadores que participaram da avaliação em ambas as técnicas (Tabela 1). Os lobos foram facilmente acessados no plano transversal e, devido à superficialidade desta glândula e ao uso de alta frequência (RANTANEN, 1998), os limites para medir a largura foram adequadamente definidos e mensurados. Imagens com boa visibilidade topográfica são geradas por RM no plano transversal, mas com lobos tireoidianos pouco ampliados e, conseqüentemente, com baixa definição quando se trata de uma medida reduzida (WEBER et al., 2000), como a largura da tireoide. Assim, podemos sugerir que o parâmetro largura foi melhor caracterizado através da ultrassonografia.

Através da aplicação da RM, observou-se que a mensuração da altura dos lobos tireoidianos foi consideravelmente maior do que os verificados por ultrassonografia (Tabela 1). Imagens setorizadas das glândulas foram geradas, devido à alta frequência utilizada na ultrassonografia. Entretanto, as imagens não abordaram todo o aspecto dos lobos tireoidianos no plano transversal. Devido à melhor visibilização topográfica das imagens geradas por RM no plano transversal (TAEYMANS et al., 2008), uma melhor abordagem da altura dos lobos pôde ser obtida, em relação às verificadas por ultrassonografia. Assim, foi possível sugerir que a RM foi a melhor metodologia diagnóstica para caracterizar a altura dos lobos tireoidianos dos equinos.

As imagens ultrassonográficas das tireoides equinas foram produzidas somente por um avaliador, depois disponibilizadas e mensuradas para mais dois observadores. Essas mesmas glândulas foram submetidas ao exame de RM e disponibilizadas para três observadores. Não houve diferença significativa entre os parâmetros comprimento e volume dos lobos tireoidianos esquerdo e direito obtidos por dois observadores através da ultrassonografia e RM (tabela 1). Deste modo, podemos sugerir que os dados gerados por meio do estudo da reprodutibilidade das mensurações ultrassonográficas das tireoides deste trabalho puderam ser validados através metodologia de análise empregada na avaliação das tireoides por RM.

2. CONCLUSÕES GERAIS

A comparação dos parâmetros quantitativos comuns obtidos por ultrassonografia e ressonância magnética demonstrou que comprimento e volume dos lobos tireoidianos são mensurações que podem ser extrapoladas de uma metodologia para outra. Ultrassonografia e ressonância magnética foram complementares na caracterização da largura e altura da dos lobos tireoidianos, respectivamente.

Tabela 1: Comparação entre as dimensões dos lobos tireoidianos esquerdo e direito obtidos pelos observadores 1 e 2 através da ultrassonografia e RM.

	OBS	LADO	USG	RM	P
			Média ± DP	Média ± DP	
L	1	E	1.97 ± 0.37	1.49 ± 0.26	0,002*
		D	1.90 ± 0.36	1.46 ± 0.28	0,004*
	2	E	2.07 ± 0.44	1.32 ± 0.41	0,001*
		D	1.89 ± 0.41	1.39 ± 0.30	0,004*
A	1	E	1.66 ± 0.34	2.45 ± 0.51	0,000*
		D	1.67 ± 0.27	2.29 ± 0.39	0,000*
	2	E	1.63 ± 0.34	2.50 ± 0.48	0,000*
		D	1.59 ± 0.25	2.38 ± 0.33	0,000*
C	1	E	3.85 ± 0.44	4.07 ± 0.52	0,318
		D	3.59 ± 0.33	3.79 ± 0.45	0.259
	2	E	3.90 ± 0.42	4.03 ± 0.53	0.539
		D	3.66 ± 0.34	3.76 ± 0.44	0.554
V	1	E	6.96 ± 3.06	8.13 ± 3.53	0.400
		D	6.11 ± 2.19	6.85 ± 2.90	0.507
	2	E	7.19 ± 3.38	7.51 ± 4.29	0.847
		D	5.95 ± 2.43	6.80 ± 2.80	0.456

* Teste estatístico *t* de amostras independentes para $p < 0,05$. DP: desvio padrão. OBS: observadores; 1: observador 1; 2: observador 2; L: esquerdo; R: direito; L: Largura (cm); A: altura (cm); C: Comprimento (cm); V: Volume (cm³).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- *ALBERTS, M.K.; MCCANN, J.P.; WOODS, P.R. Hemithyroidectomy in a horse with confirmed hyperthyroidism. *J. Am. Vet. Med. Assoc*, v. 217, p. 1051–1054, 2000.
- *ASHDOWN, R.R.; DONE, S. Cabeça. In: Ashdown, R.R.; Done, S. Atlas colorido de anatomia veterinária – Equinos. 2ª ed., Rio de Janeiro: Elsevier, cap. 1, p. 27-31, 2012.
- *BAKER, J.R.; WYN-JONES, G.; ELEY, J.L. Case of equine goitre. *The Veterinary Record*, 112, n 17, p. 407-408, 1983.
- *BARBERET, V.; BAEUMLIN, Y.; TAEYMANS, O.; DUCHATEAU, L; PEREMANS K. Pre- and posttreatment ultrasonography of the thyroid gland in hyperthyroid cats. *Radiology & Ultrasound*, v. 51, n. 3, p. 324–330, 2010.
- * BARRETT, K.E; BARMAN S.M; BOITANO S, BROOKS, H. The thyroid gland. In: Ganong's review of medical physiology. *New York: McGraw-Hill*; p. 301–14. 2010.
- *BAUR, A; STABLER, A; ARBOGAST, S; DUERR, H.R; BARTL, R; REISER, M. Acute osteoporotic and neoplastic vertebral compression fractures: fluid sign at MR imaging. *Radiology*, v. 225, n.3, p. 730–735, 2002.
- *BREUHAUS, B.A. Disorders of the equine thyroid gland. *Vet. Clin. Equine*, v. 27, p. 115–128, 2011.
- *BROMEL, C.; POLLARD, R.E.; KASS, P.H.; SAMII, V.F.; DAVIDSON, A.P.; NELSON, R.W. Ultrasonographic Evaluation of the Thyroid Gland in Healthy, Hypothyroid, and Euthyroid Golden Retrievers with Nonthyroidal Illness. *J Vet Intern Med*, v. 19, p. 499–506, 2005.
- *BUDRAS, KD.; SACK, W.O.; RÖCK, S. Anatomy of the Horse. Head. 1ª ed., Hannover: Schlütersche, cap. 4, p. 32 – 50, 2009.
- *CAP, J.; RYSKA A.; REHORKOVA, P.; HOVORKOVA, E.; KEREKS, Z.; POHNETALOVA, D. Sensitivity and specificity of the fine needle aspiration biopsy of the thyroid: clinical point of view. *Clin Endocrinol*, v. 51, p. 509-515, 1999.
- *CHIOU, SC.; PENG. YS.; CHEN. PY.; HO. C.; YEH, HY.; LIN, JD. Color Doppler Ultrasonography of Inferior Thyroid Artery and Its Relation with Thyroid Functional State. *J Med Ultrasound*, v.14, n 3, p. 51–57, 2006.
- *CONWAY, D.A.; COSGROVE, J.S. Equine goiter. *Irish Vet J*, v. 34, p.29-32, 1980.
- *DAVIES, S., BARBER, D., CRISMAN, M., TAN, R., LARSON, M.; DANIEL, G. Quantitative pertechnetate thyroid scintigraphy and the ultrasonographic appearance of

the thyroid gland in clinically normal horses. *Vet. Radiol. Ultrasound*, v 51, n 6, p. 674–680, 2010.

*DALEFIELD, R.R.; PALMER, D.N. The frequent occurrence of thyroid tumours in aged horses. *J Comp Pathol*, v.110, p. 57–64, 1994.

*DONNER, A.; KOVAL, J.J. The estimation of intraclass correlation in the analysis of family data. *Biometrics*, v. 36, p. 19–25, 1980.

*DRISCOLL, J.; HINTZ, H.F.; SCHRYVER, H.F. Goiter in foals caused by excessive iodine. *J Am Vet Med Assoc* v.173, n. 7, p. 858-859, 1978.

* DE COCK H. E.V.; MACLACHLAN, N.J. Simultaneous Occurrence of Multiple Neoplasms and Hyperplasias in the Adrenal and Thyroid Gland of the Horse Resembling Multiple Endocrine Neoplasia Syndrome: Case Report and Retrospective Identification of Additional Cases. *Vet Pathol*, v. 36, p. 633–636, 1999.

*DE MARCO, V.; LARSSON, C.E. Hipotireoidismo na espécie canina: avaliação da ultrassonografia cervical como metodologia diagnóstica. *Braz. J. vet. Res. anim. Sci.*, São Paulo, v. 43, n. 6, p. 747-753, 2006.

*DIMOCK, W.W.; WESTERFIELD, C.; DOLL, E.R. The equine thyroid in health and disease. *J Am Vet Med Assoc*, v.104, p. 313-317, 1944.

*ELCE, Y.A.; ROSS, M.W.; DAVIDSON, E.J.; TULLENERS, E.P. Unilateral thyroidectomy in 6 horses. *Vet Surg*, v.32, cap.2, p.187-190, 2003.

*FRANK, N. Equine metabolic syndrome. *Journal of Equine Veterinary Science*. v. 29, n. 5, p. 259-267, 2009.

*FUKUNARI, N. Thyroid ultrasonography B-mode and color-Doppler. *Biomed Pharmacother*, v.56, p. 55–59, 2002.

*GALLOWAY, J.W.; SARDI, A.; DECONTI, R.W.; MITCHELL, W.T.; BOLTON, J.S. Changing trends in thyroid surgery 38'experience. *The American Surgeon*, v.57 n1, p.18-20, 1991.

*GHOSHAL, N.G. Coração e artérias. In: In: Sisson, S.; Grossman, J. D. *Anatomia dos animais domésticos*. 5ª ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1v, cap. 22, p. 5135-536, 1986.

*GIUFFRIDA, G.K, GHARIB, H. Controversies in the management of cold, hot and occult thyroid nodules. *American Journal of Medicine*, v. 99, p. 642–650, 1995.

*GOTWAY MB, HIGGINS CB. MR imaging of the thyroid and parathyroid glands. *Magn Reson Imaging*, v. 8, n. 1, p163–182, 2000.

- *GUTMAN, P. D., HENRY, M. Fine needle aspiration cytology of the thyroid. *Clin Lab Med*, v18, p. 461-482, 1998.
- *HELD, J.P.; PASTTON C.S.; TOAL R.L.; GEISER, D.R. Work intolerance in a horse with thyroid carcinoma. *J Am Vet Med Assoc*, v.187, p. 1044-1045, 1985.
- *HERNETH, A.M, GUCCIONE, S, BEDNARSKI M. Apparent diffusion coefficient: a quantitative parameter for in vivo tumor characterization. *Eur J Radiol*, v.45, n. 3, p. 208–213, 2003.
- *HILLDGE, C.J.; SANECKI, R.K.; THEODORAKIS, M.C. Thyroid carcinoma in a horse. *J Am Vet Med Assoc*, v. 181, p. 711-714, 1982.
- *HOVDA, L.R.; SHAFTOE, S.; ROSE, M.L.; CLEMMONS, L.H. Mediastinal squamous cell carcinoma and thyroid carcinoma in an aged horse. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, v.197, p. 1187-1189, 1990.
- *JOHNSON, P. J.; WIEDMEYER, C. E.; LACARRUBBA, A.; GANJAM, V. K.; MESSER, N. T. Laminitis and the equine metabolic syndrome. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. v. 26, n. 2, p. 239-255, 2010.
- *JOYCE, J.R.; THOMPSON R.B.; KYZAR J.R.; Hightower D. Thyroid carcinoma in a horse. *J Am Vet Med Assoc*, v.168, p. 610–612, 1976.
- *JÚNIOR, E.A.; YAMASHITA, H. Aspectos básicos de tomografia computadorizada e ressonância magnética. *Rev Bras Psiquiatr*, v.23. n 1, p.2-3, 2001.
- *KEMPPAINEN, R.J.; BEHREND, E.N. CVT Update: Interpretation of endocrine diagnostic test results for adrenal and thyroid disease. In: BONAGURA, J. D.; KIRK, R. W. Kirk's current veterinary therapy – small animal practice XII, Philadelphia: W.B. Saunders, p.321-323, 2000.
- *KONIG. H.E.; LIEBICH, H. Glândulas Endócrinas. In: Konig. H.E.; Liebich, H Anatomia dos animais domésticos -Texto e atlas colorido, 4ª ed, Artmed, São Paulo, cap. 15, p. 583-587, 2011.
- *LAMB, C.R.; NELSON, J.R. Diagnostic Accuracy of Tests Based on Radiologic Measurements of Dogs and Cats: A Systematic Review. *Vet Radiol Ultrasound*, v. 56, n. 3, p. 231–244, 2015.
- *LE BIHAN, D.; BRETON, E.; LALLEMAND, D.; AUBIN, M.L.; VIGNAUD, J.; LAVAL-JEANTET, M. Separation of diffusion and perfusion in intravoxel incoherent motion MR imaging. *Radiology*, v. 168, v. 2, p. 497–505, 1988.
- *LOEVNER, L.A.; KAPLAN, S.L.; CUNNANE, M.E.; MOONIS, G.; Cross-Sectional Imaging of the Thyroid Gland. *Neuroimag Clin N Am*, v. 18, p. 445–461, 2008.

- *LUCKE, V.M.; LANE L.G. C-cell tumors of the thyroid in the horse. *Equine Vet J*, v.16, n 1, p. 28-30, 1984.
- *METZNER, M.; UEBELHACK, S.; SAUTER-LOUIS, C.; REESE, S.; KLEE W. Developing an accurate method for estimating thyroid volume in calves using ultrasonography. *Vet Radiol Ultrasound*, v. 56, n. 3, p. 301–306, 2015.
- *MAZZOLA, A.A. Ressonância magnética: princípios de formação da imagem e aplicações em imagem funcional. *Revista Brasileira de Física Médica*, v. 3, n.1, p. 117-129. 2009.
- *MIHAILOVI, C. J.; STEFANOVI, C. L.J.; PRVULOVIC, M. Magnetic resonance imaging in diagnostic algorithm of solitary cold thyroid nodules. *J Buon*, v. 11, n. 3, p. 341–346, 2006.
- *MONTIRONI, R.; BRACCISMI, A.; SCARPELLI, M.; MATERA, G.; ALBERTI, R. Value of quantitative nucleolar features in the preoperative cytological diagnosis of follicular neoplasias of the thyroid. *J Clin Pathol*, v.44, p. 509. 1991.
- *NOVO, A.C.M.P.; CARVALHO, C.B.; ALVES, R.B.M. JBCA – Jornal Brasileiro de Ciência Animal, v.2 , n.3, p.135-149, 2009.
- *PELLIS, L.; HAL, N.L.W.F.; BUREMA, J.; KEIJER, J. The intraclass correlation coefficient applied for evaluation of data correction, labeling methods, and rectal biopsy sampling in DNA microarray experiments. *Physiol Genomics*; v. 16, p. 99–106. 2003.
- *PERILLO, A.; PASSANTINO, G., PASSANTINO, L., CIANCIO, A., MASTROSIMINI, A.M.; LACOVAZZI, P.; VENEZIA, P.; JIRILLO, E.; TRONCONE, A. First observation of an Hashimoto thyroiditis-like disease in horses from eastern Europe: histopathological and immunological findings. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, v. 27, p. 241–53, 2005.
- *PEREZ-ECIJA, A.; TORIBIO, R.E.; MENDOZA, F.J. Endocrine tumours in equids. *Equine vet. Educ*, p. 1-7, 2017.
- *RALSTON, S.L; NOCKELS, C.F; SQUIRES, E.L. Differences in diagnostic test results and hematologic data between aged and young horses. *Am J Vet Res*, v.49, n 8, p.1387-1392, 1988.
- *RAMSEY, I.K.; EVANS, H.; HERRTAGE, M. E. Thyroid-stimulating hormone and total thyroxine concentrations in euthyroid, sick euthyroid and hypothyroid dogs. *Journal of Small Animal Practice*, v. 38, n. 12, p. 540-545, 1997.
- *RAMIREZ, S.; MCCLURE, J.J.; MOORE, R.M.; WOLFSHEIMER, K.J.; STEPHEN D. GAUNT, S.D.; MIRZA, M.H.; TAYLOR, W. Hyperthyroidism associated with a thyroid adenocarcinoma in a 21-year-old gelding. *J Vet Intern Med*, v.12, n. 6, p. 475–477, 1998.

- *RANTANEN, N.W. Ultrasound of the Endocrine System. In: Ratanen, N.W., McKinnon, A.O. *Equine Diagnostic Ultrasonography*. Sans Tache, cap.37, p. 645-647, 1997.
- *RAZEK, A.A, SADEK, A.G, KOMBAR, O.R, ELMAHDY, T.E, NADA N. Role of apparent diffusion coefficient values in differentiation between malignant and benign solitary thyroid nodules. *AJNR Am J Neuroradiol*, v. 29, n 3, p. 563–568, 2008.
- *REEF, V.B. Ultrasonographic Evaluation of Small Parts. In: Reef, V.B. *Equine Diagnostic Ultrasound*. W. B. Saunders Company, cap. 11, p. 480-487, 1998.
- *ROSNER, B.; WILLETT, W.C.; SPIEGELMAN, D. Correction of logistic regression relative risk estimates and confidence intervals for systematic within-person measurement error. *Stat Med.*, v. 8, p. 1051–1069, 1989.
- *SAULEZ, M.N.; KAFKA, M.N.; MARTINEZ, L.R.; WILPE, E.V.; STEYL, J. The use of nuclear imaging for a mixed C cell microfollicular carcinoma of the thyroid gland in a mature horse. *Equine vet. Educ*, v. 25, n. 3, p.118-125, 2013.
- * SCHLOTTHAUER, C.F. The incidence and types of disease of the thyroid gland of adult horses. *J Am Vet Med Assoc*, v.78, p.211–218, 1931.
- *SCHUELLER-WEIDEKAMM, C; KASERER, K; SCHUELLER, G; et al. Can quantitative diffusion-weighted MR imaging differentiate benign and malignant cold thyroid nodules? Initial results in 25 patients. *AJNR Am J Neuroradiol* 2009, doi:10.3174/ajnr.A1338[Epub ahead of print].
- * SCHWARZ, B.C., SALLMUTTER, T.; NELL, B. Keratoconjunctivitis sicca attributable to parasympathetic facial nerve dysfunction associated with hypothyroidism in a horse. *J Am Vet Med Assoc*; v.233, p.1761–176, 2008.
- * SISSON, S.; GROSSMAN, J. D. *Anatomia dos animais domésticos*. 5ª ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, v.1, 1986.
- * SHROUT PE, FLEISS JL. Intraclass correlations: uses in assessing rater reliability. *Physiol Bull*, v. 2, p. 420–428, 1979.* SOJKA, J.E. Hypothyroidism in horses. *Compend Contin Educ Pract Vet*. 1995;17 (6):845-52.
- *SZATMÁRI, V; SÓTONYI, P; VOROS, K. Normal duplex Doppler waveforms of major abdominal blood vessels in dogs: a review. *Veterinary Radiology and Ultrasound*, v.42, n.2, p.93-107, 2001.
- *TAN, R.H.H.; DAVIES, S.E.; CRISMAN, M.V.; COYLE, L.; DANIEL, G.B. Propylthiouracil for Treatment of Hyperthyroidism in a Horse. *J Vet Intern Med*, v. 22, p.1253–1258, 2008.

- *TAEYMANS, O. Thyroid Ultrasound in Dogs: a Review. *Ultrasound*. v. 17, n 3, p. 137-143, 2009.
- *Taeymans, O.; Penninck, D.G.; Peters, R.M. Comparison Between Clinical, Ultrasound, CT, MRI, and Pathology Findings in Dogs Presented for Suspected Thyroid Carcinoma. *Vet Radiol Ultrasound*.; v. 54, n. 1, p. 61–70, 2013.
- *TAEYMANS, O.; PEREMANS, K.; SAUNDERS, J.H. Thyroid Imaging in the Dog: Current Status and Future Directions. *J Vet Intern Med*; v.21, p. 673–684, 2007.
- *TAEYMANS, O.; DENNIS, R.; SAUNDERS, J.H. Magnetic Resonance Imaging of the Normal Canine Thyroid Gland. *Veterinary Radiology & Ultrasound*; v. 49, n. 3, p. 238–242. 2008.
- *TATEYAMA, S.; TANIMURA, N.; MONITONO, Y.; MONJI, K.; YAMAGUCHI, R.; NOSAKA, D.; COTCHIN, E. The ultimobranchial remnant and its hiperplasia or adenoma in equine thyroid gland. *The Japanese Journal of Veterinary Science*, v. 50, n. 3, p. 714-722, 1988.
- *TROILLET, A., BOTTCHER, D., BREHM, W., SCHARNER, D. Retrospective Evaluation of Hemithyroidectomy in 14 Horses. *Veterinary Surgery*, p. 1-6, 2016.
- *TURGUT, A.T.; ERMAN, Ç.; KOSAR, U.; KOSAR, P.; DEMIRBAS, B.; ARAL, Y. Maximum Systolic Velocity of Inferior Thyroid Artery and Thyroideal Color Doppler Flow Pattern in Hypothyroid Subjects Before and After Treatment. *J Med Ultrasound*, v.17, n.1, p. 44–51, 2009.
- *UEKI, H; KOWATARI, Y.; OYAMADA, T.; OIKAWA, M.; YOSHIKAWA, H. Non-functional C-cell adenoma in aged horses. *J Comp Pathol*. V. 131, p. 65-157, 2004.
- *VAN DER VELDEN, M.A.; MEULENAAR, H. Medullary thyroid carcinoma in a horse. *Vet Pathol*, v. 23, p. 622-624, 1986.
- *VENZKE, W.G. Endocrinologia. In: Sisson, S.; Grossman, J. D. Anatomia dos animais domésticos. 5ª ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, v.1, cap. 21, p. 516, 1986.
- *VIANA, G.F.; HATAKA, A.; PUOLI FILHO, J.N.P. MACHADO, V.M.V. Aspectos ultrassonográficos da glândula tireoide em equinos. *Vet. e Zootec*. V. 24, n. 2, p. 278-288, 2017.
- *WANG, J.; TAKASHIMA, S.; TAKAYAMA, F., et al. Head and neck lesions: characterization with diffusion-weighted echo-planar MR imaging. *Radiology*, v. 220, n.3, p. 621–630, 2001.
- *WERPY, N. Low-Field MRI in horses: practicalities and image acquisition. In: Murray RC. Equine MRI. 1 th ed. *Blackwell Publishing Ltd.*; p. 75 – 99, 2011.