

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS (ICBIM)
CURSO DE BIOMEDICINA**

FELIPE RIBEIRO FURLAN

**CONSEQUÊNCIAS RENAIS E METABÓLICAS DO HIPERTIREOIDISMO
MATERNO PARA A PROLE DE RATAS *Wistar***

**UBERLÂNDIA
Dezembro - 2018**

FELIPE RIBEIRO FURLAN

**CONSEQUÊNCIAS RENAI E METABÓLICAS DO HIPERTIREOIDISMO
MATERNO PARA A PROLE DE RATAS *Wistar***

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Universidade Federal de Uberlândia como
exigência parcial para obtenção do título de
bacharel em Biomedicina.

Orientadora Prof.^a Dr.^a Ana Paula Coelho Balbi

**UBERLÂNDIA
Dezembro - 2018**

FELIPE RIBEIRO FURLAN

**CONSEQUÊNCIAS RENAIS E METABÓLICAS DO HIPERTIREOIDISMO
MATERNO PARA A PROLE DE RATAS *Wistar***

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Universidade Federal de Uberlândia como
exigência parcial para obtenção do título de
bacharel em Biomedicina.

BANCA DE AVALIAÇÃO

Profa. Dra Ana Paula Coelho Balbi. – DEFIS/ICBIM/UFU
Orientadora

Prof. Dr. Alberto, da Silva Moraes – DHEBM/ICBIM/UFU
Membro Titular

Prof. Dra. Érika Renata Barbosa Neiro – DEFIS/ICBIM/UFU
Membro Titular

Uberlândia (MG), 19 de dezembro de 2018

AGRADECIMENTOS

Começo agradecendo minha mãe, Edilene, pelo amor, pelo carinho, pelo caráter, pelas palavras de sabedoria e conforto que sempre me guiaram, e principalmente por ser a minha mãe, sem você eu não me tornaria metade da pessoa que sou hoje, eu te amei ontem, te amo hoje e te amarei para todo sempre, obrigado mãe. Agradeço ao meu pai, Renato, pelas conversas sobre todos os assuntos possíveis que me ajudaram a consolidar meu alicerce de vida, pelas viagens, pela preocupação, pelo amor, pelo carinho, pelas piadas cotidianas horríveis e principalmente por ser meu pai e meu querido amigo, obrigado pai. Ao meu irmão, Vinícius, agradeço por estar do meu lado todos esses anos, por amadurecer junto de mim, por ser carinhoso e atencioso comigo, independentemente da situação, sempre com muito amor, obrigado gordinho. Agradeço também à minha irmã, Maria Fernanda, por todas as fofuras no meu dia a dia, juntamente com esse amor gigantesco que você carrega não só por mim, mas também por toda a família, obrigado toqui. Aproveito para agradecer também à todas as pessoas que compõem a extensão de nossa família, em especial para meus avós, vó Aida, vó Lourdes, vô Oswaldo e vô Furlan, eu amo vocês de todo meu coração e agradeço todos os dias por ter vocês durante minha jornada até aqui. Tenho certeza absoluta que nenhum aspecto consolidado de minha pessoa seria possível se não fossem os vínculos estabelecidos com e por eles durante meus 23 anos de vida e por isso, e tudo o mais, meu obrigado e meu mais profundo e sincero amor e carinho por todos.

Agradeço à Juliana, minha namorada, sem a qual nada disso seria possível. Eu te agradeço pelo amor, pelo carinho, pela ajuda espiritual e carnal, assim como por estar presente em todos os momentos, fossem eles fáceis ou difíceis, como minha companheira e como destino do meu amor. Obrigado por todos esses anos de parceria e de uma vida que todos os dias se mostra que vale a pena ser vivida, com todas as emoções, experiências, amor e também com todas as comidas deliciosas que fizemos e faremos em nosso futuro juntos.

Agradeço a todos os amigos encontrados nessa jornada na faculdade e por todos os momentos que passamos juntos, compartilhando muito mais alegrias do que

de fato tristezas. Contudo, gostaria de agradecer em especial meu amigo Victor, minha “work wife” do laboratório, que me ajudou em cada passo final de minha graduação tomando conta não só de meus animais e de alguns de meus experimentos, mas principalmente de mim, me auxiliando e se divertindo comigo em cada etapa dessa conclusão, obrigado “Vitu”. Agradeço também ao meu amigo Vinícius (ou Bostinha, ou Bolinha para os íntimos), pelas aventuras dessa graduação, pelas matérias feitas juntos, pela amizade e pela certeza de que, mesmo longe de Uberlândia, terei um grande amigo, obrigado. Agradeço também ao meu companheiro de moradia, o Igor, pelos bons momentos vividos juntos nesses 3 anos de convivência, de muitos problemas resolvidos, mas também de muitas conversas, parcerias e amizade compartilhados. Gostaria de agradecer também à Claire, minha fiel escudeira, por toda a ajuda prestada quando me mudei para Uberlândia, e por sempre estar presente em minha vida, uma grande amiga que levarei junto de mim para sempre.

Por fim, mas de forma alguma menos importante, agradeço a todos os professores que contribuíram para a minha formação acadêmica, agregando conhecimentos específicos e também muitos conhecimentos de vida. Agradeço de maneira mais que especial à minha orientadora, Ana Paula, por me auxiliar nessa etapa final da minha trajetória na UFU. Agradeço por ter me acolhido, ter me ajudado e principalmente por ter compartilhado momentos tão especiais e decisivos na minha vida, tenha certeza de que lembrarei para sempre de meu período sobre sua tutela e também de todas as conversas e experiências de vida compartilhadas que sem sombra de dúvidas levarei comigo, em meu coração, para onde quer que eu vá, obrigado.

*“O homem não é a soma do que tem, mas a totalidade do que ainda não tem, do que
poderia ter.”*

Jean-Paul Sartre

RESUMO

O hipertireoidismo é um distúrbio endócrino com elevada prevalência em diversas partes do mundo, mas pouco se sabe sobre as repercussões do distúrbio materno para o desenvolvimento de determinados órgãos na prole. Nesse sentido, o presente estudo teve como objetivo avaliar as repercussões renais e metabólicas do hipertireoidismo materno para a prole de ratas *Wistar*. Para isso, os filhotes de 1, 7 e 30 dias foram divididos nos seguintes grupos: Grupo Controle – filhotes de mães que receberam ração e água *ad libitum* durante a gestação e amamentação; Grupo Experimental 1 – filhotes de mães que receberam água por gavagem do 8º ao último dia de gestação; Grupo Experimental 2 – filhotes de mães que receberam solução veículo, por gavagem, do 8º ao último dia de gestação e Grupo Experimental 3 – filhotes de mães que receberam solução de tiroxina (T4), por gavagem, do 8º ao último dia de gestação. Além dos tratamentos, as mães dos grupos experimentais 1, 2 e 3 receberam ração e água *ad libitum*. Foram analisados parâmetros maternos como ganho de peso, consumos hídrico e alimentar e dosagens de hormônios tireoidianos (HT) durante a gestação. Os filhotes de diferentes idades tiveram seus rins coletados e nos animais de 30 dias foram determinados os níveis de triglicérides (TG) e colesterol total (CT), taxa de filtração glomerular (TFG), excreção urinária de proteínas (EUP) e HT, antes da coleta de órgãos. Não houve diferenças entre os grupos para os consumos hídricos e alimentar e ganho de peso maternos, mas os níveis de T4 foram maiores nas mães do grupo Experimental 3. O número de filhotes e proporção entre machos e fêmeas, bem como os níveis de CT, TFG e EUP não foram diferentes, mas houve alterações na relação peso renal-peso corporal nos filhotes de 7 e 30 dias do grupo Experimental 3, sendo que esses últimos se apresentaram hipotireoideos e com aumentados níveis plasmáticos de TG. Nesse contexto, pode-se afirmar que o hipertireoidismo materno é capaz de induzir hipotireoidismo na prole, resultando em alterações no desenvolvimento renal e parâmetros metabólicos dos filhotes.

Palavras-chave: Hipertireoidismo, renal, Wistar, TFG, metabolismo.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
1.1 Programação fetal	9
1.2 O desenvolvimento embrionário	10
1.2.1 O desenvolvimento do sistema urinário	10
1.3 O Sistema endócrino	11
1.3.1 A glândula tireoide	12
1.3.2 O iodo e os hormônios tireoidianos	13
1.3.3 O papel dos hormônios tireoidianos no desenvolvimento humano	14
1.3.4 O hipertireoidismo	15
2. JUSTIFICATIVA	17
3. OBJETIVOS	18
3.1 Objetivos gerais	18
3.2 Objetivos específicos	18
4. MATERIAIS E MÉTODOS	19
4.1 Animais	19
4.2 Cruzamento dos animais	19
4.3 Grupos	19
4.4 Retirada de rins	20
4.5 Estudos da função renal	20
4.6 Excreção Urinária de Albumina (EUA)	20
4.7 Dosagem de colesterol total e triglicerídeos	21
4.8 Dosagem dos hormônios tireoidianos	21
5. RESULTADOS	22
5.1 Dados maternos	22
5.2 Dados da prole	24
6. DISCUSSÃO	29
7. CONCLUSÃO	33
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
ANEXO	40

1. INTRODUÇÃO

1.1. Programação fetal

A programação fetal é caracterizada por modificações proporcionadas por manipulações no ambiente intrauterino, apresentando graus diferenciados de repercussões a depender da época e do grau de intensidade das modificações (RINAUDO; WANG, 2012). Além disso, é sabido que os padrões de programação que envolvem o desenvolvimento fetal permitem identificar alterações específicas durante o período de gestação de forma qualitativa, observando discrepâncias em relação à um desenvolvimento normal (JONES, 2005). Dessa maneira, é possível identificar determinadas consequências nas formações de certos sistemas na prole quando há algum comprometimento funcional de sistemas como o cardíaco, pulmonar e o urinário maternos (LANGLEY-EVANS, 2001; ZANDI-NEJAD; LUYCKX; BRENNER, 2006; SUTER; ANDERS; AAGAARD, 2013). Nesse sentido, acredita-se que a presença de distúrbios ou doenças presentes na gestação possam ser programadas para a vida intrauterina e, conseqüentemente, ter essas condições transferidas ao feto, como é o caso da obesidade, doença coronariana, e também do Diabetes do tipo 2 (BREIER et al., 2001; BARKER, 2002).

Estudos experimentais demonstraram que a indução de restrição de crescimento intrauterino e alterações metabólicas na prole podem ocorrer em casos de diabetes gestacional e obesidade materna levando até a um possível desenvolvimento de Diabetes tipo 2 nos filhotes. Outrossim, já foi comprovado que o diabetes durante a gestação pode resultar em nefrogênese comprometida na prole, formando rins relativamente menores e com deficiência de nefros devido à excessiva apoptose (ZHANG et al., 2004; TRAN et al., 2008). Essas alterações no decorrer do desenvolvimento renal podem levar à redução da função renal e hipertensão na vida adulta da prole e em filhotes adultos de mães portadoras de Diabetes mellitus tipo 1 (CHEN et al., 2010; FRANÇA-SILVA; OLIVEIRA; BALBI, 2016).

1.2. O desenvolvimento embrionário

O desenvolvimento fetal da maioria dos mamíferos compreende, em geral, três fases distintas: a fase de embrião, fase fetal e a fase pós-natal. Durante esses três períodos a consolidação do ser com a formação de suas células, órgãos, tecidos e sistemas está sujeita a modificações por alterações proporcionadas pelo ambiente intrauterino podendo levar a transformações estruturais, fisiológicas e metabólicas permanentes (SCHULTZ, 1926; GODFREY; BARKER, 2001). Nesse sentido, a promoção voluntária de alterações intrauterinas constitui-se como método eficaz de pesquisa, uma vez que permite, em um ambiente controlado, avaliar as consequências de determinada condição clínica materna em sua prole (DE GRAUW; MYERS; SCOTT, 1986).

1.2.1. O desenvolvimento do sistema urinário

O desenvolvimento do sistema urinário é de grande importância para a manutenção da vida, auxiliando na homeostase, no equilíbrio de sais e íons circulantes, no de água e também por realizar o processo de filtração sanguínea. Seu desenvolvimento compreende formações e regressões de sistemas primitivos durante a fase embrionária dos mamíferos (Figura 1), passando de uma estrutura pronefrica para uma mesonefrica e por fim metanefrica, com aumento de massa e volume, acompanhando o surgimento de unidades filtradoras completas e correto posicionamento anatômico. No caso dos roedores, a formação do sistema urinário dá-se à partir do 11º dia de gestação e finaliza-se somente durante a vida pós natal, enquanto que em humanos a formação do sistema dá-se totalmente durante o período intrauterino. A origem desse sistema se dá a partir do blastema metanéfrico em conjunto com o broto ureteral, que é o primórdio do ureter, da pelve renal, dos cálices renais e dos túbulos coletores. (MOORE; PERSAUD; TORCHIA, 2008; SCHOENWOLF et al., 2015).

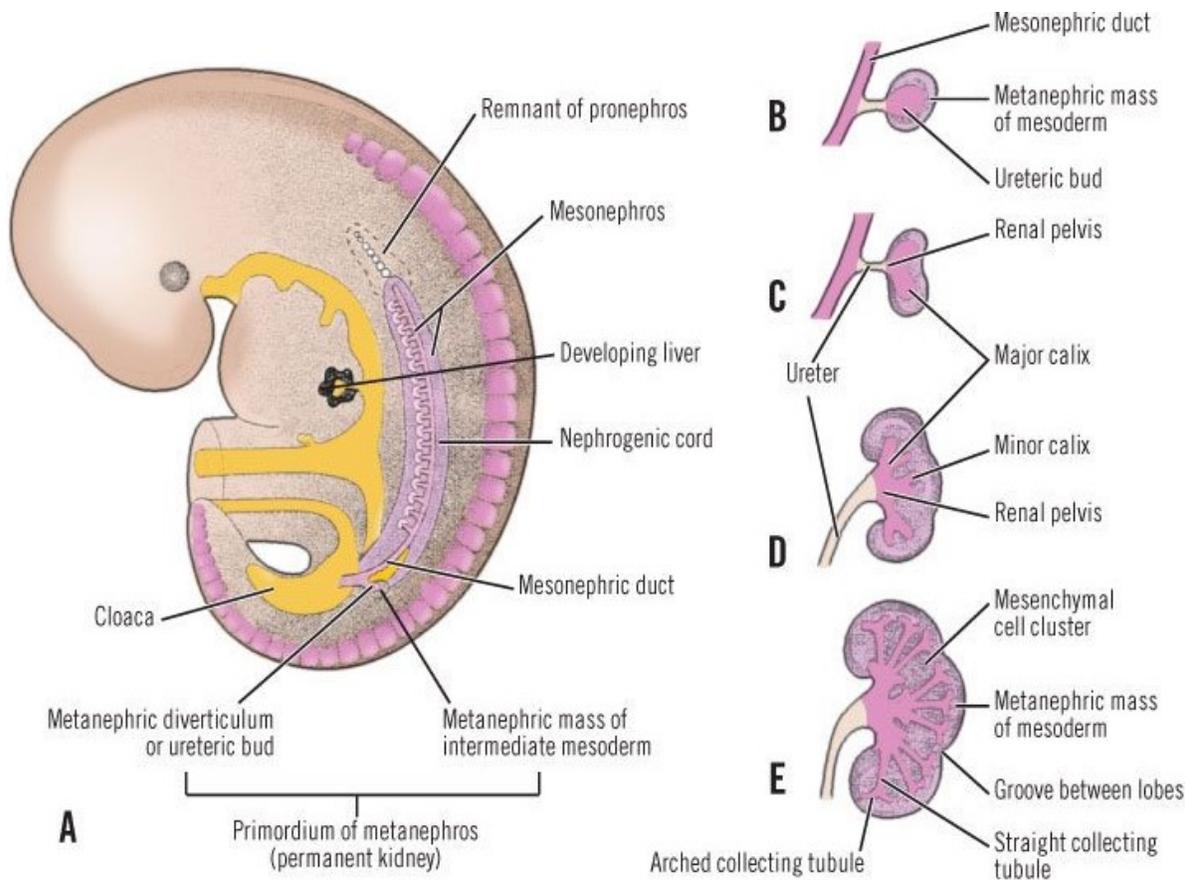


Figura 1 - Fases do desenvolvimento embrionário dos rins em humanos. A. Embrião de 5 semanas. B. Representação do ducto mesonéfrico, mesoderma e do broto ureteral. C. Formação do ureter. D. Surgimento dos cálices renais maiores e menores a partir do broto ureteral. E. Formação dos ductos coletores e túbulos renais. The McGraw-Hill Companies Inc., 2006.

1.3. O sistema endócrino

Outro sistema de grande importância para a manutenção sistêmica individual, assim como o sistema urinário é o sistema endócrino, que é responsável por uma diversidade de funções no organismo humano atuando desde o período de gestação, na consolidação e crescimento do feto, até o restante da vida individual, como regulador e promotor de diversas ações e reações químicas que garantem a

homeostase e a sobrevivência (HILLER-STURMHÖFEL; BARTKE, 1998). Esse sistema está intimamente ligado ao metabolismo dos seres humanos e possui seu mecanismo de ação a partir de hormônios produzidos por glândulas endócrinas como a hipófise, as adrenais, o pâncreas, os ovários e também a glândula tireoide e as paratireoides. Nesse sentido, é possível inferir que alterações nessas glândulas podem promover modificações expressivas na manutenção metabólica e também no funcionamento normal do organismo (PORTERFIELD; WHITE, 2007).

1.3.1. A glândula tireoide

A tireoide (Figura 2) é uma das mais importantes glândulas que compõem o sistema endócrino e tem sua formação iniciada a partir do vigésimo quarto dia de gestação a partir da crista neural e da faringe primitiva consolidando-se no quarto mês de crescimento intrauterino (MANSOURI; CHOWDHURY; GRUSS, 1998). Esta glândula apresenta folículos (Figura 3) responsáveis pela síntese hormonal que são revestidos por células cubóides e apresentam grande importância para o desenvolvimento de órgãos e controle de funções básicas do organismo como crescimento e regulação metabólica (NILSSON; FAGMAN, 2017).

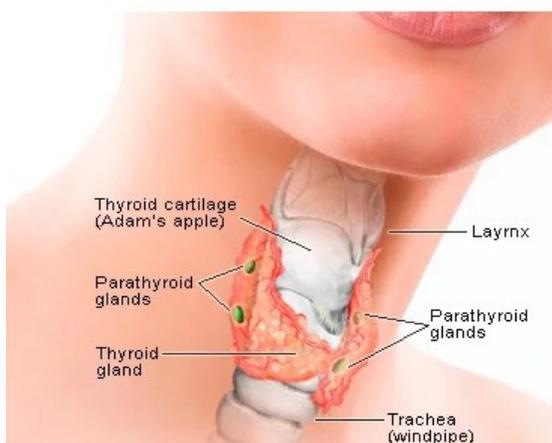


Figura 2 - Glândula Tireoide
Inc., 2010)

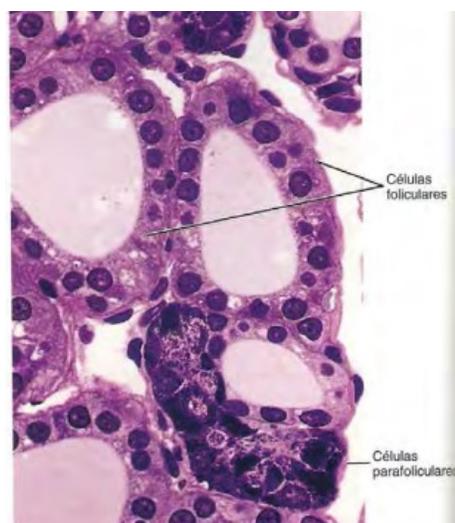


Figura 3 - Folículos e coloides tireoidianos (MedicineNet,
(JUNQUERIA E CARNEIRO, 2011)

Além disso, devido à sua grande funcionalidade, a tireoide está sujeita a malformações ou distúrbios que podem comprometer sua atividade e, em muitos casos, levar à quadros clínicos prejudiciais à vida humana (VIGNERI, 2015; ALEXANDER et al., 2017;). À exemplo disso, sabe-se que distúrbios tireoidianos apresentam prevalência variada nas diversas sociedades humanas e muitas vezes são subestimados ou mal diagnosticados, levando a crer que há certa normalidade na assimilação dos quadros que caracterizam determinadas patologias relacionadas à essa glândula. Nesse sentido, Strieder e colaboradores (2003) demonstraram que em um grupo de 803 mulheres parentes de primeiro ou segundo grau de indivíduos que apresentaram ou apresentam doença autoimune da tireoide, de 3% a 6% delas eram portadoras de hipotireoidismo, enquanto que 1% a 9% eram hipertireoideas.

1.3.2. O iodo e os hormônios tireoidianos

O iodo é componente essencial para a síntese de hormônios tireoidianos, garantindo a funcionalidade da glândula e a homeostase no organismo ao promover a iodização e conjugação dos precursores de tireoglobulina, permitindo a transformação desse composto nos hormônios tireoidianos tri-iodotironina (T3) e tiroxina (T4) (Figura 4), sendo que o hormônio T4 é praticamente todo convertido em T3 nos tecidos, apesar de ambos apresentarem importância no controle da homeostase individual (HERTZ; ROBERTS; EVANS, 1938; HALL, 2017). Nesse sentido, a ausência de iodo na dieta poderia acarretar em prejuízo funcional na tireoide e, por consequência, em diminuição na produção de hormônios tireoidianos, prejudicando a homeostase (ZIMMERMANN; BOELAERT, 2015). Além disso, é fato que o eixo hipotálamo-hipófise-tireoide (Figura 5) apresenta importância para garantir parte do funcionamento metabólico do indivíduo estando sujeito a um comprometimento funcional, seja por sua inibição a partir de medicamentos ou por alterações em produtos hormonais (HALL, 2017).

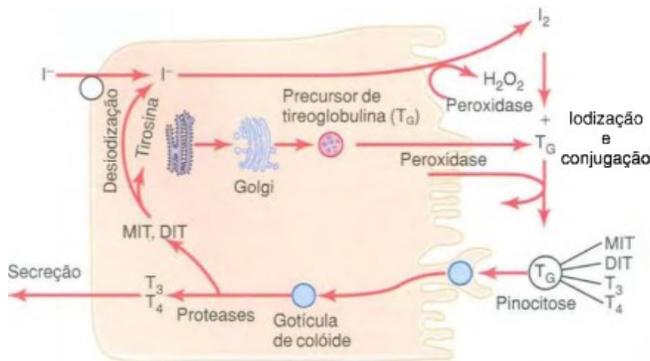


Figura 4 - Vias de síntese dos hormônios tireoidianos (GUYTON, 2011)

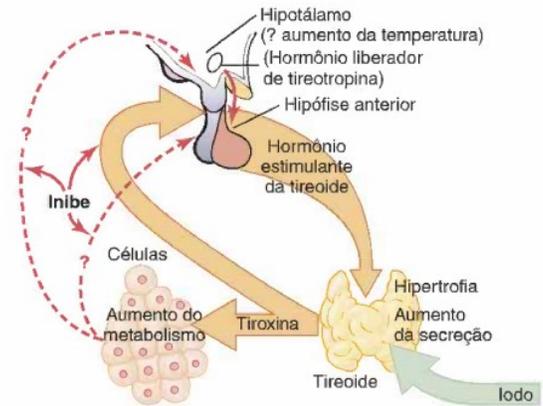


Figura 5 - Eixo Hipotálamo-Hipófise-Tireoide (GUYTON, 2011)

1.3.3. O papel dos hormônios tireoidianos no desenvolvimento humano

Como dito anteriormente, o desenvolvimento fetal humano compreende uma gama extensa de modificações intrauterinas abrangendo ações hormonais e expressão de diversos genes para a consolidação do indivíduo em sua forma final (KOIBUCHI; CHIN, 2000; ALEXANDER et al., 2017). Nesse sentido, é durante a gestação que ocorrem as transformações mais decisivas para a formação do ser, sendo que a tireoide e seus hormônios apresentam participação decisiva no desenvolvimento do sistema nervoso fetal, sendo que alterações nas concentrações hormonais estão relacionadas à diminuição no tamanho e maior agregação das células corticais, assim como estão relacionadas à diminuições na densidade e quantidade de axônios, além de dificultarem a migração e diferenciação celular (THOMPSON, 2000). Os hormônios tireoidianos também têm participação no crescimento fetal e também no metabolismo de carboidratos principalmente na vida pós-natal (EVANS, 1988; KOIBUCHI; CHIN, 2000; SINHA; SINGH; YEN, 2014). Sendo assim, alterações no ambiente intrauterino causados por distúrbios tireoidianos podem levar à malformação fetal e ainda, caso nasça vivo, comprometer seu desenvolvimento e sua integridade física no decorrer de sua vida (AHMED, 2017).

1.3.4. O hipertireoidismo

O hipertireoidismo é um tipo de distúrbio endócrino no qual há excesso de produção do hormônio T4, causado por tireotoxicose, bócio tóxico ou pela Doença de Graves, muito comum na gravidez. Os sintomas para os portadores consistem em fome excessiva, hiperatividade, batimentos cardíacos anormais, insônia e outros (ALBERICHE et al., 2017)

Além disso, estudos foram capazes de comprovar que esse distúrbio promove um aumento na taxa de filtração glomerular e aumento no volume de sangue dirigido aos rins. Aliado a isso foi evidenciado também que o hormônio T3 é capaz de aumentar a expressão do gene para produção de renina o que evidencia uma repercussão no Sistema Renina Angiotensina Aldosterona (SRAA) (KAREN; MORRIS, 1986).

O eixo tireoidiano dos roedores compreende a interação de respostas hipotalâmicas, hipofisárias e glandulares em um sistema de feedback negativo em adultos e filhotes (Figura 6), sendo que durante a vida intrauterina os hormônios tireoidianos provenientes da mãe promovem um auxílio no desenvolvimento e maturação de tecidos e órgãos fetais, auxiliando em seu crescimento, e estando disponíveis até o fim da gestação. O uso desses hormônios pelo feto é maior no início da gestação já que o eixo hipotálamo-hipófise-tireoide fetal só estará completamente formado após o 17º dia de gestação, passando a produzir e utilizar seus próprios hormônios (FOWDEN; SILVER, 1995; FORHEAD; FOWDEN, 2014). Pesquisas demonstraram que a prole de ratas com hipertireoidismo apresenta uma diminuição dos folículos tireoidianos, associada à diminuição do tamanho normal da glândula (AHMED, 2017) e a alterações degenerativas durante as 4 semanas que sucedem o nascimento dos filhotes (EL-BAKRY; EL-GAREIB; AHMED, 2010).

Outros estudos demonstraram que distúrbios tireoidianos durante o período de gestação são capazes de provocar alterações nas atividades do contratransportador Na⁺/H⁺ nos rins de filhotes (BAUM et al., 1998), e que alterações durante o desenvolvimento cardíaco, podem ser provocadas por um quadro de hipertireoidismo,

além de aumento da expressão de receptores AT 1 e AT 2 e de Angiotensina II (LINO; SHIBATA; BARRETO-CHAVES, 2014).

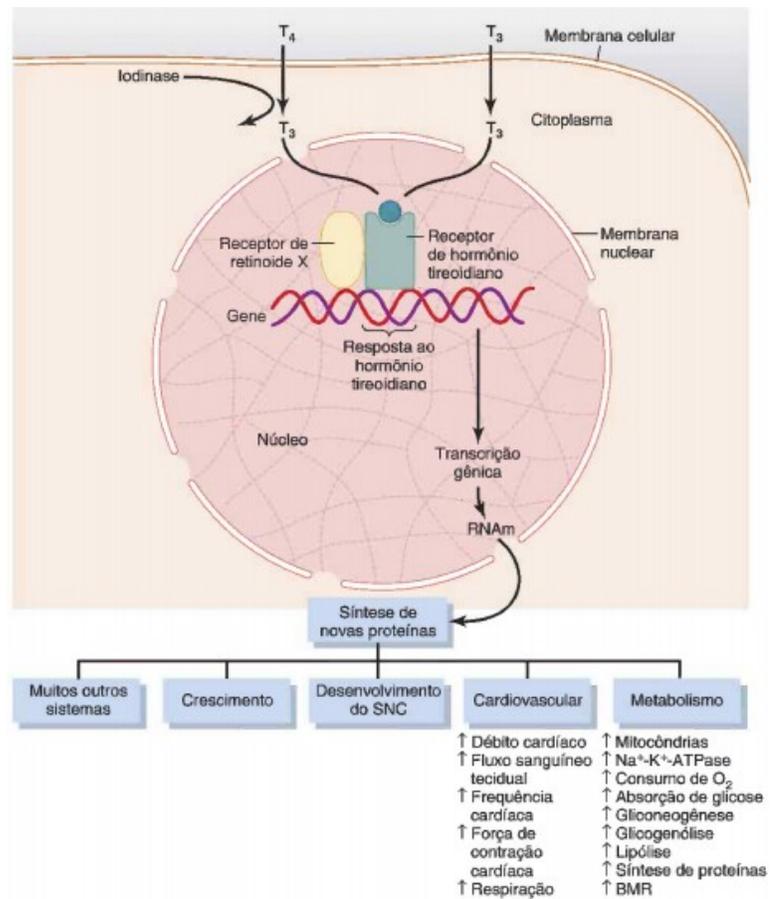


Figura 6 - Representação dos efeitos dos hormônios tireoidianos (GUYTON, 2011).

2. JUSTIFICATIVA

O hipertireoidismo gestacional é um distúrbio endócrino que apresenta elevada prevalência nas sociedades humanas e se apresenta devidamente documentado, relacionando-se à problemas gestacionais, principalmente na maturação dos sistemas fisiológicos durante a vida pré e pós-natal. Inúmeros estudos têm investigado a influência deste distúrbio sobre o comportamento materno e suas repercussões na prole, repercussões estas que focalizam o comportamento ingestivo, perfil metabólico e até mesmo sobre a regulação sensorial nociceptiva.

Sabendo da importância dos hormônios tireoidianos para o desenvolvimento fetal, metabolismo celular e também na manutenção de processos homeostáticos como a filtração renal que garantem o funcionamento do organismo, esse estudo se justifica devido à carência de evidências que demonstrem as implicações renais observadas em proles de ratas *Wistar* com hipertireoidismo durante a fase gestacional.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Avaliar as repercussões renais e metabólicas do hipertireoidismo materno para a prole de ratas *Wistar*.

3.2. Objetivos específicos

a) Analisar parâmetros maternos durante a gestação como consumos hídrico e alimentar, ganho de peso e níveis plasmáticos de T3 e T4 livres;

b) Avaliar o número de filhotes por ninhada, bem como a proporção entre machos e fêmeas;

c) Determinar a relação peso renal-peso corporal em filhotes de 1, 7 e 30 dias de idade;

d) Avaliar a Taxa de Filtração Glomerular (TFG) dos filhotes de 30 dias através do *clearance* de creatinina;

e) Avaliar a excreção urinária de proteínas (microalbuminúria) apresentada pelos filhotes de 30 dias.

f) Dosar os níveis plasmáticos de colesterol total e triglicérides, bem como de T3 e T4 livres, dos animais de 30 dias.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Animais

Foram utilizados para acasalamento 20 ratas Wistar de aproximadamente 180g e 10 ratos Wistar de 300g, provenientes do Biotério Central e mantidos no biotério setorial do bloco 2A, ambos integrantes da Rede de Biotérios de Roedores da Universidade Federal de Uberlândia (REBIR-UFU). Todos os procedimentos experimentais foram analisados e aprovados pelo Comitê de Ética na Utilização de Animais (CEUA), registrados sob número de protocolo 095/17 (ANEXO).

4.2. Cruzamento dos animais

As fêmeas foram colocadas nas caixas dos machos, no final de cada tarde, numa proporção de 2 a 3 fêmeas para cada macho. No dia seguinte pela manhã, as fêmeas foram submetidas ao esfregaço vaginal para a constatação de uma possível gravidez pela presença de espermatozóides.

4.3. Grupos

As ratas grávidas foram separadas em caixas individuais e seus filhotes divididos nos seguintes grupos:

Grupo Controle: filhotes fêmeas de 1 (n=7), 7 (n=7) e 30 (n=7) dias de mães que receberam apenas água e ração *ad libitum* durante a gestação e amamentação.

Grupo Experimental 1: filhotes fêmeas de 1 (n=8), 7 (n=7) e 30 (n=7) dias de mães que receberam somente água por gavagem desde o 8° até último dia de gestação (21°), além de água e ração *ad libitum*.

Grupo Experimental 2: filhotes fêmeas de 1 (n=8), 7 (n=8) e 30 (n= 7) dias de mães que receberam uma solução veículo por gavagem desde o 8° até último dia de gestação (21°), além de água e ração *ad libitum*.

Grupo Experimental 3: filhotes fêmeas de 1 (n=7), 7 (n=7), 30 (n= 7) dias de mães que receberam solução de T4 desde o 8º dia de gestação até o último dia de gestação (21º), além de água e ração *ad libitum*.

Foram coletadas amostras de sangue das ratas de todos os grupos para dosagem de hormônios T3 e T4 para confirmação dos quadros eutireoideo das ratas mães dos grupos Controle, Experimental 1 e Experimental 2 e hipertireoideo das mães do grupo Experimental 3. Além disso, foram acompanhados parâmetros maternos como ganho de peso e consumos hídrico e alimentar durante a gestação.

4.4. Retirada de rins

Após o nascimento, os filhotes fêmeas de 1, 7 e 30 dias foram anestesiados com Halotano (*Cristália*) e tiveram seus rins removidos. Após a coleta, os rins dos animais foram fixados em methacarn por 24 horas e em seguida lavados com álcool 70%. Na sequência, os rins foram incluídos em parafina para a realização de cortes de 4 µm de espessura com auxílio de um micrótomo. Os rins dos animais de 30 dias só foram retirados após a coleta de sangue e urina.

4.5. Estudos de função renal

Para os estudos de função renal dos animais de 30 dias, foram coletadas amostras de sangue e urina dos filhotes. Para determinação do clearance de creatinina e, conseqüentemente, da taxa de filtração glomerular TFG, as dosagens de creatinina urinária e plasmática foram feitas por método colorimétrico utilizando-se ácido pícrico (Bioclin), para análise em espectrofotômetro (510 nm). (FRANÇA et al, 2018).

4.6. Excreção Urinária de Albumina (EUA)

A EUA foi determinada nos filhotes de 30 dias de todos os grupos por colorimetria com o auxílio do vermelho de pirogalol (Bioclin). A absorbância resultante

obtida pela leitura das amostras em espectrofotômetro (600 nm) foi diretamente proporcional à concentração de proteína na amostra (ORSONNEUA et al, 1989).

4.7. Dosagem de colesterol total e triglicerídeos

As dosagens de colesterol total e de triglicerídeos foram determinadas nos filhotes de 30 dias de todos os grupos por colorimetria utilizando-se o plasma obtido por centrifugação das amostras de sangue coletadas. Assim como na determinação da EUA, a absorbância resultante obtida pela leitura das amostras em espectrofotômetro será diretamente proporcional às concentrações de colesterol total e triglicerídeos na amostra (TONKS, 1983).

4.8 Dosagem dos hormônios tireoidianos

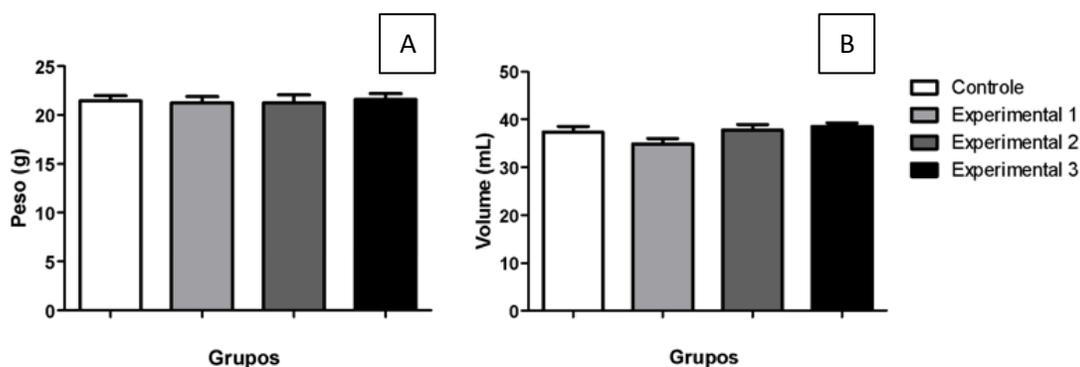
As dosagens dos níveis plasmáticos de T3 e T4 livres maternos e dos filhotes de 30 dias de idade foram feitas por eletroquimioluminescência (MIOTO, et al, 2018).

5. RESULTADOS

5.1 Dados maternos

Os consumos alimentar e hídrico maternos foram avaliados durante a gestação e não houve diferenças entre os grupos para os 2 parâmetros analisados (Figura 7). Também foi feita a pesagem das ratas grávidas no dia da confirmação da gravidez e no 20º dia de gestação, considerou-se como ganho de peso materno a diferença entre as 2 pesagens e não houve diferenças entre os grupos (Figura 8). Os níveis plasmáticos dos hormônios tireoidianos T3 e T4 foram determinados no final da gestação. Embora os níveis de T3 não tenham sido diferentes entre os grupos, as ratas do grupo Experimental 3 apresentaram maiores níveis de T4 em comparação aos demais grupos indicando um quadro claro de hipertireoidismo (Figura 9).

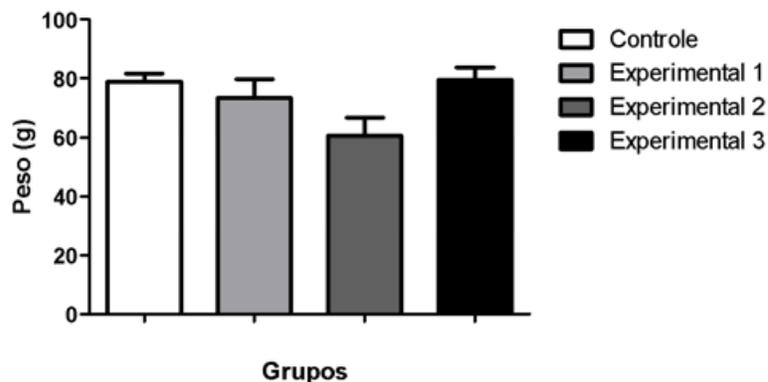
Figura 7. Consumos alimentar (A) e hídrico (B) maternos durante a gestação.



Fonte: O autor.

Consumo alimentar (A) em gramas, e hídrico (B) em mL maternos dos grupos Controle e Experimentais 1, 2 e 3 durante a gestação. ANOVA com pós-teste de Tukey. Os dados foram apresentados como Média±EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

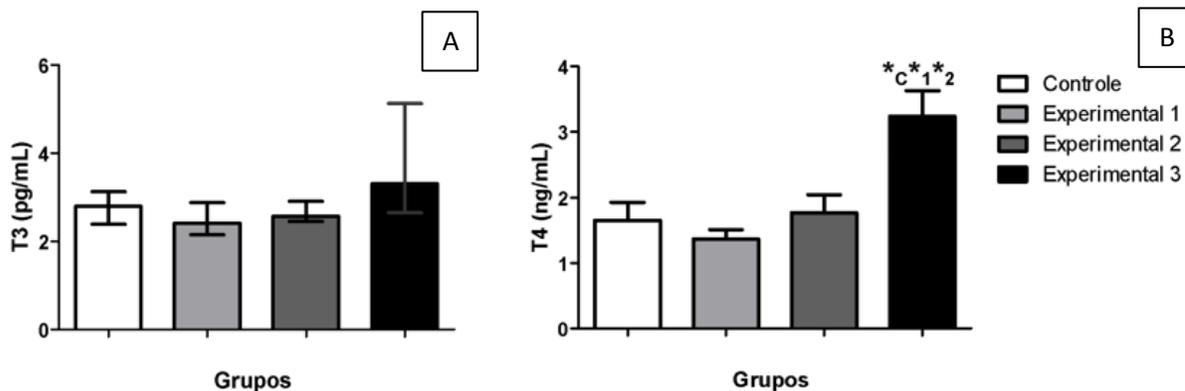
Figura 8. Ganho de peso materno durante a gestação.



Fonte: O autor.

Ganho de peso materno durante a gestação dos grupos Controle e Experimentais 1, 2 e 3. ANOVA com pós-teste de Tukey. Os dados foram apresentados como Média±EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

Figura 9. Níveis plasmáticos maternos dos hormônios T3 (A) e T4 (B) durante a gestação.



Fonte: O autor.

Níveis plasmáticos maternos dos hormônios T3 (A) e T4 (B) durante a gestação dos grupos Controle e Experimentais 1, 2 e 3. T3: Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn e T4: ANOVA com pós-teste de Tukey. Os dados foram apresentados como mediana com IQ 75 e IQ 25 para T3 e como Média±EPM para T4. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. *C: $p < 0,05$ versus Controle; *1: $p < 0,05$ versus Experimental 1; e *2: $p < 0,05$ versus Experimental 2.

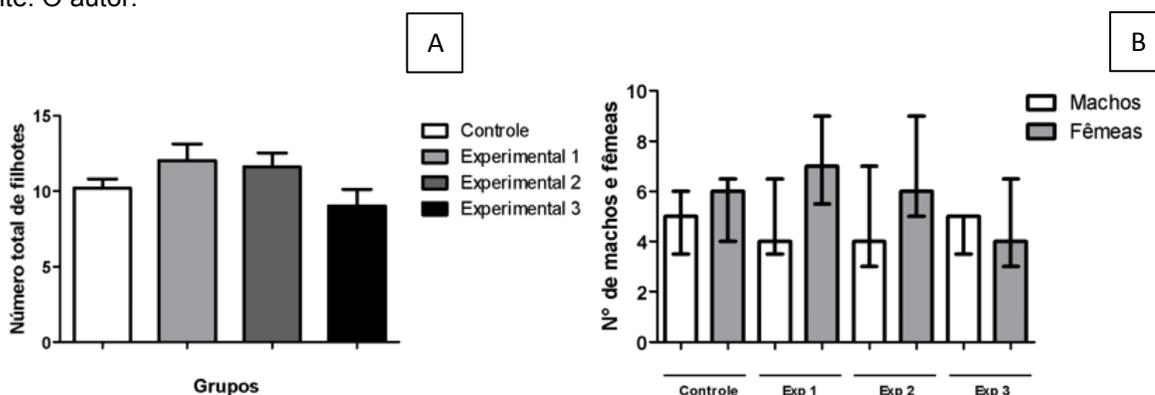
5.2 Dados da prole

Foram avaliados o número total de filhotes, bem como a proporção entre machos e fêmeas de cada ninhada e não houve diferenças entre os grupos (Figura 10). Filhotes fêmeas de 1, 7 e 30 dias de idade tiveram seus pesos corporais e renais analisados para o estabelecimento da relação peso renal-peso corporal, que foi maior nos animais de 7 dias dos grupos Experimentais 2 e 3 em relação aos controles e Experimental 1, de mesma idade, enquanto que nos de 30 dias esta relação foi menor quando comparado ao grupo controle de idade correspondente, indicando que, possivelmente, o distúrbio materno de hipertireoidismo promoveu, nos filhotes, menor crescimento dos rins nos animais de 30 dias do grupo Experimental 3. (Figura 11).

Os níveis plasmáticos de T3 e T4 livres também foram avaliados nos filhotes de 30 dias. Observou-se que os filhotes de 30 dias do grupo Experimental 3 apresentaram menores níveis de T3 em relação aos demais grupos, enquanto os níveis de T4 foram menores nesses filhotes quando comparados aos grupos Controle e Experimental 2, indicando que esses animais do grupo experimental 3 desenvolveram um quadro de hipotireoidismo (Figura 12). Parâmetros como colesterol total, Taxa de Filtração Glomerular (TFG) e Excreção Urinária de Proteínas (EUP) (Figuras 13, 15 e 16) não foram diferentes entre os grupos, mas níveis plasmáticos de triglicerídeos foram maiores no grupo Experimental 3 em relação aos demais grupos (Figura 14).

Figura 10. Número total de filhotes (A) e da proporção entre machos e fêmeas (B) de cada ninhada.

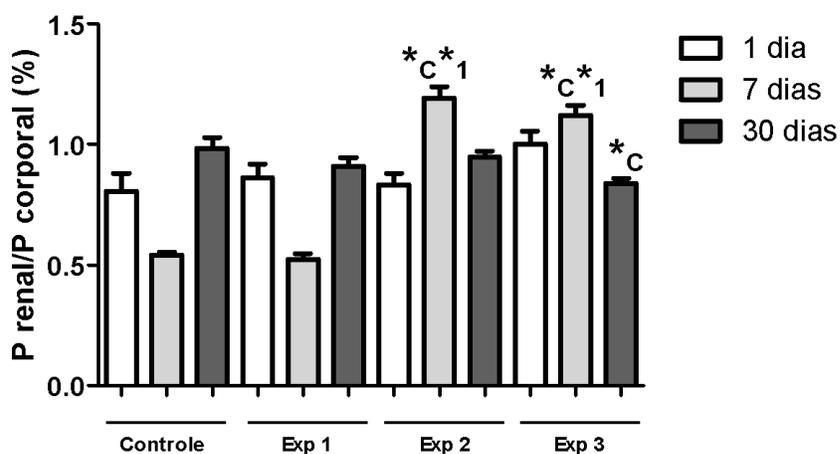
Fonte: O autor.



Fonte: O autor.

Número total de filhotes (A) e da proporção entre machos e fêmeas (B) de cada ninhada dos grupos Controle e Experimentais 1, 2 e 3. Número total de filhotes: ANOVA com pós-teste de Tukey e Proporção entre machos e fêmeas: Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn. Os dados foram apresentados como Média±EPM para número total de filhotes e como mediana com IQ 75 e IQ 25 para proporção entre machos e fêmeas. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

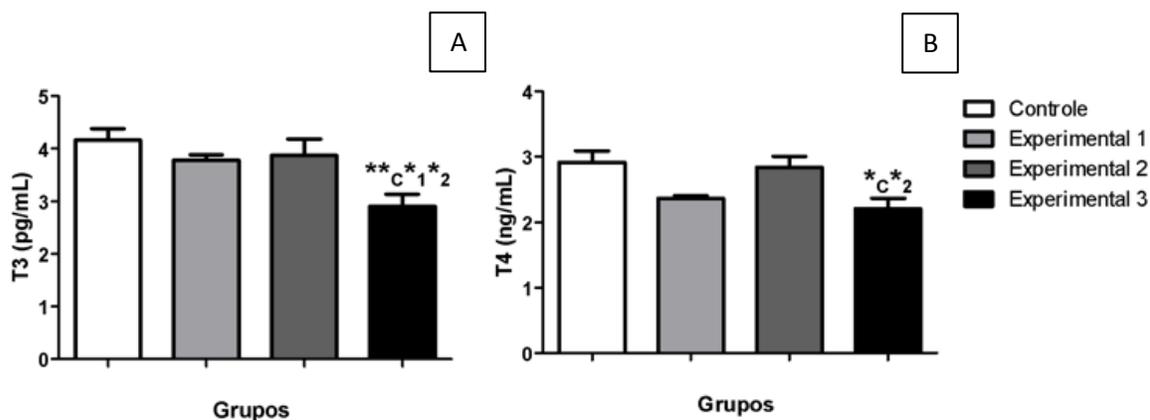
Figura 11. Relação peso renal-peso corporal dos filhotes de 1, 7 e 30 dias de idade.



Fonte: O autor.

Relação peso renal-peso corporal dos filhotes de 1, 7 e 30 dias de idade dos grupos Controle e Experimentais 1, 2 e 3. ANOVA com pós-teste de Tukey. Os dados foram apresentados como Média±EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. *C: $p < 0,05$ versus Controle de mesma idade; *1: $p < 0,05$ versus Experimental 1 de mesma idade.

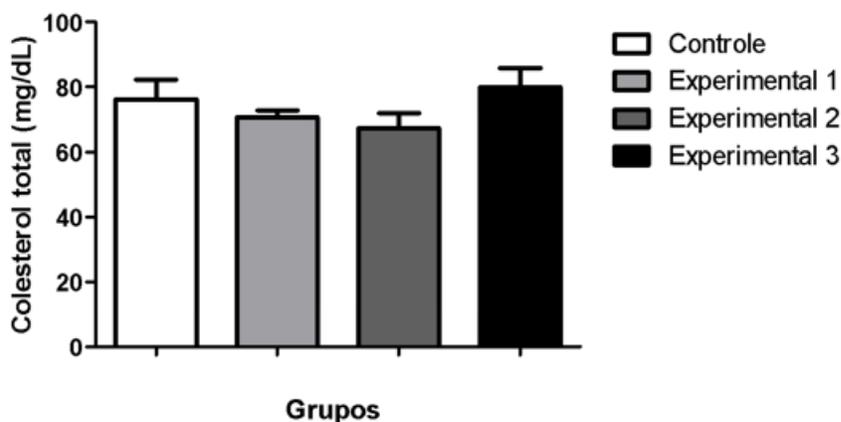
Figura 12. Níveis plasmáticos dos hormônios T3 (A) e T4 (B) dos filhotes de 30 dias de idade.



Fonte: O autor.

Níveis plasmáticos dos hormônios T3 (A) e T4 (B) dos filhotes de 30 dias de idade dos grupos Controle e Experimentais 1, 2 e 3. ANOVA com pós-teste de Tukey. Os dados foram apresentados como Média±EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. **C: $p < 0,01$ versus Controle, *C: $p < 0,05$ versus Controle; *1: $p < 0,05$ versus Experimental 1; *2: $p < 0,05$ versus Experimental 2.

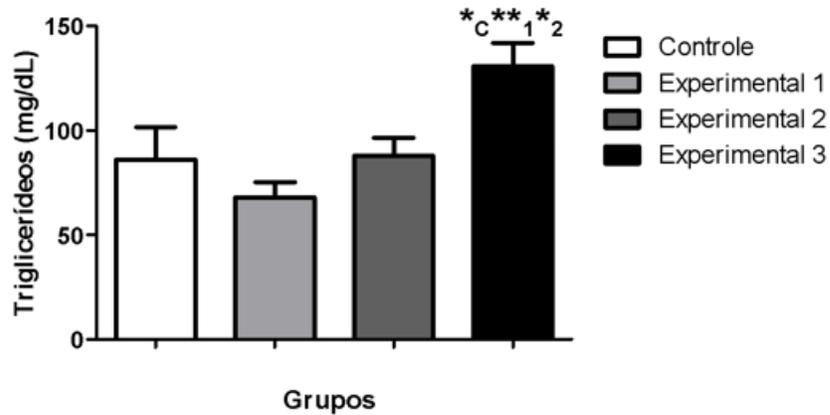
Figura 13. Níveis plasmáticos de colesterol total dos filhotes de 30 dias de idade.



Fonte: O autor.

Níveis plasmáticos de colesterol total dos filhotes de 30 dias de idade dos grupos Controle e Experimentais 1, 2 e 3. ANOVA com pós-teste de Tukey. Os dados foram apresentados como Média±EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

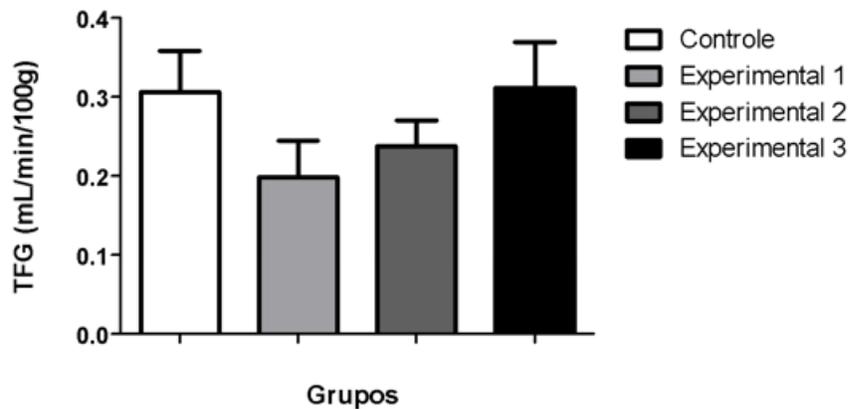
Figura 14. Níveis plasmáticos de triglicerídeos dos filhotes de 30 dias de idade.



Fonte: O autor.

Níveis plasmáticos de triglicerídeos dos filhotes de 30 dias de idade dos grupos Controle e Experimentais 1, 2 e 3. ANOVA com pós-teste de Tukey. Os dados foram apresentados como Média±EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. *C: $p < 0,05$ versus Controle, **1: $p < 0,01$ versus Experimental 1; *2: $p < 0,05$ versus Experimental 2.

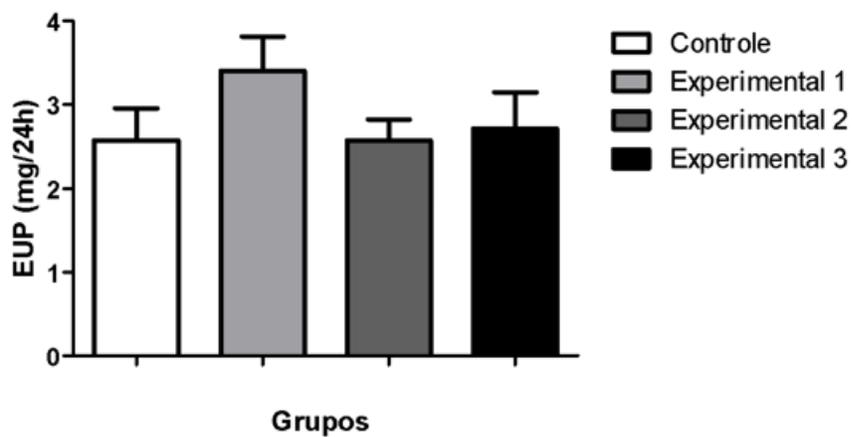
Figura 15. Taxa de Filtração Glomerular (TFG) dos filhotes de 30 dias de idade.



Fonte: O autor.

Taxa de Filtração Glomerular (TFG) dos filhotes de 30 dias de idade dos grupos Controle e Experimentais 1, 2 e 3. ANOVA com pós-teste de Tukey. Os dados foram apresentados como Média±EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

Figura 16. Excreção Urinária de Proteínas (EUP) dos filhotes de 30 dias de idade.



Fonte: O autor.

Excreção Urinária de Proteínas (EUP) dos filhotes de 30 dias de idade dos grupos Controle e Experimentais 1, 2 e 3. ANOVA com pós-teste de Tukey. Os dados foram apresentados como Média±EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

6. DISCUSSÃO

Duas a cada 1000 mulheres grávidas apresentam algum grau de hipertireoidismo, sendo a maioria dos sintomas atenuados durante a gravidez. No entanto, há grande recorrência de hipertireoidismo pós-parto, o que pode levar à problemas subsequentes aos portadores.(RODIN; RODIN, 1989).

A tireoide surge em ratos por volta do nono dia embrionário (E9), sendo capaz de concentrar tireoglobulina e captar iodeto. A produção hormonal acontece na mesma época (E9), com níveis diferentes de T3 e T4, sendo T3 o mais abundante, a fonte hormonal do embrião é materna, até esse período. Estudos demonstraram que mesmo pequenas deficiências de iodo materno são capazes de diminuir os níveis de T4 do feto (KLEIN et al., 2001), evidenciando que os níveis sorológicos normais maternos de T4 são fundamentais para a manutenção dos níveis adequados deste hormônio no embrião e uma adequada conversão local em T3.

Os níveis totais de T3 e T4 aumentam significativamente de E18 até o nascimento, pela maturação da glândula tireoide. Após o nascimento, os níveis plasmáticos de T4 sobem de forma acentuada, atingindo um pico no décimo sétimo dia pós-natal (DPN17), seguidos por uma elevação, em paralelo, dos níveis de T3, que irão atingir seu pico em DPN28. Os níveis totais de T3, que serão padrão em ratos adultos, são alcançados em DPN40 (FISHER et al., 1976; WALKER; DUBOIS; DUSSAULT, 1980; FISHER; KLEIN, 1981;). Pelo que foi exposto e seguindo dados da literatura, neste trabalho optou-se por fazer a administração de T4 a partir do 8º dia de gestação até o dia do parto, com o objetivo de se induzir um quadro de hipertireoidismo materno, que foi confirmado pelos elevados níveis plasmáticos de T4 nas ratas grávidas, embora os níveis de T3 não tenham sido diferentes entre os grupos (BALDISSARELLI et al., 2018).

Considerando o quadro de hipertireoidismo, em que há um metabolismo celular aumentado devido ao excesso de hormônios tireoidianos, sabe-se que há aumento da ingestão calórica devido ao aumento do apetite, embora ocorra importante perda de peso. Essas alterações não foram observadas nas ratas grávidas hipertireoideas, também não houve mudanças na ingestão hídrica, diferentemente do que consta em

outros trabalhos, nos quais foram observados quadros de hiperfagia tanto em ratas quanto em ratos, ambos confirmadamente hipertireoideos, que receberam por via subcutânea o hormônio T4 na dose de $100\mu\text{g d}^{-1}$ dissolvidos em $200\mu\text{L}$ de salina durante um período de 21 dias (LÓPEZ et al., 2001, 2010). No entanto, é possível que o tempo de administração de T4, cerca de 13 dias durante a gestação, e o tempo de avaliação desta ingestão (5 dias) possam justificar as diferenças.

No que diz respeito aos parâmetros avaliados na prole, constatou-se que os filhotes de 30 dias de mães hipertireoideas apresentaram níveis plasmáticos reduzidos de T3 e T4, caracterizando um quadro de hipotireoidismo na prole jovem. Da mesma forma, Ahmed e colaboradores (2010) observaram que em filhotes de mães tratadas com hormônio tireoidiano, nas quais o quadro de hipertireoidismo foi confirmado, o número de folículos tireoidianos apresentou-se diminuído e acompanhado de uma atrofia da glândula tireoide e, conseqüentemente, levando a uma redução nos níveis de T4 sérico na prole. Esta pode ser a explicação para os resultados encontrados neste trabalho, embora as glândulas tireoides da prole não tenham sido coletadas para análise. Além disso, outros estudos demonstraram que há uma relação entre a malformação fetal e um quadro de hipertireoidismo materno, evidenciando que alterações como atrofia tireoidiana, redução no desenvolvimento do sistema nervoso, alterações no sistema cardiovascular e também no desenvolvimento renal (MOMOTANI et al., 1984; DILLMANN, 2002; AHMED et al., 2012; MARIANI; BERNIS, 2012) são comuns na prole de mães com quadro clínico confirmado.

Neste trabalho, não houve registro de malformação na prole, do número de filhotes por ninhada ou mesmo na proporção entre machos e fêmeas, mas com relação ao desenvolvimento renal, o peso renal-peso corporal foi maior nos animais de 7 dias dos grupos Experimentais 2 e 3, enquanto que nos de 30 dias do Experimental 3 esta relação foi menor quando comparado ao grupo controle de idade, evidenciando alterações no desenvolvimento desses órgãos embora não tenha resultado em modificações na TFG ou mesmo na excreção renal de proteínas. Sabe-se que em um quadro de hipertireoidismo estão alterados os processos hemodinâmicos, associados à liberação de renina, à angiogênese, aos níveis de óxido nítrico, pressão de filtração e também uma maior sensibilidade à estímulos β -adrenérgicos (KOCH; CHROUSOS,

2000; FAZIO et al., 2004; IGLESIAS et al., 2005; KAHALY; DILLMANN, 2005; PRISANT; GUJRAL; MULLOY, 2006; VARGAS et al., 2006; DANZI; KLEIN, 2012; RODRÍGUEZ-GÓMEZ et al., 2013), mas essas alterações estariam presentes no portador do distúrbio. Apesar da escassez de dados específicos sobre repercussões renais na prole de mães hipertireoideas, deve-se levar em consideração que mudanças funcionais renais possam aparecer mais tardiamente na prole, como consequência de alterações estruturais. No entanto, as análises histológicas e imunohistoquímicas dos rins coletados da prole de diferentes idades ainda não foram realizadas. Além disso, ainda que mudanças estruturais tivessem sido identificadas, há uma tendência de nefros funcionantes compensarem a função de parte dos não funcionais e, em um primeiro momento, a creatinina plasmática e a TFG continuarem dentro dos valores de referência (VARGAS et al., 1994).

A avaliação de perfil lipídico na prole mostrou que não houve diferenças significativas entre os grupos para os níveis plasmáticos de colesterol total, mas mostrou um aumento de triglicerídeos nos filhotes de 30 dias de mães hipertireoideas, em relação aos controles. Varas e colaboradores (2001) trataram ratas da linhagem *Wistar* com T4 (10µg/100g de peso corporal) por 14 dias anteriores à gravidez e, posteriormente, pelos 21 dias de gestação e observaram que os neonatos de 14 e 21 dias apresentaram níveis de colesterol livre reduzidos, quando comparados aos do grupo controle, enquanto que em neonatos de 7 dias, os níveis de colesterol não foram diferentes entre os grupos. Além disso, a disponibilidade de colesterol à prole dá-se primordialmente através do leite materno e, como constatado neste trabalho, não há indícios de alterações metabólicas maternas importantes durante a gestação, embora o perfil lipídico das ratas grávidas não tenha sido avaliado. Outro trabalho de Vara e colaboradores demonstrou que ratas tratadas com T4 (10µg/100g) e com quadro confirmado de hipertireoidismo, apresentaram problemas de lactação associados à diminuição sérica do hormônio prolactina no grupo experimental, assim como diminuição do hormônio ocitocina, levando a uma menor produção de leite pelas mães e, conseqüentemente, à menor ingestão pelos filhotes (VARAS et al., 2002).

No entanto, quanto aos resultados encontrados para triglicerídeos nos filhotes de mães hipertireoideas, esta alteração pode estar associada a um aumento da

interação entre o excesso de hormônio tireoidiano no quadro de hipertireoidismo e os receptores do tecido adiposo marrom, levando à maior lipólise e à termogênese nas mães, que disponibilizam a maior parte dos triglicerídeos através da amamentação, influenciando as concentrações desses lipídeos na corrente sanguínea dos filhotes (CIOFFI et al., 2018).

7. CONCLUSÃO

Baseando-se nos resultados encontrados, o hipertireoidismo materno interferiu no desenvolvimento renal e em parâmetros metabólicos, como os níveis plasmáticos de triglicérides, bem como resultou em hipotireoidismo, na prole de ratas *Wistar*.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMED, O. M.; ABD EL-TAWAB, S. M.; AHMED, R. G. Effects of experimentally induced maternal hypothyroidism and hyperthyroidism on the development of rat offspring: I. The development of the thyroid hormones–neurotransmitters and adenosinergic system interactions. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 28, n. 6, p. 437–454, 1 out. 2010.

AHMED, O. M. et al. Effects of experimentally induced maternal hypothyroidism and hyperthyroidism on the development of rat offspring: II—The developmental pattern of neurons in relation to oxidative stress and antioxidant defense system. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 30, n. 6, p. 517–537, 1 out. 2012.

ALBERICHE, M. et al. Onset of Graves' disease during pregnancy in a woman with established hypothyroidism. **Gynecological Endocrinology**, v. 33, n. 1, p. 16–18, 2 jan. 2017.

ALEXANDER, E. K. et al. 2017 Guidelines of the American Thyroid Association for the Diagnosis and Management of Thyroid Disease During Pregnancy and the Postpartum. **Thyroid**, v. 27, n. 3, p. 315–389, 1 mar. 2017.

BALDISSARELLI, J. et al. Hypothyroidism and hyperthyroidism change ectoenzyme activity in rat platelets. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 119, n. 7, p. 6249–6257, 1 jul. 2018.

BARKER, D. J. P. Fetal programming of coronary heart disease. **Trends in endocrinology and metabolism: TEM**, v. 13, n. 9, p. 364–8, 1 nov. 2002.

BAUM, M. et al. Effects of thyroid hormone on the neonatal renal cortical Na⁺/H⁺ antiporter. **Kidney International**, v. 53, n. 5, p. 1254–1258, 1 maio 1998.

BREIER, B. . et al. Fetal programming of appetite and obesity. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 185, n. 1–2, p. 73–79, 20 dez. 2001.

CHEN, Y.-W. et al. Maternal diabetes programs hypertension and kidney injury in offspring. **Pediatric Nephrology**, v. 25, n. 7, p. 1319–1329, 27 jul. 2010.

CIOFFI, F. et al. Effect of Iodothyronines on Thermogenesis: Focus on Brown Adipose Tissue. **Frontiers in Endocrinology**, v. 9, p. 254, 23 maio 2018.

DANZI, S.; KLEIN, I. Thyroid Hormone and the Cardiovascular System. **Medical Clinics of North America**, v. 96, n. 2, p. 257–268, 1 mar. 2012.

DE GRAUW, T. J.; MYERS, R. E.; SCOTT, W. J. Fetal growth retardation in rats from different levels of hypoxia. **Biology of the neonate**, v. 49, n. 2, p. 85–9, 1986.

DILLMANN, W. H. Cellular Action of Thyroid Hormone on the Heart. **Thyroid**, v. 12, n. 6, p. 447–452, 9 jun. 2002.

EL-BAKRY, A. M.; EL-GAREIB, A. W.; AHMED, R. G. Comparative study of the effects of experimentally induced hypothyroidism and hyperthyroidism in some brain regions in albino rats. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 28, n. 5, p. 371–389, 1 ago. 2010.

EVANS, R. M. The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. **Science (New York, N.Y.)**, v. 240, n. 4854, p. 889–95, 13 maio 1988.

FAZIO, S. et al. Effects of Thyroid Hormone on the Cardiovascular System. **Recent progress in hormone research**, v. 59, p. 31–50, 2004.

FISHER, D. A. et al. Ontogenesis of hypothalamic--pituitary--thyroid function and metabolism in man, sheep, and rat. **Recent progress in hormone research**, v. 33, p. 59–116, 1976.

FISHER, D. A.; KLEIN, A. H. Thyroid Development and Disorders of Thyroid Function in the Newborn. **New England Journal of Medicine**, v. 304, n. 12, p. 702–712, 19 mar. 1981.

FORHEAD, A. J.; FOWDEN, A. L. Thyroid hormones in fetal growth and prepartum maturation. **Journal of Endocrinology**, v. 221, n. 3, p. R87–R103, jun. 2014.

FOWDEN, A. L.; SILVER, M. The effects of thyroid hormones on oxygen and glucose metabolism in the sheep fetus during late gestation. **The Journal of Physiology**, v. 482, n. 1, p. 203–213, 1 jan. 1995.

FRANÇA-SILVA, N.; OLIVEIRA, N. D. G.; BALBI, A. P. C. Morphofunctional renal alterations in rats induced by intrauterine hyperglycemic environment. **Archives of Medical Science**, v. 2, n. 2, p. 243–251, 1 abr. 2016.

FRANÇA-SILVA, N.; REIS, N.G.; SANTOS, P.F.; BALBI, APC. Diabetes and pregnancy in Wistar rats: renal effects for mothers in the postpartum period. **J Dev Orig Health Dis**. 2018 Feb;9(1):77-86.

GODFREY, K. M.; BARKER, D. J. Fetal programming and adult health. **Public Health Nutrition**, v. 4, n. 2b, p. 611–624, 27 abr. 2001.

HALL, J. E. **Guyton e Hall Tratado de Fisiologia Médica**. 13. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2017.

HERTZ, S.; ROBERTS, A.; EVANS, R. D. Radioactive Iodine as an Indicator in the

Study of Thyroid Physiology. **Experimental Biology and Medicine**, v. 38, n. 4, p. 510–513, 1 maio 1938.

HILLER-STURMHÖFEL, S.; BARTKE, A. The endocrine system: an overview. **Alcohol health and research world**, v. 22, n. 3, p. 153–64, 1998.

IGLESIAS, P. et al. Ambulatory blood pressure monitoring in patients with hyperthyroidism before and after control of thyroid function. **Clinical Endocrinology**, v. 63, n. 1, p. 66–72, 1 jul. 2005.

JONES, J. H. Fetal programming: Adaptive life-history tactics or making the best of a bad start? **American Journal of Human Biology**, v. 17, n. 1, p. 22–33, 1 jan. 2005.
KAHALY, G. J.; DILLMANN, W. H. Thyroid Hormone Action in the Heart. **Endocrine Reviews**, v. 26, n. 5, p. 704–728, 1 ago. 2005.

KAREN, P.; MORRIS, B. J. Stimulation by thyroid hormone of renin mRNA in mouse submandibular gland. **The American journal of physiology**, v. 251, n. 3 Pt 1, p. E290–3, set. 1986.

KLEIN, R. Z. et al. Relation of severity of maternal hypothyroidism to cognitive development of offspring. **Journal of Medical Screening**, v. 8, n. 1, p. 18–20, 7 mar. 2001.

KOCH, C. A.; CHROUSOS, G. P. **Overview of Endocrine Hypertension**. [s.l.] MDText.com, Inc., 2000.

KOIBUCHI, N.; CHIN, W. W. Thyroid hormone action and brain development. **Trends in endocrinology and metabolism: TEM**, v. 11, n. 4, p. 123–8, 1 maio 2000.

LANGLEY-EVANS, S. C. Fetal programming of cardiovascular function through exposure to maternal undernutrition. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 60, n. 04, p. 505–513, 28 nov. 2001.

LARAGH, J. H. et al. Renin, angiotensin and aldosterone system in pathogenesis and management of hypertensive vascular disease. **The American Journal of Medicine**, v. 52, n. 5, p. 633–652, 1 maio 1972.

LINO, C. A.; SHIBATA, C. E.; BARRETO-CHAVES, M. L. M. Maternal hyperthyroidism alters the pattern of expression of cardiac renin-angiotensin system components in rat offspring. **Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System**, v. 15, n. 1, p. 52–60, 20 mar. 2014.

LÓPEZ, M. et al. Hypothalamic AMPK and fatty acid metabolism mediate thyroid regulation of energy balance. **Nature Medicine**, v. 16, n. 9, p. 1001–1008, 29 set. 2010.

LÓPEZ, M. et al. Prepro-orexin mRNA levels in the rat hypothalamus, and orexin

receptors mRNA levels in the rat hypothalamus and adrenal gland are not influenced by the thyroid status. **Neuroscience Letters**, v. 300, n. 3, p. 171–175, 16 mar. 2001.

MANSOURI, A.; CHOWDHURY, K.; GRUSS, P. Follicular cells of the thyroid gland require Pax8 gene function. **Nature Genetics**, v. 19, n. 1, p. 87–90, 1 maio 1998.

MARIANI, L. H.; BERNIS, J. S. Science in renal medicine: The Renal Manifestations of Thyroid Disease. **J Am Soc Nephrol**, v. 23, p. 22–26, 2012.

MIOTO V.C.B.; MONTEIRO A.C.C.N.G.; DE CAMARGO R.Y.A.; BOREL A.R.; CATARINO R.M.; KOBAYASHI S.; CHAMMAS M.C.; MARUI S. High prevalence of iodine deficiency in pregnant women living in adequate iodine area. **Endocrine Connect**. 2018 May;7(5):762-767.

MOMOTANI, N. et al. Maternal hyperthyroidism and congenital malformation in the offspring. **Clinical Endocrinology**, v. 20, n. 6, p. 695–700, 1 jun. 1984.

MOORE, K.; PERSAUD, T.; TORCHIA, M. **Embriologia clínica**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.

NILSSON, M.; FAGMAN, H. Development of the thyroid gland. **Development (Cambridge, England)**, v. 144, n. 12, p. 2123–2140, 15 jun. 2017.

ORSONNEAU JL, DOUET P, MASSOUBRE C, LUSTENBERGER P, BERNARD S. An improved pyrogallol red-molybdate method for determining total urinary protein. **Clin Chem** 1989; 35:2233-6.

PORTERFIELD, S. P.; WHITE, B. A. **Endocrine physiology**. [s.l.] Mosby/Elsevier, 2007.

PRISANT, L. M.; GUJRAL, J. S.; MULLOY, A. L. Hyperthyroidism: A Secondary Cause of Isolated Systolic Hypertension. **The Journal of Clinical Hypertension**, v. 8, n. 8, p. 596–599, 1 ago. 2006.

REMUZZI, G. et al. The role of renin-angiotensin-aldosterone system in the progression of chronic kidney disease. **Kidney International**, v. 68, p. S57–S65, 1 dez. 2005.

RG, A. Hyperthyroidism and Developmental Dysfunction. **Archives of Medicine**, v. 09, n. 04, 7 ago. 2017.

RINAUDO, P.; WANG, E. Fetal Programming and Metabolic Syndrome. **Annual Review of Physiology**, v. 74, n. 1, p. 107–130, 17 mar. 2012.

RODIN, A.; RODIN, A. Thyroid disease in pregnancy. **British journal of hospital medicine**, v. 41, n. 3, p. 234, 238–42, mar. 1989.

RODRÍGUEZ-GÓMEZ, I. et al. Influence of thyroid state on cardiac and renal capillary density and glomerular morphology in rats. **Journal of Endocrinology**, v. 216, n. 1, p. 43–51, 2013.

SCHOENWOLF, G. C. et al. **Larsen's human embryology**. [s.l.] Elsevier, 2015.

SCHULTZ, A. H. Fetal Growth of Man and Other Primates. **The Quarterly Review of Biology**, v. 1, n. 4, p. 465–521, 22 out. 1926.

SINHA, R. A.; SINGH, B. K.; YEN, P. M. Thyroid hormone regulation of hepatic lipid and carbohydrate metabolism. **Trends in endocrinology and metabolism: TEM**, v. 25, n. 10, p. 538–45, 1 out. 2014.

STRIEDER, T. G. A. et al. Risk factors for and prevalence of thyroid disorders in a cross-sectional study among healthy female relatives of patients with autoimmune thyroid disease. **Clinical Endocrinology**, v. 59, n. 3, p. 396–401, 1 set. 2003.

SUTER, M. A.; ANDERS, A. M.; AAGAARD, K. M. Maternal smoking as a model for environmental epigenetic changes affecting birthweight and fetal programming. **Molecular Human Reproduction**, v. 19, n. 1, p. 1–6, 1 jan. 2013.

THOMPSON, CATHERINE C.; POTTER, GREGORY B. Thyroid hormone action in neural development. **Cerebral cortex**, v. 10, n. 10, p. 939-945, 2000.

TONKS, D.B. **Quality Control in Clinical laboratories**, 1983.

TRAN, S. et al. Maternal Diabetes Modulates Renal Morphogenesis in Offspring. **J Am Soc Nephrol**, v. 19, p. 943–952, 2008.

VARAS, S. et al. Hyperthyroidism and production of precocious involution in the mammary glands of lactating rats. **Reproduction**, v. 124, n. 5, p. 691–702, 1 nov. 2002.

VARAS, S. M.; JAHN, G. A.; GIMÉNEZ, M. S. Hyperthyroidism affects lipid metabolism in lactating and suckling rats. **Lipids**, v. 36, n. 8, p. 801–806, 1 ago. 2001.

VARGAS, F. et al. Pressure-diuresis-natriuresis response in hyperthyroid and hypothyroid rats. **Clinical science (London, England : 1979)**, v. 87, n. 3, p. 323–8, 1 set. 1994.

VARGAS, F. et al. Vascular and renal function in experimental thyroid disorders. **European Journal of Endocrinology**, v. 154, n. 2, p. 197–212, 2006.

VARGAS-URICOECHEA, H.; BONELO-PERDOMO, A.; SIERRA-TORRES, C. H. Effects of thyroid hormones on the heart. **Clínica e Investigación en Arteriosclerosis**, v. 26, n. 6, p. 296–309, 1 nov. 2014.

VESTERGAARD, P.; MOSEKILDE, L. Hyperthyroidism, Bone Mineral, and Fracture Risk—A Meta-Analysis. **Thyroid**, v. 13, n. 6, p. 585–593, 9 jun. 2003.

VIGNERI, R.; MALANDRINO, P.; VIGNERI, P. The changing epidemiology of thyroid cancer. **Current Opinion in Oncology**, v. 27, n. 1, p. 1–7, jan. 2015.

WALKER, P.; DUBOIS, J. D.; DUSSAULT, J. H. Free Thyroid Hormone Concentrations during Postnatal Development in the Rat. **Pediatric Research**, v. 14, n. 3, p. 247–249, mar. 1980.

ZANDI-NEJAD, K.; LUYCKX, V. A.; BRENNER, B. M. Adult Hypertension and Kidney Disease The Role of Fetal Programming. 2006.

ZHANG, S.-L. et al. Angiotensin II increases Pax-2 expression in fetal kidney cells via the AT2 receptor. **Journal of the American Society of Nephrology : JASN**, v. 15, n. 6, p. 1452–65, 1 jun. 2004.

ZIMMERMANN, M. B.; BOELAERT, K. Iodine deficiency and thyroid disorders. **The lancet. Diabetes & endocrinology**, v. 3, n. 4, p. 286–95, 1 abr. 2015.

ANEXO



Universidade Federal de Uberlândia
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA)
Rua Ceará, S/N - Bloco 2D, sala 02 – CEP 38405-315
Campus Umuarama – Uberlândia/MG – Ramal (VoIP) 3423;
e-mail: ceua@propp.ufu.br; www.comissoes.propp.ufu.br

ANÁLISE FINAL Nº 048/18 DA COMISSÃO DE ÉTICA NA UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS PARA O PROTOCOLO REGISTRO CEUA/UFU 095/17

Projeto Pesquisa: "Consequências do hipertireoidismo materno para desenvolvimento renal de filhotes de ratas Wistar".

Pesquisador Responsável: Ana Paula Coelho Balbi

O protocolo não apresenta problemas de ética nas condutas de pesquisa com animais nos limites da redação e da metodologia apresentadas. Ao final da pesquisa deverá encaminhar para a CEUA um relatório final.

Situação: PROTOCOLO DE PESQUISA APROVADO.

OBS: A CEUA/UFU LEMBRA QUE QUALQUER MUDANÇA NO PROTOCOLO DEVE SER INFORMADA IMEDIATAMENTE AO CEUA PARA FINS DE ANÁLISE E APROVAÇÃO DA MESMA.

Uberlândia, 18 de abril de 2018.

Prof. Dr. Lúcio Vilela Carneiro Girão
Coordenador da CEUA/UFU
Portaria nº 665/17