

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

**THATIANA FERNANDA GALHARDI**

**CONSEQUÊNCIAS MORFOLÓGICAS RENAIIS DO HIPOTIREOIDISMO  
MATERNO PARA A PROLE DE RATOS WISTAR**

**UBERLÂNDIA**

**2019**

**THATIANA FERNANDA GALHARDI**

**CONSEQUÊNCIAS MORFOLÓGICAS RENAIIS DO HIPOTIREOIDISMO  
MATERNO PARA A PROLE DE RATOS WISTAR**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia como requisito para obtenção do título de bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ana Paula Coelho Balbi

**UBERLÂNDIA**

**2019**

**THATIANA FERNANDA GALHARDI**

**CONSEQUÊNCIAS MORFOLÓGICAS RENAIIS DO HIPOTIREOIDISMO  
MATERNO PARA A PROLE DE RATOS WISTAR**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia como requisito para obtenção do título de bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ana Paula Coelho Balbi

**Banca examinadora:**

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>.Ana Paula Coelho Balbi – ICBIM UFU  
Orientadora

---

Dr<sup>a</sup> Simone Ramos Deconte  
Membro Titular

---

Dr<sup>a</sup> Taís de Campos Lima  
Membro Titular

**UBERLÂNDIA  
2019**

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente aos meus queridos pais, Silvia e Ednilson, por possibilitarem meus estudos fora de casa, o que não foi uma tarefa fácil, por me ensinarem sobre a vida e me ajudarem a passar por esse período de conhecimento e amadurecimento, e principalmente, por me amarem incondicionalmente. Á minha irmã, Carol, pelos momentos de descontrações e melhores conversas e risadas pelo telefone. Sinto que a distância aproximou cada vez mais meus relacionamentos familiares. E agradeço imensamente por isso.

Á minha querida orientadora Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Ana Paula que me acolheu no laboratório de braços abertos e que me ensinou tanto. Obrigada por despertar o interesse por suas aulas, que são incríveis, e por ser conselheira e amiga. Ficar longe dos pais não é fácil e aprendi muito com você sobre dar importância aos pequenos momentos.

Á minha namorada, Indiannara, por me apoiar nesse período e me ajudar quando eu mais precisei. Obrigada por ser alguém que está sempre ao meu lado, que confia e acredita em mim.

Á equipe do laboratório de Fisiologia e aos meus colegas de laboratório que me ajudaram e tiveram paciência em me ensinar muitas coisas, e; principalmente, ao meu querido amigo Victor que me divertiu, me ensinou e ajudou em tantas coisas durante esse período; e querida amiga Letícia que não só aceitou compartilhar um apartamento comigo, como dividimos quatro anos de graduação. Á eles sou muito grata e vou levá-los comigo sempre no coração.

**LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS**

Antígeno nuclear de célula proliferativa: PCNA

Diiodotirosinas: DIT

Cotransportador de sódio e iodeto: NIS

Hormônio Estimulante da Tireoide: TSH

Hormônio Liberador de Tireotrofina: TRH

Monoiodotirosinas: MIT

Propiltiuracil: PTU

Taxa de filtração glomerular: TFG

Tireoglobulina: TG

Tiroxina ou tetraiodotironina: T4

Triiodotironina: T3

Triiodotironina reverso: T3r

3,3 diaminobenzidina: DAB

## Sumário

1. INTRODUÇÃO .....	9
<b>1.1 Tireóide</b> .....	9
1.1.1 Morfologia da tireóide .....	9
Figura 1: Esquema da glândula tireóide a esquerda .....	9
1.1.2 Hormônios tireoidianos .....	9
Figura 2: Esquema de síntese dos hormônios tireoianos .....	10
1.1.3 Hipotireoidismo .....	11
Tabela1: Efeitos dos hormônios tireoidianos no hipotireoidismo e no hipertireoidismo .....	11
<b>1.2 Rins</b> .....	12
1.2.1 Função .....	12
Figura 3: Estrutura renal .....	13
<b>1.3 Programação fetal</b> .....	13
<b>1.4 Metimazol</b> .....	14
2. JUSTIFICATIVA .....	14
3. OBJETIVOS .....	15
4. MATERIAL E MÉTODOS .....	15
<b>4.1 Animais</b> .....	15
<b>4.2 Cruzamento</b> .....	15
<b>4.3 Delineamento Experimental</b> .....	16
<b>4.4 Coleta de rins</b> .....	16
<b>4.5 Inclusão e confecção dos blocos</b> .....	16
<b>4.6 Coloração</b> .....	17
<b>4.7 Análise morfométrica</b> .....	17
<b>4.8 Imunohistoquímica</b> .....	17
<b>4.9 Estudos de função renal</b> .....	18
<b>4.10 Análise Estatística</b> .....	18
5. RESULTADOS .....	18
<b>Figura 4 – Níveis plasmáticos dos hormônios T3 e T4 maternos</b> .....	19

<b>Figura 5</b> – Variação de peso corporal materno durante a gestação.....	19
<b>Figura 6</b> – Peso corporal da prole de 1, 7, 30 e 90 dias de idade.....	20
<b>Figura 7</b> – Taxa de filtração glomerular (TFG) da prole de 90 dias de idade .....	20
<b>Figura 8</b> – Número de corpúsculos dos animais de 90 dias de idade.....	21
<b>Figura 9</b> – Área do corpúsculo renal dos animais de 1, 7, 30 e 90 dias de idade .....	21
<b>Figura 10</b> – Área do tufo glomerular dos animais de 1, 7, 30 e 90 dias de idade.....	22
<b>Figura 11</b> – Área do espaço capsular dos animais de 1, 7, 30 e 90 dias de idade.....	22
<b>Figura 12</b> – Porcentagem de área cortical em proliferação .....	23
<b>Figura 14</b> – Níveis plasmáticos de T3 e T4 na prole de 90 dias de idade. ....	24
6. DISCUSSÃO .....	24
7. CONCLUSÃO .....	27
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28
9. ANEXO .....	30

## RESUMO

Condições ideais de nutrição e fornecimento de hormônios ao feto, durante a gestação, são essenciais para o seu desenvolvimento. Assim, o desequilíbrio de tais condições pode alterar diretamente o desenvolvimento da prole e resultar em distúrbios na vida adulta. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar as consequências morfológicas renais que podem ocorrer à prole, quando as mães apresentam um quadro de hipotireoidismo durante a gestação. Para isso, após a realização dos cruzamentos, os animais foram separados em dois grupos: 1) Controle: filhotes de fêmeas de 1, 7, 30 e 90 dias de idade de mães que receberam ração e água *ad libitum* durante a gestação e amamentação, e 2) Grupo Experimental: filhotes de fêmeas de 1, 7, 30 e 90 dias de idade de mães que receberam ração e solução de metimazol (0,02% diluído na água de beber) *ad libitum* do 8º dia de gestação até o final da amamentação. Foram analisados tanto dados maternos como peso corporal e níveis plasmáticos de T3 e T4, quanto dados na prole como peso corporal, taxa de filtração glomerular (TFG), número de corpúsculos renais, porcentagem de proliferação celular cortical, análise morfométrica dos corpúsculos renais e dosagens de T3 e T4. As mães do grupo experimental apresentaram níveis plasmáticos reduzidos de T3 e T4 livres e menor ganho de peso corporal quando comparadas às do grupo controle. O peso corporal dos filhotes fêmeas de 30 e 90 dias do grupo experimental foi menor em relação aos controles, assim como em 90 dias a TFG e o número de corpúsculos renais também estavam reduzidos. A análise morfométrica evidenciou que os animais de 1 e 30 dias do grupo experimental apresentaram menores áreas do corpúsculo renal e do espaço capsular, enquanto a área do tufo glomerular estava reduzida somente nos de 30 dias, todas comparadas aos controles de mesma idade. Já a proliferação celular foi maior nos animais de 90 dias do grupo experimental em relação ao grupo controle. Pode-se concluir então, que o hipotireoidismo materno resultou em alterações morfológicas importantes como redução no tamanho dos corpúsculos renais em 7 e 30 dias, que apesar ter sido compensada pelo aumento da proliferação celular aos 90 dias, acabaram resultando em perda de função renal na prole, devido ao reduzido número de glomérulos nesta idade.

**Palavras-chave:** hipotireoidismo materno; alterações morfológicas renais; prole, ratas *Wistar*.



# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 Tireóide

### 1.1.1 Morfologia da tireóide

A glândula tireoide é de grande importância para o funcionamento do organismo e tem papel fundamental na manutenção da homeostasia e regulação do controle de energia. É altamente vascularizada e tem forma alveolar sem ductos; está localizada ântero-lateralmente à traqueia e é composta por dois lobos (Figura 1). Sua unidade funcional é o foliculo tireoidiano, sendo envolto por uma camada de células epiteliais, os tireócitos. Os tireócitos estão localizados na parte basal do epitélio, voltados para a corrente sanguínea, enquanto a parte apical encontra-se com o lúmen do foliculo. Existem também células parafoliculares que circundam o foliculo e secretam o hormônio calcitonina (BERNE E LEVY, 2009; MOLINA, 2014).

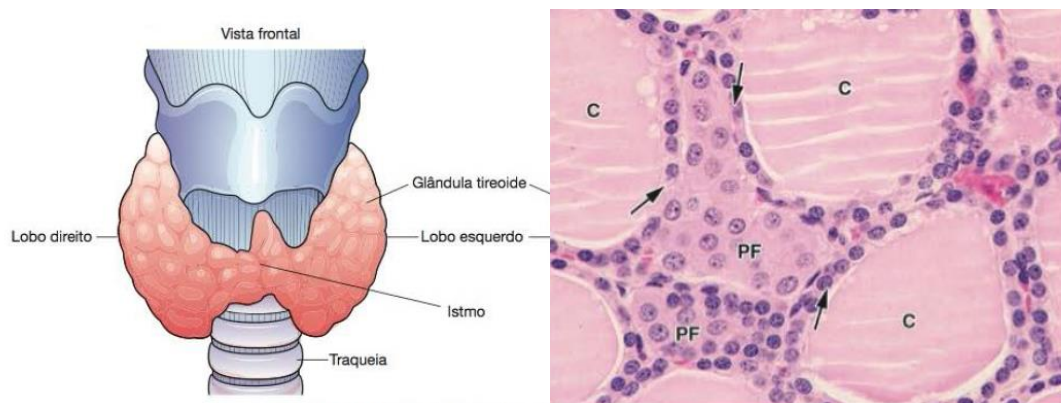


Figura 1: Esquema da glândula tireoide à esquerda e unidade funcional da glândula à direita.

Fonte: JUNQUEIRA.; CARNEIRO; 2013. cap 20, p 402-403.

### 1.1.2 Hormônios tireoidianos

Os hormônios secretados pela glândula são iodotironinas. Cerca de 90% da produção de hormônio é T4 (tiroxina), 9 % de T3 (triiodotironina, hormônio ativo da tireóide) e 1% de T3r (T3 reverso, forma inativa). A síntese e regulação desses hormônios são realizadas através da retroalimentação negativa, pelo eixo hipotalâmico-hipofisário-tireoidiano. O Hormônio Liberador de tireotrofina (TRH) é sintetizado no hipotálamo e transportado para adeno-hipófise pelo plexo capilar. Na adeno-hipófise ocorre uma reação que acarreta no aumento de  $Ca^{+2}$ , o

que estimula a saída do Hormônio Estimulante da Tireóide (TSH) para a corrente sanguínea. Na tireoide, o TSH se liga ao seu receptor, estimulando a síntese dos hormônios tireoidianos, incluindo a captação de iodo, produção e liberação de iodotironinas pela glândula e estimulação do crescimento da tireoide (MOLINA, 2014).

A tireoglobulina (TG) é uma glicoproteína produzida pelo folículo tireoidiano sob o estímulo de TSH, que preenche o lúmen. Esta glicoproteína é de grande importância para a síntese e o armazenamento dos hormônios tireoidianos. A síntese dos hormônios da tireoide ocorre no coloide e a TG precisa sofrer um processo de iodação dos resíduos de tirosina, sendo o iodeto obtido a partir da circulação. O iodeto, transportado da corrente sanguínea para o tireócito através da NIS (cotransportador de sódio e iodeto), é rapidamente transferido para o lúmen dos folículos por um transportador chamado pendrina. O iodeto é imediatamente oxidado pela tireoperoxidase (TPO) para iodo e incorporado às moléculas de tirosina. As moléculas de tirosinas iodadas não estão livres em solução, mas incorporadas por ligações peptídicas na proteína TG. O resultado proveniente da iodação da TG dá origem ao MIT (monoiodotirosinas) e DIT (diiodotirosinas) que conjugadas formam T3 (MIT + DIT) e T4 (DIT + DIT). O coloide sofre endocitose pelo tireócito, há ação de lisossomos para a digestão celular e T3, T3r T4 são liberados para a corrente sanguínea (BERNE E LEVY, 2009; MOLINA, 2014).

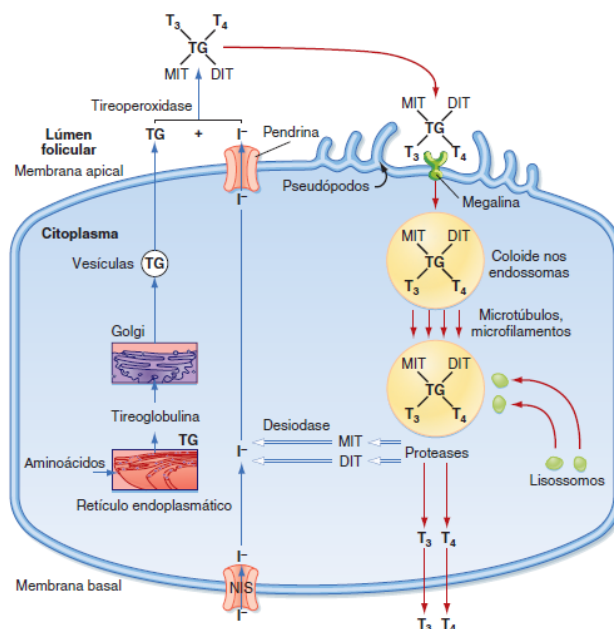


Figura 2: Esquema de síntese dos hormônios tireoidianos. BERNE E LEVY, 2009. cap 41, p 735.

### 1.1.3 Hipotireoidismo

Os efeitos dos hormônios tireoidianos, em estado de eutireoidismo, consistem principalmente, na estimulação do metabolismo, aumentando assim a produção de proteínas, carboidratos e lipídeos. Quando há algum distúrbio ou anormalidade em tais hormônios, podendo apresentar concentrações aumentadas ou diminuídas, temos o hipertireoidismo e hipotireoidismo, respectivamente. No caso das duas condições, os efeitos causados ao organismo são diferentes (MEZZOMO, 2016). Algumas dessas ações estão listadas abaixo na Tabela 1.

Tabela1: Efeitos dos hormônios tireoidianos no hipotireoidismo e no hipertireoidismo.

<b>Nível de organização</b>	<b>Hipotireoidismo</b>	<b>Hipertireoidismo</b>
Comportamento	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lentidão mental</li> <li>• Sonolência</li> <li>• Sensibilidade ao frio</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rapidez mental</li> <li>• Excitabilidade</li> <li>• Sensibilidade ao calor</li> </ul>
Organismo	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Metabolismo basal lento</li> <li>• Hipercolesterolemia</li> <li>• Mixedema</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Metabolismo basal alto</li> <li>• Hipocolesterolemia</li> <li>• Exoftalmia</li> </ul>
Sistema Cardiovascular	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bradicardia</li> <li>• Diminuição da velocidade circulatória</li> <li>• Pulso lento</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Taquicardia, palpitações</li> <li>• Aumento da velocidade circulatória</li> <li>• Pulso rápido</li> </ul>
Sistema Digestório	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hipofagia</li> <li>• Constipação</li> <li>• Diminuição da absorção de glicose</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hiperfagia</li> <li>• Diarreia</li> <li>• Aumento da absorção da glicose</li> </ul>
Músculos	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hipotonia</li> <li>• Fraqueza muscular</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fibrilação</li> <li>• Fraqueza muscular</li> </ul>
Tecidos	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Baixo consumo de O<sub>2</sub></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Alto consumo de O<sub>2</sub></li> </ul>
Enzimas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Diminuição das enzimas oxidativas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aumento das enzimas oxidativas</li> </ul>

Fonte adaptada: LOPES, H. J. J. Função Tireoidiana: principais testes laboratoriais e aplicações diagnósticas. Gold Analisa Diagnóstica Ltda. p. 9. 2002.

O hipotireoidismo se trata da diminuição ou ausência dos hormônios tireoidianos. A forma mais comum é o hipotireoidismo primário, onde há destruição da glândula tireoide ou alguma desordem no sistema hipotalâmico-hipofisário, caracterizado como hipotireoidismo central.

Uma das causas do hipotireoidismo primário é a falta de iodo na alimentação, acometendo majoritariamente os países subdesenvolvidos (MEZZOMO, 2016).

Estima-se que 2-3% das mulheres portadoras de hipotireoidismo durante a gravidez cheguem a óbito e 5-10% das mulheres férteis sejam diagnosticadas com hipotireoidismo autoimune, aumentando os riscos adversos também para prole (VAN DEN BOOGAARD et al, 2011). A glândula tireoide começa seu desenvolvimento por volta de 10-12 semanas de gestação em humanos e, apesar de produzir uma certa quantidade de hormônios tireoidianos, o feto ainda necessita de tais hormônios provenientes da fonte materna (IDRIS, 2005). Esses hormônios são permeáveis à barreira placentária, sendo responsáveis pelo amadurecimento normal dos diversos sistemas do organismo e, quando depletados, podem ocasionar má formação e funcionamento desses sistemas, principalmente do sistema nervoso (BURROW et al, 1994; SANTOS et al, 2012). Segundo Garber e colaboradores (2012) também foi notificado o aumento de incidências de abortos espontâneos, parto prematuro, pré-eclâmpsia, hipertensão materna, hemorragia pós-parto e comprometimento do desenvolvimento intelectual e psicomotor do feto.

## **1.2 Rins**

### 1.2.1 Função

Os rins são órgãos que estão localizados na parte posterior do abdome, um de cada lado da coluna vertebral. São órgãos fundamentais para o organismo e desempenham diversas funções importantes como regulação da osmolalidade e dos volumes dos líquidos corporais, balanço ácido-básico e eletrolítico, além de produção e secreção de hormônios e excreção de substâncias e produtos do metabolismo (BERNE E LEVY, 2009; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

### 1.2.2 Morfologia renal

Em um corte transversal do rim podem ser observadas duas regiões, o córtex (zona cortical) e a medula (zona medular). Ambas as camadas são compostas por vasos sanguíneos e linfáticos, nervos e a unidade funcional dos rins, chamada de nefro. A zona medular é constituída pelas pirâmides renais, cujos vértices produzem uma saliência, as papilas, e culminam nos cálices menores. Os cálices menores coletam a urina das papilas e formam os cálices maiores que por sua vez drenam para a pelve renal levando a urina para a bexiga urinária através dos ureteres (BERNE E LEVY, 2009; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013). A estrutura renal está representada na figura 1, abaixo.

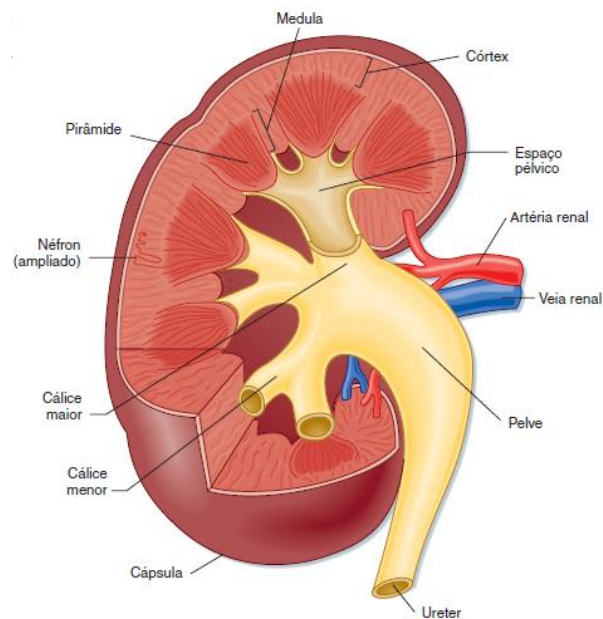


Figura 3: Estrutura renal. BERNE; LEVY. Cap. 32. p. 563. 2009.

A unidade funcional do rim é chamada de nefro. Este por sua vez é formado pelo corpúsculo renal, constituído pelos capilares glomerulares e cápsula de Bowman; túbulo contorcido proximal; alça de Henle; túbulo contorcido distal e túbulos coletores; existem cerca de 600-800 mil nefros em cada rim (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

Durante o desenvolvimento embrionário renal de mamíferos existem três estruturas que formarão o rim propriamente dito. Tais estruturas são o pronefro, mesonefro e metanefro, sendo o primeiro rudimentar e não funcional, o segundo funcional apenas por um período curto de tempo e o último dará origem aos rins maduros (LANGMAN, 2016). Uma diferença a salientar sobre o desenvolvimento dos rins entre os roedores (21 dias de gestação) e os humanos (40 semanas de gestação) é que os rins dos roedores só terminam seu desenvolvimento na vida pós-natal, enquanto que nos humanos essa finalização acontece na vida intrauterina, em torno de 34-36 semanas de gestação (MCMAHON, 2016; FANNI, 2015).

### 1.3 Programação fetal

As condições uterinas em que o feto se desenvolve são de suma importância para a regulação ideal dos sistemas na vida adulta. *Fetal programming* ou programação fetal é um conceito que se refere à observação de um estímulo adverso, experimentado durante um período crítico de desenvolvimento no útero, induzindo efeitos estruturais e funcionais em longo prazo no organismo em desenvolvimento. Em casos de dieta materna pobre em proteínas, é possível

que o corpo possua "memória" da desnutrição durante os estágios iniciais de desenvolvimento, se traduzindo em uma patologia que determina doenças futuras. Esta ideia é baseada em estudos com animais que demonstraram como a desnutrição no útero pode alterar a pressão arterial, metabolismo do colesterol, resposta da insulina à glicose e outras funções metabólicas, endócrinas e imunológicas importantes na vida adulta (FOWDEN; GIUSSANI; FORHEAD, 2006; KWON; KIM, 2017).

Kamana e colaboradores (2015) observaram que os recém-nascidos de mulheres obesas apresentaram mais que o dobro de risco de macrossomia, quando comparados aos filhos de mães com peso normal. Segundo Drake e colaboradores (2005), após uma exposição excessiva a glicocorticoides durante a gravidez, o peso ao nascer de animais e humanos encontram-se reduzidos. Além disso, há níveis de cortisol aumentados em fetos humanos que apresentaram retardo do crescimento intrauterino ou em gestações complicadas por pré-eclâmpsia.

Segundo estudos de Zandi-Nejad e colaboradores (2006) foi observado que a recuperação do crescimento por parte de filhotes que sofreram influência da hipertensão durante a gravidez, aumenta significativamente o risco de doença quando adultos, ou seja, os indivíduos que nasceram menores, mas que conseguiram se desenvolver, aumentando seu peso durante esse processo, tinham maiores riscos de mortalidade cardiovascular.

#### **1.4 Metimazol**

Existem drogas que são normalmente utilizadas para o tratamento de hipertireodismo, mas que, sob condições experimentais, podem provocar indução de hipotireoidismo. Essas drogas são PTU (propiltiuracil) e metimazol e pertencem à classe das tionamidas, seu mecanismo de ação consiste na redução da síntese de T3 e T4 pelas células foliculares. O metimazol, droga escolhida para este trabalho, age sobre a TPO inibindo a síntese de T3 e T4. O uso desta droga apresenta a grande vantagem da dose única diária, seus efeitos colaterais são dose-dependentes e apresentam hepatotoxicidade menos grave em relação ao PTU (ANDRADE, 2001).

## **2 JUSTIFICATIVA**

As repercussões do hipotireoidismo para portadores da doença são bem conhecidas. No entanto, apesar do hipotireoidismo materno poder resultar em diversas complicações para a

prole como foi abordado anteriormente, pouco se sabe sobre as suas consequências renais para os filhotes de ratas *Wistar*.

### 3 OBJETIVOS

Avaliar as repercussões morfológicas renais do hipotireoidismo materno para a prole de ratas *Wistar*.

Os objetivos específicos são:

- i. Análise da morfometria através das áreas do corpúsculo renal, tufo glomerular e espaço capsular;
- ii. Avaliação de colágeno cortical;
- iii. Análise de imunohistoquímica com PCNA para detecção de células em proliferação;
- iv. Estudo da função renal dos filhotes de 90 dias de idade;;
- v. Dosagem dos níveis plasmáticos dos hormônios tireoidianos maternos e dos filhotes de 90 dias de idade.

### 4 MATERIAL E MÉTODOS

#### 4.1 Animais

A metodologia apresentada neste trabalho foi aprovada pelo Comitê de Ética para Utilização de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) com protocolo registrado sob número CEUA/UFU 108/16 (Anexo).

Foram utilizados para acasalamento 20 ratas *Wistar* de aproximadamente 180g e 10 ratos *Wistar* de 300g, provenientes do antigo Biotério Central da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), atualmente Biotério Central da Rede de Biotérios de Roedores (REBIR-UFU). Esses animais foram alocados em caixas e separados por sexo no Biotério da Área de Ciências Fisiológicas do Instituto de Ciências Biomédicas (ICBIM).

#### 4.2 Cruzamento

No final de cada tarde, as fêmeas foram colocadas nas caixas dos machos, numa proporção de 2 a 3 fêmeas para cada macho. No dia seguinte pela manhã, as fêmeas foram recolocadas em

suas caixas originais e submetidas ao esfregaço vaginal para a constatação de uma possível gravidez, pela presença de espermatozoides.

#### **4.3 Delineamento Experimental**

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

Grupo Controle: filhotes de 1 (n=6), 7 (n=6), 30 (n= 6) e 90 (n=7) dias de mães que beberam água normalmente durante a gestação até o período de desmame, cerca de 21 dias após a gestação.

Grupo Experimental: filhotes de 1 (n=8), 7 (n=7), 30 (n= 8) e 90 (n=7) dias de mães que tiveram acesso ao metimazol, diluído na água de beber (0,02%), desde o 8º dia de gestação até o período de desmame, cerca de 21 dias após a gestação.

Aos 20 dias de gestação foram coletadas amostras de sangue através do ordenhamento da calda das ratas dos grupos propostos para dosagem de hormônios T3 e T4 para confirmação dos quadros eutireoideo das ratas de grupo Controle e hipotireoideo das ratas do grupo Experimental. A dosagem desses hormônios também foi realizada nos filhotes de 90 dias de ambos os grupos, por eletroquimioluminescência.

#### **4.4 Coleta de rins**

Após o nascimento, os filhotes fêmeas de 1, 7, 30 e 90 dias foram pesados, anestesiados com Halotano (Cristália) e tiveram seus rins retirados, fixados em metacarn por 24 horas e deixados em álcool 70% até o momento da inclusão. Os animais de 90 dias primeiramente foram expostos à coleta de sangue e urina para, posteriormente, terem seus rins retirados.

#### **4.5 Inclusão e confecção dos blocos**

Os rins foram colocados em cassetes histológicos, devidamente identificados e recolocados em álcool 70% até o dia seguinte. Passaram pelo processo de desidratação, com banhos consecutivos de álcool, cada um com duração de 30 minutos. Feito isso, os cassetes foram secos com papel toalha e submetidos à diafanização, através de três banhos de Xilol, com 30 minutos de duração cada processo. Após nova secagem dos cassetes foi realizada a impregnação em parafina, submetendo os blocos a três banhos de parafina de 30 minutos. A confecção dos blocos foi realizada através de moldes e deixados para secar de um dia para o outro.



#### 4.6 Coloração

Após a realização dos cortes histológicos, por meio de um micrótomo regulado para cortes de 5µm, foi realizada uma bateria de hidratação de forma decrescente, em banhos de Xilol e álcool, lavagem em água corrente e destilada. Para iniciar o processo de coloração, as lâminas foram mergulhadas em ácido fosfomolibidênico 0,2% por 2 minutos para receber a coloração de *Picrossirius red* por 90 minutos. Na sequência, as lâminas foram lavadas com solução salina, água corrente, água destilada e uma bateria de desidratação foi realizada. A coloração com *Picrossirius red* permite a quantificação de colágeno cortical.

#### 4.7 Análise morfométrica

As lâminas coradas com *Picrossirius red* foram fotografadas no microscópio Olympus do Laboratório de Registro de Imagens Histológicas da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) e utilizadas para a análise morfométrica, que consistiu em determinação das áreas de corpúsculos renais, tufo glomerulares e espaço capsular, utilizando-se um software (HL Image ++ 97). Foram analisados 20 glomérulos por lâmina em fotografia, obtidos nas objetivas de 40x. As áreas pretendidas eram medidas em micrômetros quadrados.

#### 4.8 Imunohistoquímica

Os cortes de tecido renal também foram submetidos à análise imunohistoquímica, sendo incubados com o anticorpo primário monoclonal:

- **anti-PCNA** (*Sigma Chemical Company*), durante 30 minutos em temperatura ambiente.

Em seguida, os cortes foram submetidos a uma nova incubação, com anticorpo secundário anti-IgG de camundongo (1:200 – monoclonal – *Vector Laboratories*) durante 30 minutos em temperatura ambiente. A reação foi detectada com o sistema avidina-biotina peroxidase (*Vector Laboratories*), sendo que a adição de 3,3 diaminobenzidina (DAB) (*Sigma Chemical Company*) juntamente com peróxido de hidrogênio permitiu o desenvolvimento de cor e a contracoloração foi feita com *metilgreen*.

As lâminas submetidas à reação para PCNA foram fotografadas e a quantificação feita pela porcentagem de área marcada com células PCNA-positivas/campo, em 20 campos no aumento de 20x, no microscópio Opticam do Laboratório de Anatomia da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) e analisadas através do programa Image J. As áreas pretendidas eram medidas em micrômetros quadrados.

#### 4.9 Estudos de função renal

Para os estudos de função renal, os filhotes de 90 dias (Controle: n=7 e Experimental: n=9) foram colocados em gaiolas metabólicas durante 24 horas para adaptação. Em seguida, permaneceram por mais 24 horas para a coleta de urina, quando também foi coletada uma amostra de sangue, através de ordenhamento de cauda. Para determinação do *clearance* de creatinina e, conseqüentemente, da Taxa de Filtração Glomerular (TFG), a dosagem de creatinina urinária e plasmática foi feita utilizando-se um método colorimétrico.

#### 4.10 Análise Estatística

A análise estatística foi realizada no software *GraphPad Prism Version 5.00 (Trial)*. Primeiramente, verificou-se se os dados apresentavam ou não distribuição normal utilizando-se o teste de *Kolmogorov-Smirnov*. Quando apresentaram distribuição normal, utilizou-se um teste paramétrico para análise dos dados, senão, foi utilizado um teste não-paramétrico. Os testes utilizados para cada parâmetro estudado foram citados em cada um dos gráficos da seção de Resultados. O nível de significância adotado foi de  $p < 0,05$ .

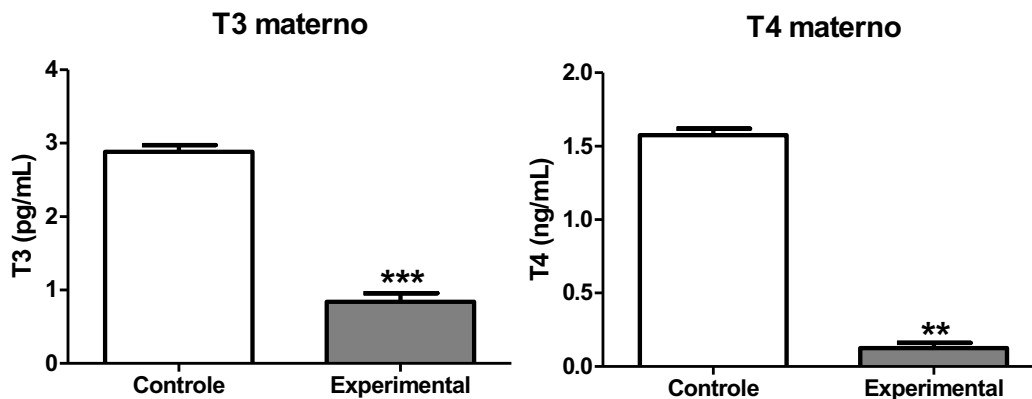
### 5. RESULTADOS

A dosagem dos hormônios tireoidianos (T3 e T4) foi maior nas mães do grupo controle quando comparada às mães experimentais (**Figura 4**), caracterizando um quadro de hipofunção tireoidiana nessas últimas, que também apresentaram menor variação de peso corporal durante a gravidez (**Figura 5**).

Com relação ao peso corporal da prole, os animais de 30 e 90 dias do grupo experimental apresentaram menor peso em relação aos controles de mesma idade (**Figura 6**). A TFG também foi menor na prole de 90 dias em comparação aos controles (**Figura 7**), o que pode ser atribuído, pelo menos em parte, ao reduzido número de corpúsculos renais (**Figura 8**) detectado nesse grupo experimental. Quanto às análises morfométricas realizadas, as áreas do corpúsculo renal e do espaço capsular (**Figuras 9 e 11**) foram menores nos animais de 1 e 30 dias do grupo experimental, enquanto a área do tufo glomerular (**Figura 10**) se apresentou reduzida somente nos de 30 dias, todas comparadas aos controles de mesma idade. A proliferação celular foi quantificada como porcentagem de área cortical em proliferação (**Figura 12**), este parâmetro foi maior nos animais de 90 dias do grupo experimental comparado ao dos controles. Apesar das alterações observadas na prole de mães hipotireoideas, aos 90 dias esses animais não apresentaram diferenças nos níveis plasmáticos de T3 e T4 (**Figura 14**) em relação aos animais

do grupo controle, sendo considerados, portanto, eutireoideos. Embora a coloração com *Picrosirius red* tenha sido realizada para determinação de colágeno cortical e as lâminas tenham sido fotografadas, não foi possível apresentar os resultados dessa quantificação.

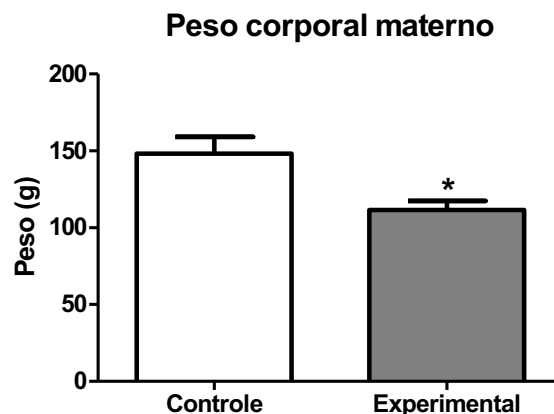
**Figura 4** – Níveis plasmáticos dos hormônios T3 e T4 maternos.



**Fonte:** Costa, VAA.

Dosagens dos níveis plasmáticos de T3 (em pg/mL) (A) e T4 (em ng/mL) (B) maternos durante a gestação dos grupos Controle (n=5) e Experimental (n=8). Teste T com correção de Welch para dosagem de T3 e Teste de Mann-Whitney para dosagem de T4. Os dados são apresentados como Média±EPM. O nível de significância adotado foi de  $p < 0,05$ . \*\*\* $p < 0,001$  versus Controle; \*\* $p < 0,01$  versus Controle.

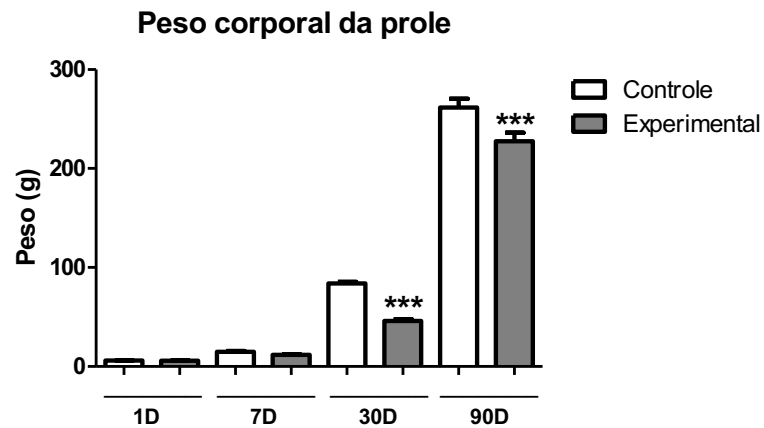
**Figura 5** – Variação de peso corporal materno durante a gestação.



**Fonte:** Costa, VAA.

Peso corporal materno ao final da gestação dos grupos Controle (n=5) e Experimental (n=5). Teste T com correção de Welch. Os dados são apresentados como Média±EPM. O nível de significância adotado foi de  $p < 0,05$ . \* $p < 0,05$  versus Controle.

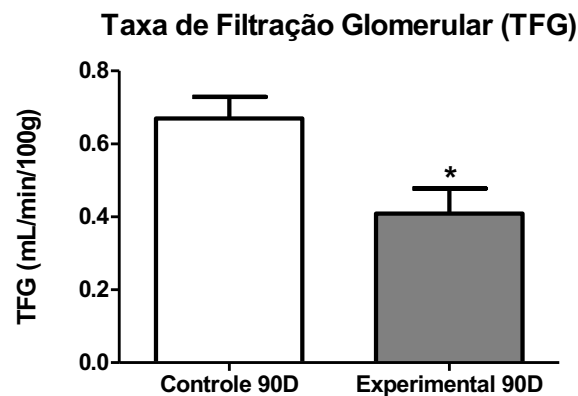
**Figura 6** – Peso corporal da prole de 1, 7, 30 e 90 dias de idade.



**Fonte:** Costa, VAA.

Peso corporal da prole em 1, 7, 30 e 90 dias de idade dos grupos Controle (1D: n=6, 7D: n=5, 30D: n=9 e 90D: n=7) e Experimental (1D: n=12, 7D: n=9, 30D: n=16 e 90D: n=9). ANOVA com pós-teste de Newmann-Keuls. Os dados são apresentados como Média±EPM. O nível de significância adotado foi de  $p < 0,05$ . \*\*\* $p < 0,001$  versus controle de 30 dias; \*\*\* $p < 0,001$  versus Controle de 90 dias.

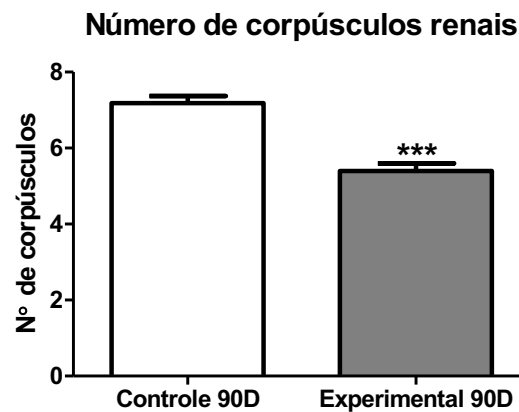
**Figura 7** – Taxa de filtração glomerular (TFG) da prole de 90 dias de idade.



**Fonte:** Costa, VAA.

Taxa de Filtração Glomerular (TFG em mL/min/100g) da prole de 90 dias de idade dos grupos Controle (n=7) e Experimental (n=9). Teste t com correção de Welch. Os dados são apresentados como Média±EPM. O nível de significância adotado foi de  $p < 0,05$ . \* $p < 0,05$  versus Controle.

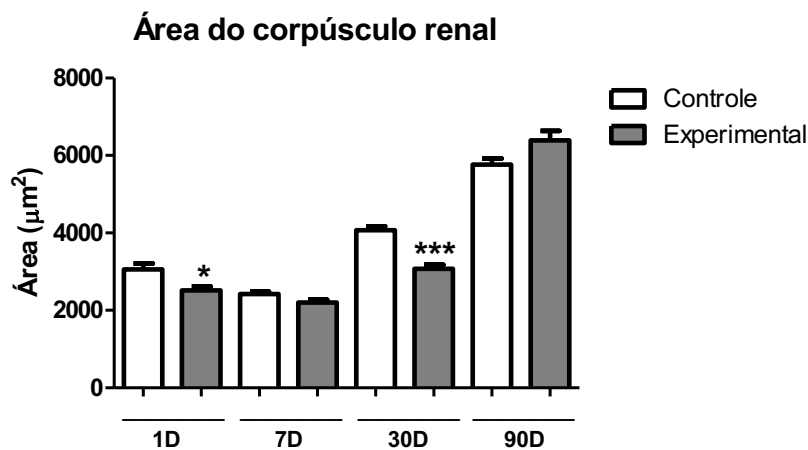
**Figura 8** – Número de corpúsculos dos animais de 90 dias de idade.



**Fonte:** Costa, VAA.

Número de corpúsculos renais da prole de 90 dias de idade dos grupos Controle (n=5) e Experimental (n=5). Teste T com correção de Welch. Os dados são apresentados como Média±EPM. O nível de significância adotado foi de  $p<0,05$ . \*\*\* $p<0,001$  versus Controle.

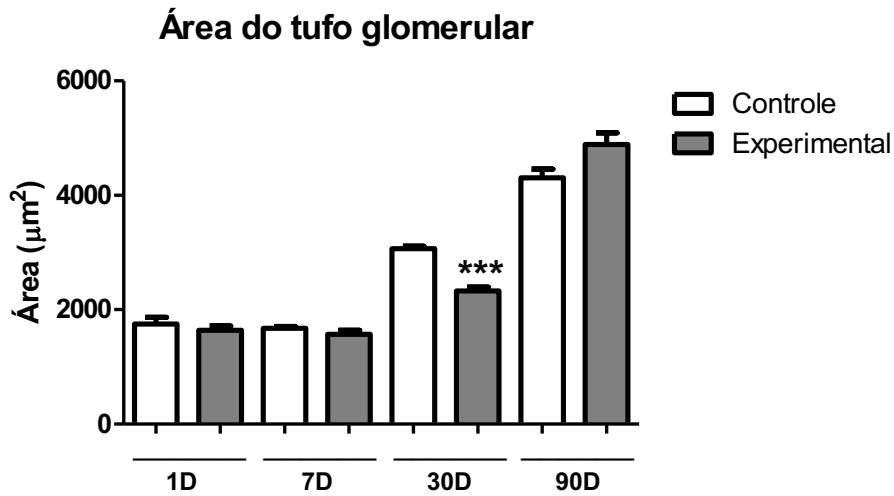
**Figura 9** – Área do corpúsculo renal dos animais de 1, 7, 30 e 90 dias de idade.



**Fonte:** A autora.

Área do corpúsculo renal da prole em 1, 7, 30 e 90 dias de idade dos grupos Controle (1D: n=6, 7D: n=6, 30D: n=6 e 90D: n=7) e Experimental (1D: n=7, 7D: n=7, 30D: n=8 e 90D: n=7). Teste de Tukey com correção de Welch. Os dados são apresentados como Média±EPM. O nível de significância adotado foi de  $p<0,05$ . \* $p<0,05$  versus Controle de 1 dia; \*\*\* $p<0,001$  versus Controle de 30 dias.

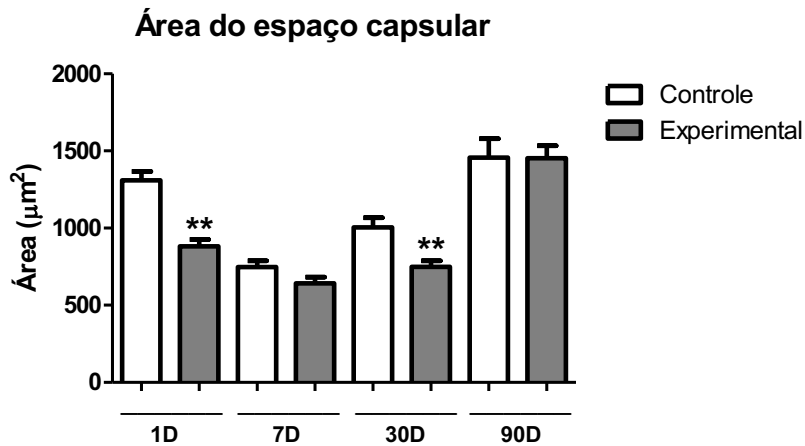
**Figura 10** – Área do tufo glomerular dos animais de 1, 7, 30 e 90 dias de idade.



**Fonte:** A autora.

Área do tufo glomerular da prole em 1, 7, 30 e 90 dias de idade dos grupos Controle (1D: n=6, 7D: n=6, 30D: n=6 e 90D: n=7) e Experimental (1D: n=7, 7D: n=7, 30D: n=8 e 90D: n=7). Teste de Tukey com correção de Welch. Os dados são apresentados como Média±EPM. O nível de significância adotado foi de  $p < 0,05$ . \*\*\* $p < 0,001$  versus Controle de 30 dias.

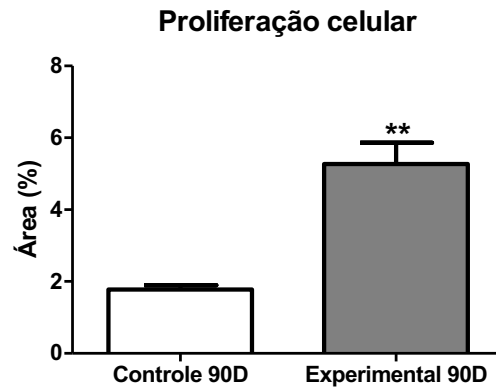
**Figura 11** – Área do espaço capsular dos animais de 1, 7, 30 e 90 dias de idade.



**Fonte:** A autora.

Área do espaço capsular da prole em 1, 7, 30 e 90 dias de idade dos grupos Controle (1D: n=6, 7D: n=6, 30D: n=6 e 90D: n=7) e Experimental (1D: n=7, 7D: n=7, 30D: n=8 e 90D: n=7). Teste de Tukey com correção de Welch. Os dados são apresentados como Média±EPM. O nível de significância adotado foi de  $p < 0,05$ . \*\* $p < 0,01$  versus Controle de 1 dia; \*\*\* $p < 0,001$  versus Controle de 30 dias.

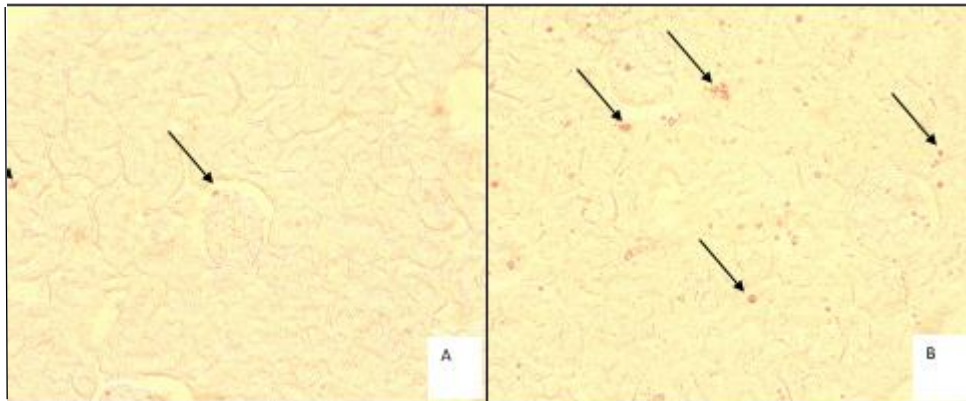
**Figura 12** – Porcentagem de área cortical em proliferação.



**Fonte:** A autora.

Porcentagem de área cortical em proliferação da prole de 90 dias de idade dos grupos Controle (n=7) e Experimental (n=7). Teste T com correção de Welch. Os dados são apresentados como Média±EPM. O nível de significância adotado foi de  $p < 0,05$ . \*\*\* $p < 0,001$  versus Controle. A- Grupo Controle e B-Grupo Experimental.

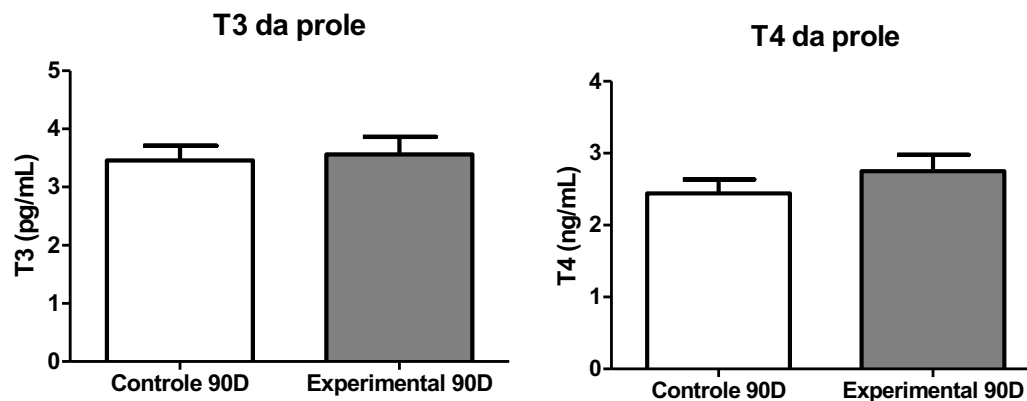
**Figura 13** – Células em proliferação



**Fonte:** A autora.

Células em proliferação no córtex renal da prole de 90 dias de idade dos Grupos Controle (n=7) (Figura 13A) e Experimental (n=7) (Figura 13B). Imagem fotografada de lâmina submetida à imunohistoquímica de PCNA, em objetiva de 20x. Nas setas são indicadas células em proliferação.

**Figura 14** – Níveis plasmáticos de T3 e T4 na prole de 90 dias de idade.



**Fonte:** Costa, VAA.

Dosagens dos níveis plasmáticos de T3 (em pg/mL) e T4 (em ng/mL) da prole de 90 dias de idade dos grupos Controle (n=5) e Experimental (n=5). Teste T com correção de Welch. Os dados são apresentados como Média±EPM. O nível de significância adotado foi de  $p < 0,05$ .

## 6. DISCUSSÃO

Esse trabalho dá continuidade aos estudos iniciados por Costa (2018), que avaliou as consequências metabólicas e funcionais renais do hipotireoidismo materno para a prole de ratas *Wistar*. Desta forma, alguns resultados encontrados pelo autor foram citados na seção *Resultados* do presente trabalho para justificar as análises realizadas e dar subsídios para a discussão.

Em humanos, o aparecimento da glândula tireoide fetal acontece entre 10<sup>a</sup> -12<sup>a</sup> semana de gestação, havendo necessidade de atuação dos hormônios tireoidianos maternos até essa fase (IDRIS, 2005). Em ratos, o desenvolvimento tireoideo tem início no 9<sup>o</sup> dia de gestação e, a partir do 18<sup>o</sup> dia até o nascimento, ocorre uma maturação da glândula pelo aumento de T3 e T4 do próprio feto. Por este motivo, optou-se por iniciar o tratamento com metimazol no 8<sup>o</sup> dia de gestação e estendê-lo até o final do período de amamentação, com o intuito de induzir um quadro de hipotireoidismo nas mães do grupo experimental, distúrbio que foi confirmado pelos reduzidos níveis plasmáticos de T3 e T4 livres maternos. O metimazol age sobre a TPO, enzima que impede a oxidação do iodeto, inibindo sua ligação com a TG e, conseqüentemente, a formação de T3 e T4 (ABUID; LARSEN, 1974; MOOKADAM et al., 2005).



Embora o hipotireoidismo resulte em fadiga, ganho de peso, bradicardia fraqueza muscular, sonolência e metabolismo basal baixo (LOPES, 2002), as mães do grupo experimental apresentaram menor ganho de peso corporal, ao longo da gestação, em comparação às do grupo controle. Muito provavelmente esse achado possa ser explicado pela diminuição do número de filhotes/ninhada, constatada ao nascimento, uma vez que não houve variação na ingestão calórica e hídrica analisadas entre os grupos controle e experimental (COSTA, 2018). Gaujac (2013) observou que a indução do hipotireoidismo, também com metimazol, apesar de resultar em pesos menores dos rins e corações maternos quando comparados aos apresentados pelas mães do grupo eutireoideo, a massa corporal materna verificada nos dias 0, 9 e 21 de gestação, bem como o número filhotes, não diferiram entre os grupos.

Já com relação aos dados da prole, o peso corporal dos filhotes 30 e 90 dias do grupo experimental foi menor que o registrado no grupo controle, nas mesmas idades. É possível que o hipotireoidismo materno tenha influenciado negativamente no desenvolvimento corporal da prole, pelo fato dos hormônios tireoidianos maternos estarem suprimidos e a tireoide fetal também ter sido afetada no período intrauterino. Esses dados estão de acordo com os encontrados por Gaujac (2013), que também encontrou peso corporal reduzido nos filhotes de 23 e 30 dias de mães hipotireoideas. Blazer e colaboradores (2003) realizaram um estudo com humanos e encontraram que a média do peso corporal de crianças nascidas de mães hipotireoideas foi menor que a registrada nas crianças de mães eutireoideas. Esta diferença no peso foi constatada apesar das mães hipotireoideas terem recebido reposição com T4.

A função renal foi determinada pelo clearance de creatinina e observou-se redução da TFG nos animais de 90 dias do grupo experimental quando comparados aos controles, o que pode ser atribuído ao reduzido número de glomérulos também constatado nesse grupo. Ben Amara e colaboradores (2011) utilizaram mesmo modelo de hipotireoidismo materno, mas com administração de metimazol e selênio do 14º dia de gestação até o 14º dia após o parto. Os autores constataram que os filhotes de 14 dias de mães hipotireoideas, sem o tratamento com o selênio, apresentaram aumento de creatinina plasmática e redução de clearance de creatinina, enquanto que os filhotes de mães hipotireoideas tratadas com selênio tiveram função renal normal, mostrando que o selênio possa ter um efeito renal protetor. De acordo com estudos de Iglesias e Diez (2009), adultos e crianças portadores de hipotireoidismo primário também podem apresentar um aumento reversível de creatinina plasmática.

Neste trabalho, o hipotireoidismo materno também influenciou no tamanho dos corpúsculos renais, de forma que as áreas do corpúsculo renal e do espaço capsular foram menores nos animais de 1 e 30 dias do grupo experimental, enquanto a área do tufo glomerular se apresentou reduzida somente nos de 30 dias, quando comparadas aos controles de mesma idade. Perez-Abud e colaboradores (2011) realizaram um estudo com seis grupos diferentes de ratos: controle, hipotireoideo e hipertireoideo, que receberam ração normossódica (0,4%); e controle, hipotireoideo e hipertireoideo, expostos à ração hipersódica (8%). O hipotireoidismo foi induzido pelo metimazol, enquanto que o hipertireoidismo pela injeção de T4. O tratamento teve duração de seis semanas e não houve diferenças entre os grupos, quando comparadas as rações. Porém, houve diferenças entre o grupo hipotireoideo e hipertireoideo, que receberam ração com maior teor de sal. O grupo hipotireoideo apresentou uma diminuição das áreas glomerulares, mesangiais e de tufo glomerular, podendo indicar um papel modulatório dos hormônios tireoidianos no tufo glomerular, quando os ratos estão sob ingestão aumentada de sal. Dados que diferem dos encontrados por Rodriguez-Gomez (2013) que, analisando ratos *Wistar* machos tratados com metimazol por 4 semanas, observou somente aumento de capilares renais, fato que foi considerado como fator protetor contra lesões renais, uma vez que houve aumento dos níveis teciduais de fatores angiogênicos nesse grupo.

Além das análises morfométricas, realizou-se um estudo imunohistoquímico para PCNA, um marcador de células em proliferação, que evidenciou um aumento na porcentagem de células proliferativas no córtex renal nos animais de 90 dias do grupo experimental, quando comparados aos controles. Em 1995, Heron e Rakusan avaliaram grupos diferentes de ratos machos *Sprague-Dawley* induzidos a distúrbios tireoidianos: controle, hipertireoideo, hipotireoideo e hipotireoideo/hipertireoideo (animais que passaram tanto pelo hipotireoidismo quanto pelo hipertireoidismo), sendo o hipotireoidismo induzido por propiltiuracil (PTU) e o hipertireoidismo, pela administração de T3. Os autores encontraram aumento da expressão de células PCNA positivas, por campo analisado, em corações dos animais que passaram tanto pelo hipotireoidismo quanto hipertireoidismo. No caso dos achados renais deste trabalho, é possível que aumentada porcentagem de proliferação celular tenha sido uma tentativa de compensar os impactos do hipotireoidismo materno no tamanho e número de corpúsculos renais da prole, processo que pode ter ocorrido ao longo do desenvolvimento renal. No entanto, este recurso não se mostrou efetivo, uma vez que houve perda de função renal.

Por último, apesar de todas as alterações encontradas na prole de mães hipotireoideas, vale salientar que aos 90 dias de idade, os filhotes fêmeas controles e experimentais

apresentavam níveis normais de T3 e T4, ou seja, essas alterações são realmente consequências do hipotireoidismo materno durante a gestação e amamentação, fato que reforça a necessidade e importância de estudos sobre programação fetal.

## **7. CONCLUSÃO**

De acordo com os resultados apresentados, o hipotireoidismo materno resultou em alterações morfológicas importantes como redução no tamanho dos corpúsculos renais em 7 e 30 dias, que apesar ter sido compensada pelo aumento da proliferação celular aos 90 dias, acabaram resultando em perda de função renal na prole, muito provavelmente devido à redução no número de glomérulos nesta idade.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABUID, J.; LARSEN, P.R. Triiodothyronine and thyroxine in hyperthyroidism comparison of the acute changes during therapy with antithyroid agents. *Journal of Clinical Investigation*, v. 54, n. 1, p. 201, 1974.
- AMARA, B. I. et al. Protective effects of selenium on methimazole nephrotoxicity in adult rats and their offspring. *Experimental and toxicologic pathology*, v. 63, n. 6, p. 553-561, 2011.
- ANDRADE, V. A.; GROSS, J. L.; MAIA, A. L. Tratamento do hipertireoidismo da doença de Graves. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, v. 45, n. 6, p. 609-618, 2001.
- BERNE; LEVY. *Fisiologia*. Cap. 32, p. 561-656. 6ª edição. Editora Elsevier Ltda. 2009.
- BLAZER, Shraga et al. Maternal hypothyroidism may affect fetal growth and neonatal thyroid function. *Obstetrics & Gynecology*, v. 102, n. 2, p. 232-241, 2003.
- BURROW, Gerard N.; FISHER, Delbert A.; LARSEN, P. Reed. Maternal and fetal thyroid function. *New England Journal of Medicine*, v. 331, n. 16, p. 1072-1078, 1994.
- COSTA, V. A. A. Consequências metabólicas e renais do hipotireoidismo materno para a prole de ratos Wistar. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso em Biomedicina. Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia.
- DRAKE, A. J.; WALKER, B. R.; SECKL, J. R. Intergenerational consequences of fetal programming by in utero exposure to glucocorticoids in rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, v. 288, n. 1, p. R34-R38, 2005.
- FANNI, D. et al. Each niche has an actor: multiple stem cell niches in the preterm kidney. *Italian journal of pediatrics*, v. 41, n. 1, p. 78, 2015.
- FOWDEN, A. L.; GIUSSANI, D. A.; FORHEAD, A. J. Intrauterine programming of physiological systems: causes and consequences. *Physiology*, v. 21, n. 1, p. 29-37, 2006.
- GAUJAC D. P. Influência do hipotireoidismo gestacional experimental no comportamento ingestivo e perfil metabólico da prole de ratas. 2013. Dissertação Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas. Universidade Federal de Sergipe. Sergipe.
- GARBER, Jeffrey R. et al. Clinical practice guidelines for hypothyroidism in adults: cosponsored by the American Association of Clinical Endocrinologists and the American Thyroid Association. *Thyroid*, v. 22, n. 12, p. 1200-1235, 2012.
- HERON, M. I.; RAKUSAN, K. I. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) detection of cellular proliferation in hypothyroid and hyperthyroid rat hearts. *Journal of molecular and cellular cardiology*, v. 27, n. 7, p. 1393-1403, 1995.
- IDRIS, I. et al. Maternal hypothyroidism in early and late gestation: effects on neonatal and obstetric outcome. *Clinical endocrinology*, v. 63, n. 5, p. 560-565, 2005.
- IGLESIAS, P.; DIEZ, J. J. Thyroid dysfunction and kidney disease. *European journal of endocrinology*, v. 160, n. 4, p. 503-515, 2009.
- JUNQUEIRA L. C.; CARNEIRO J. *Histologia Básica*. Cap. 19, p. 367-384. 12ª edição. Editora Guanabara Koogan Ltda. 2013.
- KAMANA, K. C.; SHAKYA, S.i; ZHANG, H. Gestational diabetes mellitus and macrosomia: a literature review. *Annals of Nutrition and Metabolism*, v. 66, n. Suppl. 2, p. 14-20, 2015.

KWON, E. J.; KIM, Y. J. What is fetal programming?: a lifetime health is under the control of in utero health. *Obstetrics & gynecology science*, v. 60, n. 6, p. 506-519, 2017.

LANGMAN. *Embriologia Médica*. Cap. 16, p. 376-380. 13ª edição. Editora Guanabara Koogan Ltda. 2016.

LOPES, H. J. J. *Função Tireoidiana: principais testes laboratoriais e aplicações diagnósticas*. Gold Analisa Diagnóstica Ltda. p. 9. 2002.

MCMAHON A. P. *Development of the mammalian kidney*. *Current Topics in Developmental Biology*. 2016.

MEZZOMO, T. R. Efeitos dos nutrientes e substâncias alimentares na função tireoidiana e no hipotireoidismo. *Demetra: Alimentação, nutrição e saúde*. Cap 11 (2), pag 427-443. 2016.

MOLINA, P. *Fisiologia Endócrina*. Cap. 4, p.77. 4ª edição. Editora McGraw-Hill-ARTMED. 2014.

MOOKADAM, M. et al. Anti-thyroid methimazole in an acidosis-induced retinopathy rat model of retinopathy of prematurity. *Mol Vis*, v. 2, n. 11, p. 909-915, 2005.

PEREZ-ABUD, R. et al. Salt sensitivity in experimental thyroid disorders in rats. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, v. 301, n. 2, p. E281-E287, 2011.

RODRIGUEZ-GOMEZ, Isabel et al. Influence of thyroid state on cardiac and renal capillary density and glomerular morphology in rats. *J Endocrinol*, v. 216, n. 1, p. 43-51, 2013.

SANTOS S. O.; LOUREIRO S. M. A.; ALVES L. G. N.; JESUS C. S.; SANTOS P. R.; SANTOS M. R. V.; DIAS D. P. M.; SANTANA FILHO V. J.; PASSOS JR, D. B. Experimental gestational hypothyroidism evokes hypertension in adult offspring rats. *Autonomic neuroscience*. v 170, p. 36-41. 2012.

VAN DEN BOOGAARD, E. et al. Significance of (sub) clinical thyroid dysfunction and thyroid autoimmunity before conception and in early pregnancy: a systematic review. *Human reproduction update*, v. 17, n. 5, p. 605-619, 2011.

ZANDI-NEJAD, K.; LUYCKX, V. A.; BRENNER, B. M. Adult hypertension and kidney disease: the role of fetal programming. *Hypertension*, v. 47, n. 3, p. 502-508, 2006.

## 9. 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 2T, sala 113 – CEP 38405-315  
Campus Umuarama – Uberlândia/MG – Ramal (VoIP) 3423;  
e-mail: ceua@propp.ufu.br; [www.comissoes.propp.ufu.br](http://www.comissoes.propp.ufu.br)

### ANÁLISE FINAL Nº 283/16 DA COMISSÃO DE ÉTICA NA UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS PARA O PROTOCOLO REGISTRO CEUA/UFU 108/16

Projeto Pesquisa: "Efeitos do hipotireoidismo materno para o desenvolvimento renal e ósseo pós-natais e suas repercussões na vida adulta da prole de ratos 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: O CEUA/UFU LEMBRA QUE QUALQUER MUDANÇA NO PROTOCOLO DEVE SER INFORMADA IMEDIATAMENTE AO CEUA PARA FINS DE ANÁLISE E APROVAÇÃO DA MESMA.

Uberlândia, 20 de dezembro de 2016.

Prof. Dr. César Augusto Garcia  
Coordenador da CEUA/UFU