

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

VICTOR AUGUSTO ALVES COSTA

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

UBERLÂNDIA

2018

VICTOR AUGUSTO ALVES COSTA

**CONSEQUÊNCIAS METABÓLICAS E 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: Profa. Dra. Ana Paula Coelho Balbi

UBERLÂNDIA

2018

VICTOR AUGUSTO ALVES COSTA

**CONSEQUÊNCIAS METABÓLICAS E 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: Profa. Dra. Ana Paula Coelho Balbi

Banca examinadora:

Prof. Dr(a).Ana Paula Coelho Balbi – ICBIM UFU
Orientadora

Dr(a). Taciana Carla Maia Feibelman – FAMED UFU
Banca

Prof. Dr Tarciso Tadeu Miguel – ICBIM UFU
Banca

UBERLÂNDIA

2018

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus por ter me abençoado e feito milagres em minha vida, pois em minha singela opinião ciência e fé andam de mãos dadas.

A minha família especialmente minha mãe Nádia por ser simplesmente a mulher mais guerreira, incrível, inteligente, linda e que sempre esteve ao meu lado, apoiando as minhas decisões, aos meus avós Marly e Cloves pela dedicação, carinho, amor que nos gestos mais simples demonstram o orgulho e o quanto sou especial na vida deles.

À minha orientadora, amiga, terapeuta, Profa. Ana Paula por ser uma pessoa incrível, uma profissional maravilhosa, que me aceitou em seu laboratório independente do meu histórico, que pra mim é uma referência a ser seguida, citada e copiada, por mostrar como o mundo científico é difícil mas apesar de tudo precisamos persistir em fazer o que amamos, meu muito obrigado levarei isso pro resto da vida.

À equipe do laboratório de Fisiologia e Farmacologia Fernanda Busnardo, Helena, Jéssica, Juliana Lívia, Lara, Maria Vitória, Ingrid, Natália, Rafaella, Paulla, Gustavo por toda a paciência que tiveram ao me ensinar tudo que sei sobre experimentos com animais hoje e me salvarem nos tempos difíceis ao longo dos semestres.

Aos professores do ARFIS com que tive mais contato durante minha trajetória em especial ao Prof. Luiz Bispo que me ajudou nos meus momentos difíceis e me ensinou além de farmacologia muita coisa pra vida, pra me tornar uma pessoa melhor, muito obrigado por todos seus sábios conselhos, saiba que tenho uma admiração, carinho e respeito enorme por você por ser do jeito que é.

As minhas amigas de longo tempo Camila, Elias e Andréia simplesmente por me aguentarem e não desistirem de mim e me darem sobrinhos postiços lindos.

As minhas amigas companheiras de Laboratório Ameli, Ingrid, Lara, Natália, Rafaella e Paulla, quero dizer que amo todas vocês.

A 8ª turma de biomedicina porque graças às tretas que tivemos pude crescer e evoluir como pessoa, especialmente minhas amigas Paulla, Isabella, Carol (mine-diva), Thatiana, Juliana, Rayssa que mesmo tendo um começo complicado nos aproximamos muito durante esses últimos anos.

“Don't be a drag, just be a queen”

Lady Gaga

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Hormônios Tireoidianos: HT

Triiodotironina: T3

Tiroxina ou tetraiodotironina: T4

Hormônio Estimulante da Tireóide: TSH

Hormônio Liberador de Tireotrofina: TRH

Tireoglobulina: TG

Proteína Cotransportadora de sódio-cloreto: NIS

Tireoperoxidade: TPO

Monoiodotirosina: MIT

Diiodotirosina: DIT

Triglicerídeos: TGL

Pressão Arterial Sistólica: PAS

Excreção Urinária de Proteína: EUP

Taxa de Filtração Glomerular: TFG

Propiltiuracil: PTU

Gonadotrofina Coriônica: (hCG)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. JUSTIFICATIVA	12
3. OBJETIVOS	12
3.1 Gerais	13
3.2 Específicos	13
4. MATERIAL E MÉTODOS	13
4.1 Animais	13
4.2 Delineamento Experimental	14
4.3 Coleta de rins, determinação da relação peso renal/peso corporal e contagem de glomérulos.	14
4.4 Determinação do Perfil Lipídico	15
4.5 Determinação da PAS	15
4.6 Estudos de função renal	16
4.7 Dosagem de HT	16
4.7 Análise estatística	16
5. RESULTADOS	17
5.1 Dados maternos	17
5.2 Dados da Prole	18
6. DISCUSSÃO	23
7. CONCLUSÃO	27
8. REFÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28
ANEXO	Erro! Indicador não definido.

RESUMO

Distúrbios endócrinos durante a gestação podem ser responsáveis pelo aparecimento de doenças na vida adulta da prole, por provocarem mudanças no ambiente intrauterino. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi investigar as repercussões renais e metabólicas do hipotireoidismo materno, induzido por metimazol, para a prole de ratas *Wistar*. A droga foi diluída na água de beber e oferecida às ratas do Grupo Experimental (GE), do 8º dia de gestação até o 21º dia de amamentação, enquanto que as ratas do Grupo Controle (GC) tiveram acesso à água normalmente e a ração foi disponibilizada *ad libitum* para os 2 grupos. Os filhotes de 1, 7, 30 e 90 dias de idade de cada grupo foram anestesiados e tiveram seus rins coletados, mas os de 90 dias foram primeiramente submetidos à aferição de pressão arterial e posterior coleta de sangue e urina, para determinação de parâmetros metabólicos e renais, para depois terem seus rins retirados. As dosagens de hormônios tireoidianos maternos e dos filhotes de 90 dias também foram realizadas. Como resultados têm-se que, o consumo de líquido e ração não foi diferente entre as mães dos GE e GC, mas as mães experimentais apresentaram menor ganho de peso durante a gestação, menores níveis plasmáticos de T3 e T4 e um menor número de filhotes, comparadas às controles. Os pesos corporal e renal dos filhotes de 30 e 90 dias foram menores no GE em relação ao GC. Os níveis de T3 e T4, colesterol total, a pressão arterial sistólica e a perda de proteínas urinárias não foram diferentes entre os grupos, mas o teor de triglicerídeos, a taxa de filtração glomerular e o número de glomérulos de GE foram menores, quando comparados aos controles. Portanto, pode-se concluir que o hipotireoidismo materno em ratas *Wistar*, reduziu o tamanho da ninhada, além de ter prejudicado os desenvolvimentos corporal e renal da prole, resultando em reduzida TFG na vida adulta.

Palavras chaves: Hipotireoidismo materno, metimazol, ratas *Wistar*, função renal.

1. INTRODUÇÃO

A tireóide é uma glândula alveolar, altamente vascularizada, localizada na parte anterior do pescoço, logo a frente da traquéia. Consiste em 2 lobos (direito e esquerdo) conectados pelo istmo glandular, é formada por células foliculares, envolvidas na síntese de hormônios tireoidianos (HT), células endoteliais, células parafoliculares ou C (secretoras de calcitonina), fibroblastos, linfócitos e adipócitos (MOLINA, 2014).

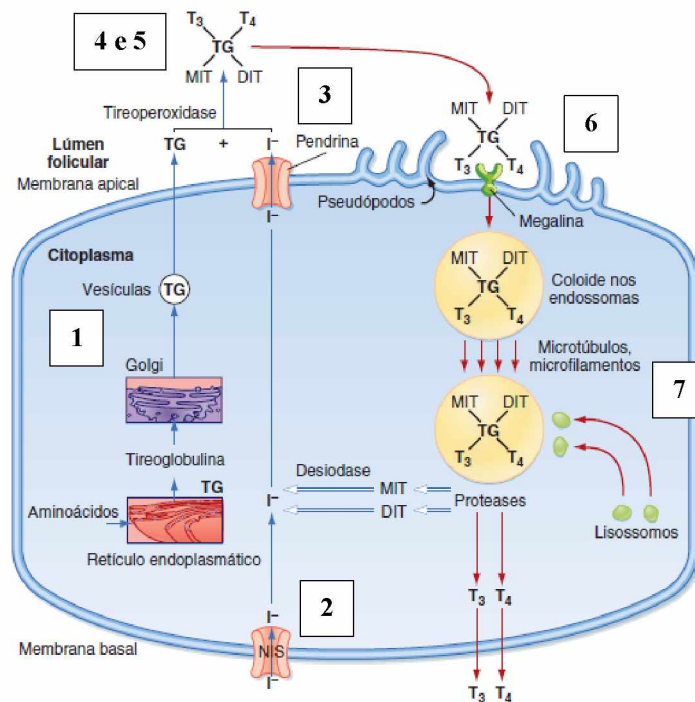
A síntese e liberação dos HT são reguladas, por retroalimentação negativa, pelo eixo hipotalâmico-hipofisário-tireoideano. O Hormônio Liberador de Tireotrofina (TRH), produzido por neurônios localizados no núcleo paraventricular hipotalâmico, atua na hipófise anterior estimulando a produção do Hormônio Estimulante da Tireoide (TSH), por células chamadas de tireótrofos. O TSH, por sua vez, alcança a glândula tireóide onde induz a produção e liberação de T3 e T4 para a circulação sistêmica (FEKETE; LECHAN, 2013). A liberação dos componentes centrais deste eixo (TRH e TSH) é diretamente regulada pelos periféricos (HT), de forma que a liberação de TRH e TSH é inibida principalmente por T3 (a partir da conversão de T4 em T3 no hipotálamo e hipófise, respectivamente). A contribuição deste T3, de origem intracelular, na inibição de TRH e TSH, por retroalimentação, negativa é maior que a de T3 derivada da circulação (MOLINA, 2014).

A tireóide libera maiores quantidades de T4 do que de T3, de modo que as concentrações plasmáticas de T4 são 40 vezes maiores que as de T3, embora T3 seja a forma biologicamente ativa do hormônio. O T4 se liga mais efetivamente às proteínas plasmáticas de ligação e, portanto, apresenta menor taxa de depuração metabólica e meia vida plasmática mais longa (7 dias) do que a de T3 (1 dia). Além disso, praticamente todas as células do organismo apresentam receptores para os HT e, nestas células, a maior parte de T4 será convertida em T3 pelas enzimas desiodinases. A síntese dos HT ocorre resumidamente de acordo com as seguintes etapas (Figura A):

- 1) síntese de tireoglobulina (TG) pelos folículos tireoidianos e seu armazenamento no lúmen folicular, onde fica o colóide;
- 2) captação de iodeto pela NIS (proteína cotransportadora de sódio-iodeto) pelos folículos tireoidianos, a partir da corrente sanguínea, e seu transporte pelo tireócito até alcançar o colóide (pela pendrina);
- 3) oxidação do iodeto feito pelas tireoperoxidasas (TPO);
- 4) iodação da tirosinas presentes nas moléculas de TG, dando origem às moniodotirosinas (MIT) e às diiodotirosinas (DIT),

- 5) conjugação das iodotirosinas, de forma que a junção de MIT+DIT resulte em T₃ e a de DIT+DIT, em T₄;
- 6) endocitose do colóide pelo tireócito;
- 7) clivagem e liberação de T₃ e T₄ para a corrente sanguínea (KOEPPEN; STANTON, 2012).

Figura A. Síntese e liberação de HT pela glândula tireóide.



Fonte: KOEPPEN; STANTON 2012 (modificada).

Os efeitos dos HT consistem principalmente em estimular a atividade das células, sendo de fundamental importância para o desenvolvimento, crescimento, metabolismo (KOEPPEN, STANTON, 2012) e funcionamento adequado de todos os sistemas como: cardiovascular, renal, sistema imune, entre outros (VANDERPUMP, TUNBRIDGE 2005).

O indivíduo cuja função da tireóide está normal se encontra no chamado estado eutireóideo. O estado clínico resultante de alteração da função tireoidiana é classificado em hipotireoidismo (baixa função) ou hipertireoidismo (função excessiva). A deficiência ou excesso na produção dos HT pode ser resultante de distúrbios em qualquer nível do eixo hipotalâmico-hipofisário-tireoideano (MOLINA, 2014). O hipotireoidismo caracteriza-se pela diminuição ou a não produção dos hormônios T₃ e T₄, seja pela deficiência de iodo, causa bastante comum, ou por inflamação crônica da tireóide causada pelo sistema imune caracterizando a doença de Hashimoto (ZALETEL; GARBERSCEK, 2011). O quadro de

hipotireoidismo que tem como origem alterações na glândula tireóide é chamado de primário, constituindo uma das causas mais comuns de doenças endócrinas, de acordo com Chakera e colaboradores (2012). Já o hipotireoidismo que afeta estruturas centrais como hipotálamo e hipófise, é chamado de central e geralmente é causado por tumores ou irradiações devido a localização dos mesmos, interferindo diretamente na produção de TSH ou TRH (GUPTA; LEE, 2011).

Os rins desempenham diversas funções no organismo, sendo sua unidade funcional denominada de nefro. Essas unidades são responsáveis pela filtração sanguínea, retenção e/ou eliminação de diversos íons, pelos processos de reabsorção e secreção tubulares, além de auxiliarem na regulação da pressão arterial, no pH dos líquidos corporais, entre outras funções, mas para que isso ocorra, o desenvolvimento deste órgão exige interações entre tecidos e eventos morfogenéticos complexos (SCHEDL, 2007).

O desenvolvimento embrionário dos rins passa por alguns estágios de formação como o pronefro, mesonefro e o metanefro. Na maioria dos mamíferos, incluindo, portanto, humanos e roedores, os pronefros e mesonefros aparecem cedo na gestação e sofrem regressão, ao passo que os metanefros se diferenciam e dão origem ao rim adulto. Os rins definitivos desenvolvem-se a partir do blastema metanéfrico e do broto ureteral, que é primórdio do ureter, da pelve renal, dos cálices e dos túbulos coletores (MOORE, 2008). No entanto, em humanos, todo o desenvolvimento renal ocorre durante o período de vida intrauterino, enquanto que em roedores, a conclusão deste processo só se completa após o nascimento (MICHOS, 2009). É importante destacar que a gravidez humana tem duração de mais ou menos 40 semanas, enquanto que a de ratos, de 21 dias.

Por toda a complexidade inerente a esse processo, se a ela forem somadas alterações no ambiente intrauterino, algumas anomalias renais e do trato urinário podem acontecer, levando a complicações futuras (COSTANTINI; KOPAN, 2010). Acredita-se que algumas doenças apresentadas na vida adulta podem ter sido programadas na vida intrauterina, devido a algum distúrbio desenvolvido e mantido durante a gestação. Um exemplo disso é o diabetes durante a gravidez (diabetes gestacional), que influencia diretamente o padrão de crescimento do feto, resultando em macrosomia (KC; SHAKYA; ZHANG, 2015), além de outras repercussões. Em modelos experimentais, o diabetes gestacional e obesidade materna são capazes de induzir restrição de crescimento intrauterino, além de alterações metabólicas na prole, que podem resultar em Diabetes tipo 2 (ZAMBRANO; NATHANIELSZ, 2013; CAPOBIANCO et al., 2015). Estudos mostram que o ambiente intrauterino hiperglicêmico não só pode resultar em perturbações renais na prole como a redução do número de nefros,

como também comprometer o sistema cardiovascular, levando à hipertensão (SIMEON, 2009). França-Silva e colaboradores (2015) verificaram que o diabetes materno do tipo 1, induzido por aloxana, foi responsável por alterações estruturais renais importantes que resultaram em redução da função renal e aumentos da pressão arterial e da perda de proteínas urinárias na prole de ratas Wistar.

2. JUSTIFICATIVA

De acordo com Garbert e colaboradores (2012), mulheres que se encontram nas fases gestacional, pós-parto ou menopausa estão mais propensas a desenvolverem alguns distúrbios endócrinos como o hipotireoidismo. O hipotireoidismo durante a gestação acomete de 2 a 3% das mulheres e pode provocar complicações maternas e uma série de efeitos deletérios para a prole como: parto prematuro, aborto, retardo no crescimento fetal e no desenvolvimento neuropsicológico (BALUCAN; MORSHED; DAVIES, 2013; DOUSDAMPANIS et al., 2014; FANNI et al., 2015; NAWROTH et al., 2004; ROVET, 2014; ZIMMERMANN, 2012; VARGAS-URICOECHEA; BONELO-PERDOMO; SIERRA-TORRES, 2014). Além disso, a criança que nasce com deficiência de HT (hipotireoidismo congênito), distúrbio também chamado de cretinismo, está exposta ao atraso no seu desenvolvimento (DE ESCOBAR; OBREGON; DEL REY, 1987). Efeitos de coordenação motora pobre, ataxias, displasia espástica, hipotonia muscular, estrabismo e distúrbios de aprendizado também são relatados (BUYUKGEBIZ, 2003).

Existem dados na literatura bastante conclusivos sobre as repercussões de distúrbios tireoidianos, durante a gestação, para a própria mãe e parte dos seus efeitos ósseos e neurológicos para a prole. Jena e colaboradores (2012) até mostraram que o hipotireoidismo, induzido por propiltiuracil (PTU) em neonatos, parece prejudicar o crescimento e desenvolvimento renal interferindo possivelmente na função renal desses animais, regulando a expressão de genes envolvidos com atividade antioxidante. No entanto, esses autores apresentaram indicativos indiretos de comprometimento funcional renal nos neonatos. Portanto, pouco se sabe sobre as repercussões renais e metabólicas do hipotireoidismo materno para a prole de diferentes idades de ratas *Wistar*.

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

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

3.2 Específicos

- a) Avaliar os consumos de líquido e de ração, bem como a variação de peso corporal durante a gestação e os níveis plasmáticos de HT das ratas *Wistar* grávidas hipotireóideas;
- b) Avaliar o número de filhotes, pesos corporal e renal da prole de diferentes idades de ratas *Wistar* hipotireóideas;
- c) Avaliar o número de glomérulos, os níveis plasmáticos de Colesterol total (CT) e triglicerídeos (TGL), Taxa de Filtração Glomerular (TFG), pressão arterial sistólica (PAS) e excreção urinária de proteínas (EUP) apresentada pela prole adulta (90 dias) de ratas *Wistar* hipotireóideas.

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 Biotério Central da Universidade Federal de Uberlândia (UFU). Esses animais foram alocados em caixas e separados por sexo no Biotério da Área de Ciências Fisiológicas do Instituto de Ciências Biomédicas (ICBIM). 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.

4.2 Delineamento Experimental

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

Grupo 1 (Controle): filhotes de 1 (n=6), 7 (n=5), 30 (n= 9) 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 2 (Experimental): filhotes de 1 (n=12), 7 (n=9), 30 (n= 16) e 90 (n=9) 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.

O quadro de hipotireoidismo experimental pode ser obtido pela tireoidectomia materna seguida por um tratamento com drogas antitiroideanas ou mantendo-se as ratas grávidas sob a ação de agentes antitireóideos, como 2mercapto-1-metimazol ou PTU, durante o período de alta concentração de receptores nucleares, que nos fetos de ratos corresponde ao último quarto da gestação, e depois do nascimento, durante a amamentação (ARGUMEDO; SANZ; OLGUIN, 2012; CATTANI et al., 2013; SALA-ROCA et al., 2002; ZAMONER; PESSOA-PUREUR, 2011). Neste trabalho, optou-se pelo modelo de hipotireoidismo materno induzido pela administração de metimazol, do 8º dia de gestação ao 21º dia de amamentação, diluído na água de beber (0,02%). Esta droga bloqueia a TPO, uma enzima que atua impedindo a oxidação central do iodeto e, desta forma, a incorporação do iodo à TG (ABUID; LARSEN, 1974), inibindo diretamente a síntese de T4 e, consequentemente a de T3 (MOOKADAM et al., 2005). Deste modo, o estado hipotireóideo das mães do grupo Experimental pode ser sugerido pelos níveis plasmáticos reduzidos de T3 e T4 livres, quando comparados aos das mães do grupo Controle, embora as dosagens de TSH não tenham sido realizadas.

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

4.3 Coleta de rins, determinação da relação peso renal/peso corporal e contagem de glomérulos.

Após o nascimento, os filhotes fêmeas de 1, 7 e 30 dias foram pesados, anestesiados com Halotano (*Cristália*) e tiveram seus rins retirados e também pesados para determinação

da relação peso renal/peso corporal. Após a pesagem, os rins foram fixados em metacarn por 24 horas e deixados em álcool 70% até o momento da inclusão. Em seguida, os rins foram processados e incluídos em parafina para estudos posteriores.

Os animais de 90 dias dos grupos propostos, primeiramente foram submetidos à aferição da PAS e posterior coleta de sangue e urina para realização das dosagens de CT, TG, TFG e EUP, para depois serem anestesiados também para coleta dos rins (como descrito acima). Os rins incluídos em parafina foram submetidos à realização de cortes de 4 µm de espessura com auxílio de um micrótomo. Em seguida, foram corados com metilgreen para contagem de glomérulos/área de secção renal.

4.4 Determinação do Perfil Lipídico

Os níveis de CT foram determinados pelo método enzimático-Trinder e avaliado nos animais de 90 dias dos 2 grupos propostos (Controle: n=7 e Experimental: n=9). Os ésteres de colesterol são hidrolisados pela enzima colesterol esterase a colesterol livre e ácidos graxos. O colesterol livre é oxidado pela enzima colesterol oxidase a colest-4-en-ona e peróxido de hidrogênio. Na presença de peroxidase e peróxido de hidrogênio, o fenol e a 4-aminoantipirina são oxidados formando a antipirilquinonimina que tem absorvidade máxima em 500nm. A intensidade da cor vermelha formada na reação final é diretamente proporcional à concentração do colesterol na amostra.

Os TGL também foram determinados por método enzimático-Trinder nos animais de 90 dias dos 2 grupos propostos (Controle: n=7 e Experimental: n=9). A lipoproteína lipase promove hidrólise dos TGL liberando glicerol, que é convertido pela ação da glicerolquinase, em glicerol-3-fosfato. Este é oxidado a dihidroxiacetona e peróxido de hidrogênio na presença de glicerolfosfato oxidase. Em seguida, ocorre uma reação de acoplamento entre peróxido de hidrogênio, 4-aminoantipirina e 4-clorofenol, catalisada pela enzima peroxidase, produzindo uma quinoneimina que tem máximo de absorbância em 505nm. A intensidade da cor vermelha formada é diretamente proporcional à concentração de TGL na amostra.

4.5 Determinação da PAS

A PAS foi avaliada de maneira indireta por pletismografia nos filhotes de 90 dias dos 2 grupos propostos (Controle: n=7 e Experimental: n=9). Antes da medida efetiva de PAS, os animais passaram por um período de habituação de 4 dias, com medida efetiva no 5º dia.

Tanto para a habituação, quanto para a medida efetiva, os animais foram previamente aquecidos em uma câmara durante alguns minutos e, em seguida, submetidos à mensuração da PAS utilizando-se um manguito e um eletrodo, colocado diretamente na cauda desses animais. Os sinais captados foram amplificados pelo software *PowerLab (ADInstruments)* e convertidos pelo *LabChart 7 Pro (ADInstruments)* em valores de PAS em mmHg.

4.6 Estudos de função renal

Para os estudos de função renal dos 2 grupos, 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 TFG, a dosagem de creatinina urinária e plasmática foi feita utilizando-se um método colorimétrico (YAN et al., 2014).

A EUP foi determinada nos filhotes de 90 dias dos 2 grupos (Controle: n=7 e Experimental: n=9) por colorimetria com o auxílio do vermelho de pirogalol (Labtest). Esta substância reage com o molibdato de sódio formando um complexo que, quando combinado com a proteína em meio ácido desenvolve um cromóforo de cor azul. A absorbância resultante obtida pela leitura das amostras em espectrofotômetro é diretamente proporcional à concentração de proteína na amostra.

4.7 Dosagem de HT

Os níveis plasmáticos de hormônios tireoidianos foram dosados em amostras de sangue coletadas das ratas grávidas no 20º dia de gestação e nos filhotes de 90 dias dos 2 grupos propostos, pela técnica de radioimunoensaio.

4.7 Análise estatística

A análise estatística 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 está citado em cada um dos gráficos da seção de Resultados. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

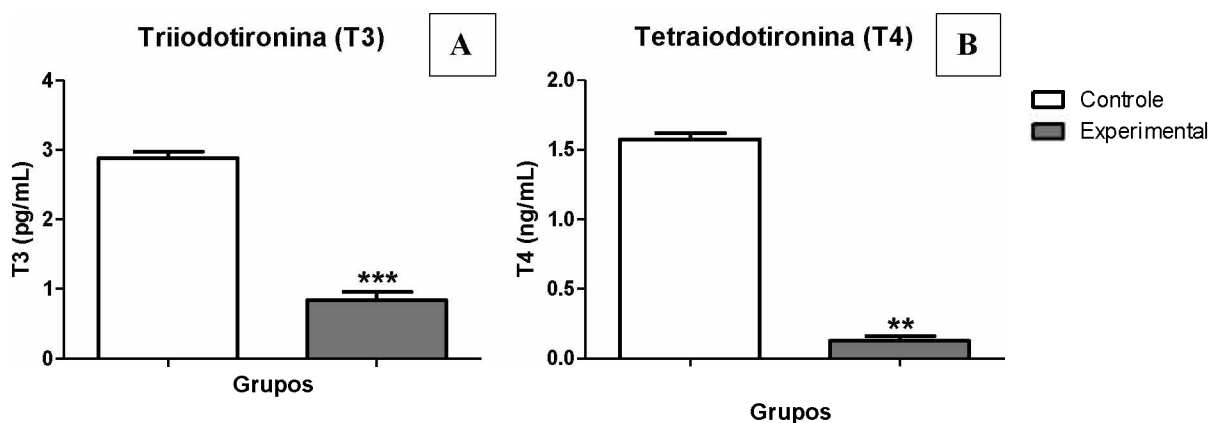
5. RESULTADOS

5.1 Dados maternos

Os níveis plasmáticos dos hormônios tireoidianos T3 (**Figura 1A**) e T4 (**Figura 1B**) maternos do grupo Experimental foram significativamente menores que os das mães do grupo Controle.

Com relação aos parâmetros consumo de líquido (**Figura 2A**) e consumo de ração (**Figura 2B**) maternos, avaliados durante a gestação, não houve diferenças entre os grupos estudados. Já a variação de peso corporal (**Figura 3**) foi menor nas mães do Grupo Experimental quando comparadas às Controles.

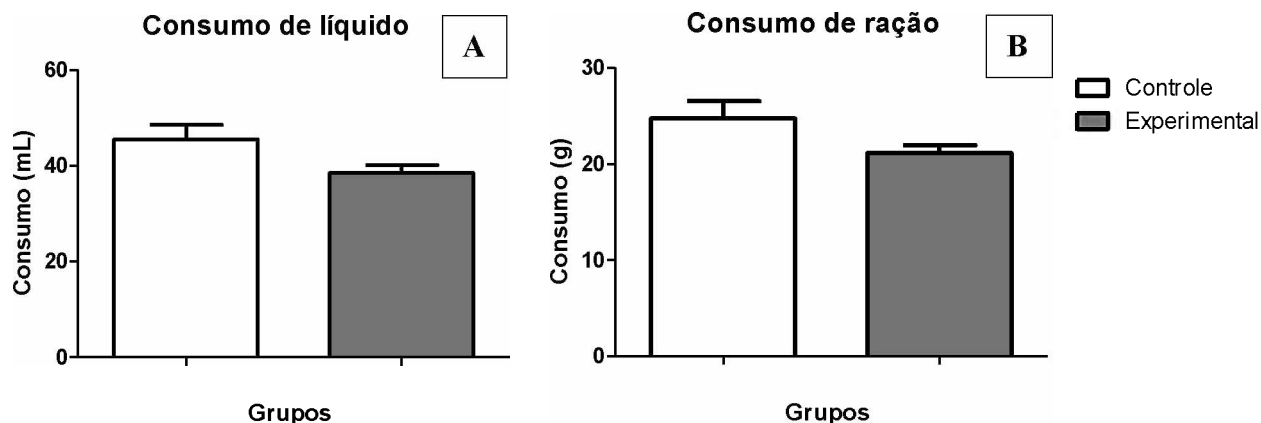
Figura 1. Gráficos das dosagens dos níveis plasmáticos de T3 e T4 maternos durante a gestação.



Fonte: O autor.

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.

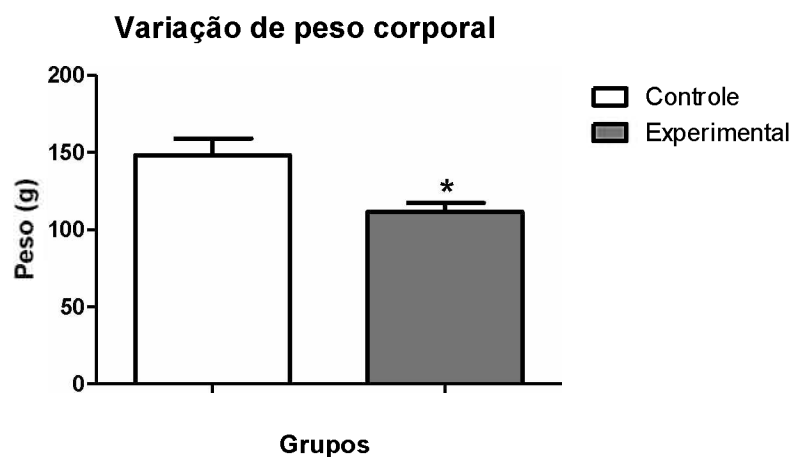
Figura 2. Gráficos dos consumos diários de líquido e de ração maternos durante a gestação.



Fonte: O autor.

Consumos diários de líquido (A) e ração maternos (B) (em mL) durante a gestação dos grupos Controle (n=5) e Experimental (n=14). Teste T com correção de Welch. Os dados são apresentados como Média±EPM. O nível de significância adotado foi de $p<0,05$.

Figura 3. Gráfico da variação de peso corporal materno durante a gestação.



Fonte: O autor.

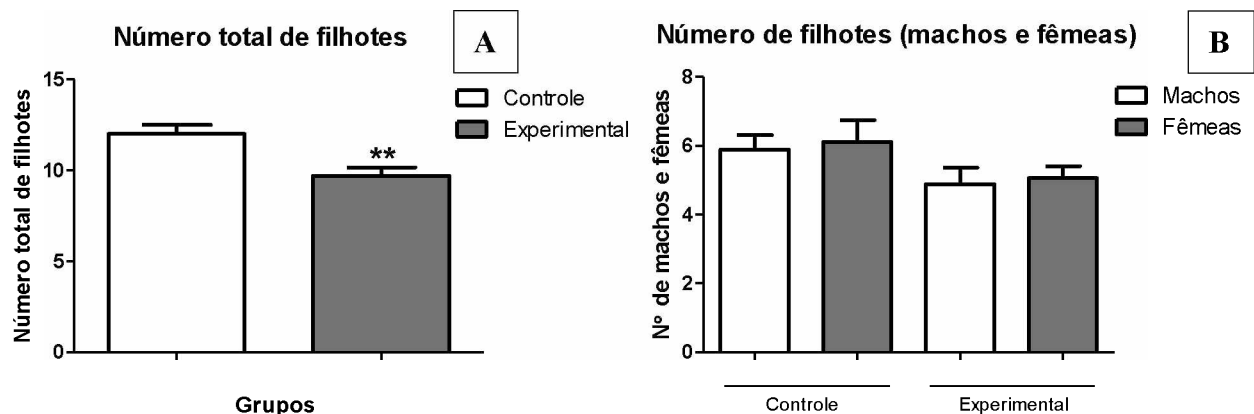
Variação de peso corporal materno (em g) durante a gestação dos grupos Controle (n=5) e Experimental (n=5). Teste de Mann-Whitney. Os dados são apresentados como Média±EPM. O nível de significância adotado foi de $p<0,05$.

5.2 Dados da Prole

O número de filhotes das mães do grupo Experimental foi significativamente menor que o das mães do grupo Controle (**Figura 4A**), embora não tenha sido registrada diferença entre o número de machos e fêmeas entre os grupos estudados (**Figura 4B**). Os animais de 30 e 90 dias de idade do grupo Experimental apresentaram menores pesos corporal (**Figura 5A**)

e renal (**Figura 5B**), além de menor número de glomérulos (**Figura 7**), quando comparados aos animais controle de mesma idade. Sendo assim, a relação peso do rim – peso corporal não foi diferente entre os grupos (**Figura 6**).

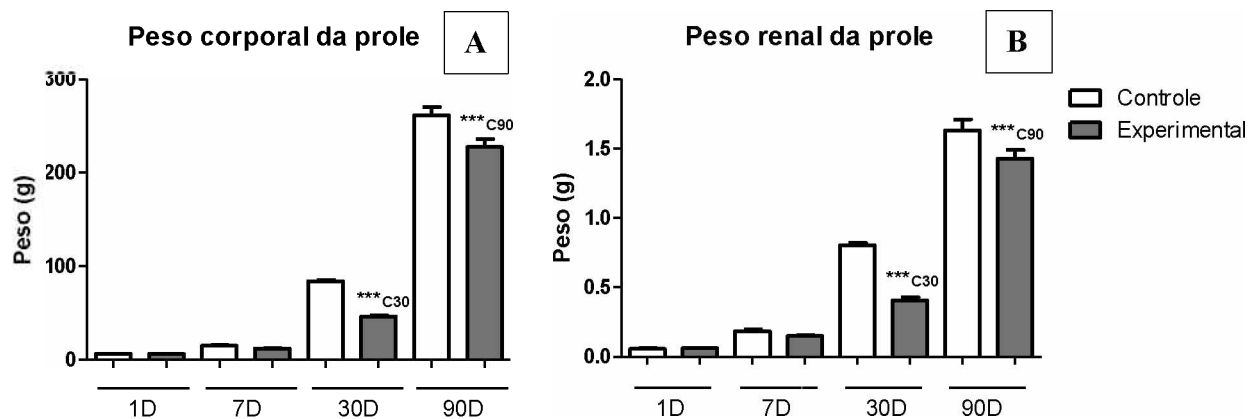
Figura 4. Gráficos do número total de filhotes e do número de filhotes machos e fêmeas ao nascimento.



Fonte: O autor.

Número total de filhotes (Controle: $n=12,00\pm0,50$ e Experimental: $n=9,71\pm0,46$) (A) e número de filhotes machos (Controle: $n=5,89\pm0,42$ e Experimental: $n=6,11\pm0,63$) e fêmeas (Controle: $n=4,88\pm0,48$ e Experimental: $n=5,06\pm0,35$) (B). Teste de Mann-Whitney para Número total de filhotes e ANOVA com pós-teste de Newmann-Keuls para número de filhotes machos e fêmeas. Os dados são apresentados como Média±EPM. O nível de significância adotado foi de $p<0,05$. ** $p<0,01$ versus Controle.

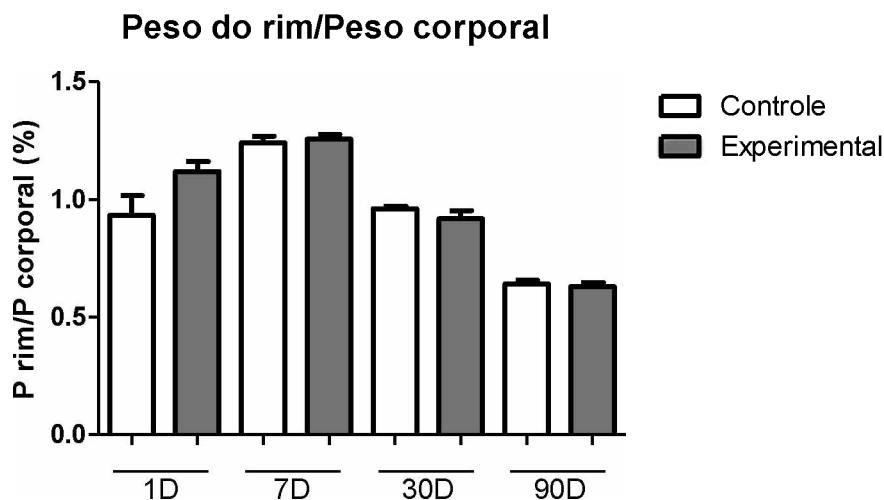
Figura 5. Gráficos dos pesos corporal e renal da prole em 1, 7, 30 e 90 dias de idade.



Fonte: O autor.

Pesos corporal (A) e renal da prole (B) (em g) 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 $p<0,05$. ***C30 $p<0,001$ versus controle de 30 dias; ***C90 $p<0,001$ versus Controle de 90 dias.

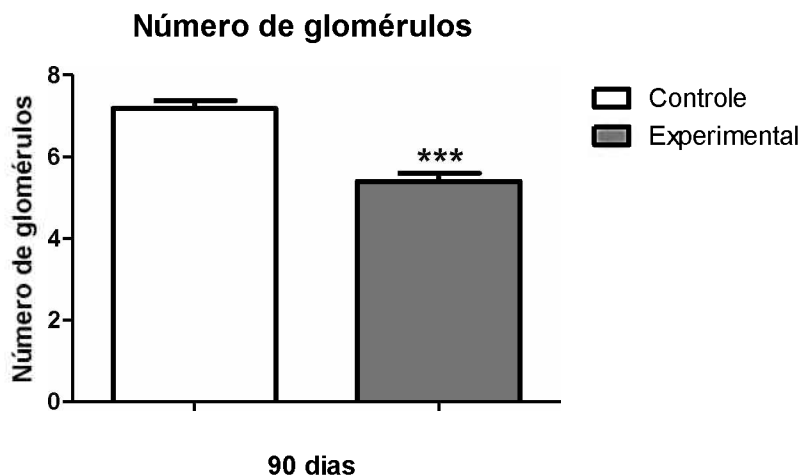
Figura 6. Gráfico da relação peso do rim - peso corporal da prole de 1, 7, 30 e 90 dias de idade.



Fonte: O autor.

Relação peso do rim - peso corporal da prole (em %) 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, teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn. Os dados são apresentados como Média±EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

Figura 7. Gráfico do número de glomérulos nos rins da prole de 90 dias de idade.

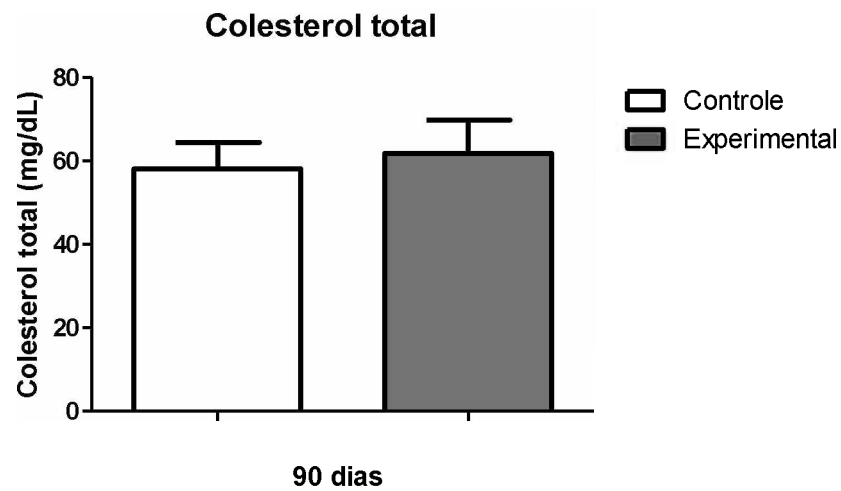


Fonte: O autor.

Número de glomérulos nos rins 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.

No que diz respeito ao perfil lipídico avaliado nos filhotes de 90 dias, não houve diferenças significativas entre os grupos para os níveis plasmáticos de CT (**Figura 8**), mas o teor de TGL (**Figura 9**) foi menor no grupo Experimental em relação ao grupo Controle.

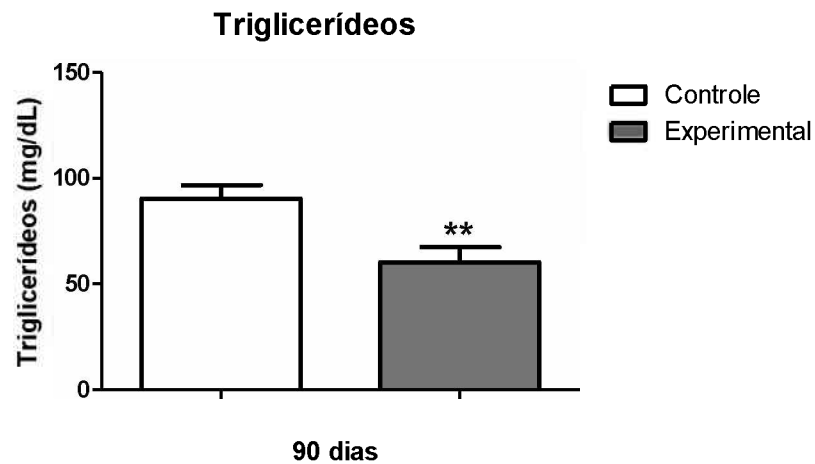
Figura 8. Gráfico dos níveis plasmáticos de CT na prole de 90 dias de idade.



Fonte: O autor.

Níveis plasmáticos de colesterol total (em mg/dL) da prole de 90 dias de idade dos grupos Controle (n=7) e Experimental (n=9). Teste de Mann-Whitney. Os dados são apresentados como Média±EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

Figura 9. Gráfico dos níveis plasmáticos de TGL na prole de 90 dias de idade.

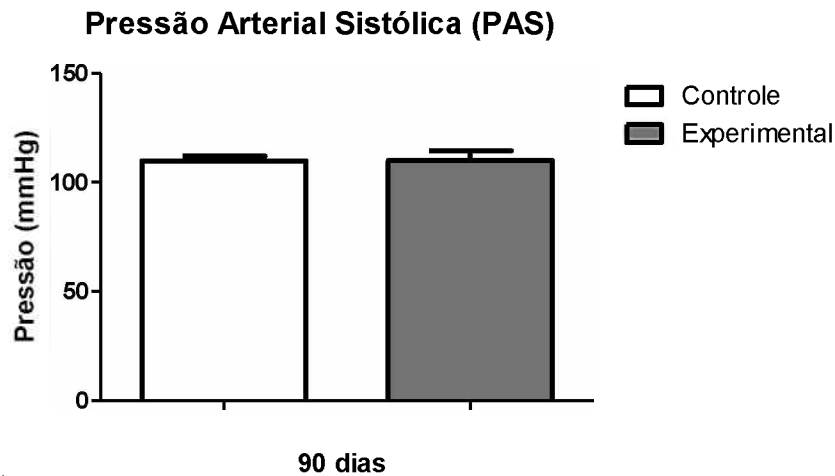


Fonte: O autor.

Níveis plasmáticos de TGL (em mg/dL) 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 $p < 0,05$. ** $p < 0,01$ versus Controle.

A PAS (**Figura 10**), bem como a EUP (**Figura 11**), foram avaliadas na prole com 90 dias de idade e não houve diferença significativa entre os grupos para os dois parâmetros estudados.

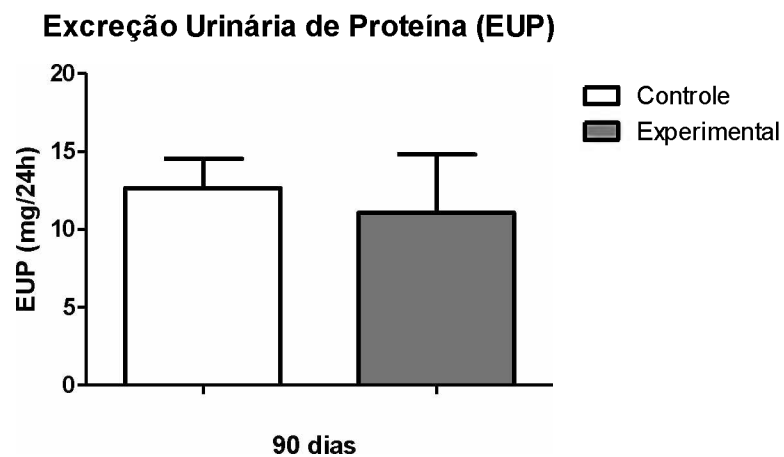
Figura 10. Gráfico da PAS da prole de 90 dias de idade.



Fonte: O autor.

Pressão Arterial Sistólica (PAS em mmHg) 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 $p < 0,05$.

Figura 11. Gráfico da EUP da prole de 90 dias de idade.

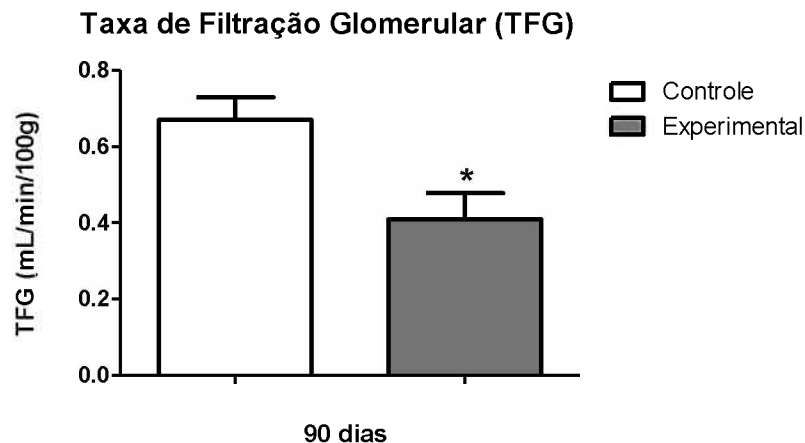


Fonte: O autor.

Excreção Urinária de Proteína (EUP em mg/24h) da prole de 90 dias de idade dos grupos Controle (n=7) e Experimental (n=9). Teste de Mann-Whitney. Os dados são apresentados como Média±EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

A TFG foi menor nos animais de 90 dias do Grupo Experimental quando comparados aos controles de mesma idade (**Figura 12**). Já a dosagem dos níveis plasmáticos de T3 e T4 mostrou que não houve diferenças entre os grupos (**Figura 13**).

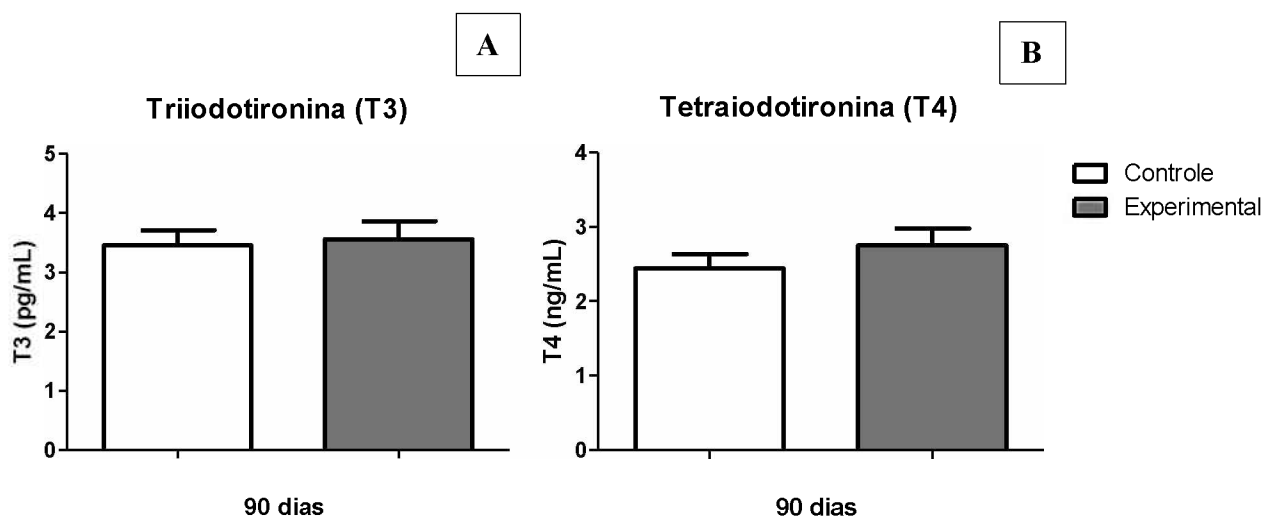
Figura 12. Gráfico da TFG da prole de 90 dias de idade.



Fonte: O autor.

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 13. Gráficos das dosagens dos níveis plasmáticos de T3 e T4 da prole de 90 dias de idade.



Fonte: O autor.

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

O aparecimento da tireóide em ratos acontece por volta do nono dia embrionário (E9), quando a glândula já concentra TG no colóide e é capaz de realizar a captação de iodeto. A detecção hormonal tireoidiana no embrião de rato acontece já em E9, com níveis diferentes de T3 e T4, sendo T3 o mais abundante e, até esse momento, a fonte hormonal do embrião é materna. 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 até atingirem 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; FISHER; KLEIN, 1981; WALKER; DUBOIS; DUSSAULT; 1980).

De acordo com as diretrizes da Associação Americana de Tireoide (do inglês *American Thyroid Association – ATA*) (2017), a gravidez está associada com aumentos na excreção renal de iodo, um aumento das proteínas transportadoras de T4, aumento na produção de HT e efeitos estimulantes da tireoide pelo hormônio hCG (gonadotrofina coriônica). Todos esses fatores influenciam nos testes de função tireoidiana em pacientes grávidas, embora uma tireoide saudável seja capaz de se adaptar a essas condições através de mudanças no metabolismo de HT, captação de iodeto e na regulação do eixo hipotálamo-hipófise-tireoide. Sendo assim, os testes de função tireoidiana de mulheres saudáveis grávidas são diferentes dos testes em mulheres saudáveis não grávidas. Além disso, dependendo da fase da gestação em humanos, as dosagens de TSH, T3 e T4 (livres e/ou total) podem variar justamente devido às adaptações pelas quais a glândula está sujeita nesta fase. No entanto, a caracterização detalhada dessas adaptações, bem como os níveis plasmáticos de TSH, T3 e T4 (livres e/ou total) de referência, ainda não foram bem estabelecidas durante a gestação de ratos *Wistar*.

Dentre os vários sintomas do hipotireoidismo tem-se a fadiga, bradicardia, ganho de peso, fraqueza muscular, hipertensão, etc. Com relação ao peso, há também indícios de dificuldade de perda de peso, apesar de uma redução na ingestão calórica (GOEL et al., 2017; PATEL, 2013; SINGH et al., 2017). No entanto, as mães do grupo Experimental apresentaram menor ganho de peso ao longo da gestação, quando comparadas as do grupo Controle, embora o consumo de ração não tenha sido diferente entre os grupos, como também foi constatado por López-luna e Morales (1985) em ratas grávidas tireoidectomizadas. Já um estudo prospectivo com 8879 mulheres mostrou uma relação entre níveis plasmáticos reduzidos de T4 livre e aumentados de TSH com maior índice de massa corporal (IMC) antes da gravidez e maior ganho de peso durante a gestação (COLLARES et al., 2017). Esta divergência de resultado pode ser explicada pelo reduzido tamanho da prole, já que as mães

do grupo Experimental tiveram um menor número de filhotes em relação às mães controle, mostrando que o hipotireoidismo materno também interfere no tamanho da ninhada. Este resultado também foi encontrado por Varma e colaboradores (1978), mas estudando hipotireoidismo materno induzido por radiotireoidectomia em ratos. Os autores atribuíram o achado a uma maior tendência a reabsorção de fetos implantados em mães hipotireóideas. Da mesma forma, Morreale e colaboradores (1985) verificaram que a tireoidectomia materna resultou em significativa redução no número e pesos individuais dos conceptos (fetos e tecidos anexos) viáveis no decorrer da gestação de ratos. Deve-se destacar também que os estudos de Collares e colaboradores (2017) foram realizados em humanos, enquanto que este trabalho, bem como os de López-luna e Morales (1985), Morreale (1985) e Varma e colaboradores (1978) em roedores, e com hipotireoidismo induzido de formas diferentes.

Como foi exposto anteriormente, o consumo de ração avaliado por 5 dias, durante a gestação, não foi diferente entre os grupos propostos. Karbalaie e colaboradores (2014) também avaliaram este parâmetro, mas no decorrer dos 21 dias de gestação, em ratas expostas ao metimazol somente durante a gravidez e não verificaram diferenças entre as ratas experimentais e controles até o 13º dia, mas do 14º dia até o parto, o consumo foi menor no grupo hipotireóideo em relação ao controle.

Além dos níveis plasmáticos de T3 e T4 livres, consumo de ração e ganho de peso maternos durante a gestação, analisou-se a adesão dos animais em relação ao consumo de metimazol diluído na água de beber e não houve diferença entre os grupos para o consumo de líquidos, ou seja, o metimazol não alterou a palatabilidade da água disponível para ingestão dos animais.

Quanto aos parâmetros avaliados na prole, os pesos corporal e renal aumentaram no decorrer do tempo, como era esperado, no entanto os animais de 30 e 90 dias do grupo Experimental apresentaram menores pesos corporal e renal quando comparados aos animais controle de mesma idade, o que não modificou a relação peso do rim-peso do corpo, mostrando que o hipotireoidismo materno prejudicou o desenvolvimento da prole como um todo. Este dado está de acordo com Özgür e colaboradores (2016) que evidenciaram em seus experimentos o mesmo déficit de crescimento e desenvolvimento da prole proveniente de mães expostas ao metimazol, desde a gravidez até o término da lactação e apenas durante a lactação. Santos e colaboradores (2012) também registraram redução de peso corporal dos filhotes de 14, 21, 30 e 60 dias de mães com hipotireoidismo, quando comparados aos controles, mas administrando metimazol às ratas grávidas somente durante a gestação (do 9º dia até o parto).

No que diz respeito ao perfil lipídico avaliado nos filhotes de 90 dias (adultos), não houve diferenças significativas entre os grupos para os níveis plasmáticos de CT, mas o teor de TGL foi menor no grupo Experimental em relação ao grupo Controle, contrariando os achados de López-Luna e Morales (1985), que encontraram níveis aumentados de lipídeos totais em filhotes de ratas tireoidectomizadas, durante a gestação. Há vários trabalhos na literatura sobre alterações no perfil lipídico de ratas grávidas hipotireóideas, mas muito poucos abordando o tema na prole dessas ratas. De qualquer forma, Hapon e colaboradores (2007), estudando as repercussões do hipotireoidismo materno induzido por PTU na composição do leite, encontraram redução drástica de TGL no leite, devido à diminuição da síntese de TGL hepática e nos níveis de TGL circulantes maternos, que, juntamente com a absorção mamária reduzida de ácidos graxos causados pela diminuição da expressão de lipase lipoproteica e, possivelmente diminuição da lipogênese mamária, resultaram em uma diminuição da produção mamária de TGL. Os autores acreditam que o crescimento prejudicado das ninhadas das mães hipotireóideas possa ser atribuído em grande parte à baixa qualidade do leite juntamente com a sua ejeção prejudicada. Nesse contexto, é possível que o hipotireoidismo gestacional induzido por metimazol possa promover alterações similares e resultar nos dados encontrados na prole no presente trabalho.

Em relação aos níveis pressóricos, a PAS avaliada de maneira indireta por pletismografia nos animais de 90 dias não foi diferente entre os grupos estudados. No entanto, Santos e colaboradores (2012) mostraram que o hipotireoidismo experimental induzido por metimazol, exclusivamente durante a gravidez, aumentou a PAS, bem como a Pressão Arterial Média e a Pressão Arterial Diastólica e reduziu a frequência cardíaca na prole de 60 dias em condições basais. Quanto aos dados de função renal dos animais adultos, não houve diferença entre os grupos estudados para a EUP. No entanto, a TFG obtida pelo clearance de creatinina foi significativamente menor na prole de mães do grupo Experimental quando comparada às mães controle. Além disso, o número de glomérulos nos animais experimentais foi menor que o registrado nos controles, o que pode ter contribuído para a redução da TFG, já que os rins também eram menores. Ben Amara e colaboradores (2011) avaliaram os efeitos protetores do selênio na nefrotoxicidade induzida por metimazol, administrado do 14º dia de gestação até o 14º dia após o parto, e constataram que os filhotes de 14 dias de mães hipotireóideas (sem suplementação com selênio) apresentaram aumento da creatinina plasmática e redução do clearance de creatinina em comparação aos controles. Além disso, o selênio foi capaz de minimizar essas alterações.

Por último, comparando-se as drogas antitireoidianas, metimazol e PTU, por peso, o metimazol é, ao menos, 10 vezes mais potente que o PTU, o qual, em testes clínicos com humanos, demonstrou índices maiores de hepatotoxicidade (NAKAMURA et al., 2007). O metimazol ainda é capaz de atravessar a barreira placentária e é transportado via leite materno, garantindo também a disponibilidade do medicamento à prole (GOODMAN; GILMAN, 2012). O fato da droga atravessar a barreira hematoplacentária poderia ter comprometido o desenvolvimento da tireóide e consequentemente resultar em redução de HT também na prole, no entanto, os filhotes de mães hipotireóideas apresentaram-se em estado eutireóideo na vida adulta.

7. CONCLUSÃO

O hipotireoidismo materno em ratas *Wistar*, induzido por metimazol durante a gestação e amamentação, reduziu o tamanho da ninhada, além de ter prejudicado os desenvolvimentos corporais e renais da prole, resultando em reduzida TFG na vida adulta.

8. REFÊNCIAS 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.

AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods in enzymology**, v. 105, p. 121-126, 1984.

AMARA, I.B. 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.

AMERICAN THYROID ASSOCIATION (ATA). 2017 Guidelines of the American Thyroid Association for the Diagnosis and Management of Thyroid Disease During Pregnancy and the Postpartum. **THYROID**. 27, Number 3, 2017.

ARGUMEDO, G.S.; SANZ, C.R.; OLGUÍN, H.J. Experimental Models of Developmental Hypothyroidism. **Horm Metab Res**; 44: 79–85, 2012.

BALUCAN, F.S.; MORSHED, S. A.; DAVIES, T.F. Thyroid autoantibodies in pregnancy: their role, regulation and clinical relevance. **Journal of thyroid research**, v. 2013, 2013

BENZIE, I.F.F. ; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. **Analytical biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70-76, 1996.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

BRUNTON, L.L. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**: Goodman & Gilman. 12^a ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2012.

BUEGE, J.A. ; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods in enzymology**, v. 52, p. 302-310, 1978.

BÜYÜKGEBİZ, A. Congenital hypothyroidism clinical aspects and late consequences. **Pediatric endocrinology reviews: PER**, v. 1, p. 185-90; 2003.

CAPOBIANCO, E. et al. Intrauterine programming of lipid metabolic alterations in the heart of the offspring of diabetic rats is prevented by maternal diets enriched in olive oil. **Molecular nutrition & food research**, v. 59, n. 10, p. 1997-2007, 2015.

CATTANI, D. et al. Congenital hypothyroidism alters the oxidative status, enzyme activities and morphological parameters in the hippocampus of developing rats. **Molecular and cellular endocrinology**, v. 375, n. 1, p. 14-26, 2013.

CHAKERA, A.J. ; PEARCE, S.H.S. e VAIDYA, B. Treatment for primary hypothyroidism: current approaches and future possibilities. **Drug design, development and therapy**, v. 6, p. 1, 2012.

COLLARES, M.F. et al. Maternal Thyroid Function, Prepregnancy Obesity and Gestational Weight Gain-The Generation R Study: a prospective cohort study. **Clinical endocrinology**, 2017.

COSTANTINI, F.; KOPAN, R. Patterning a complex organ: branching morphogenesis and nephron segmentation in kidney development. **Developmental cell**, v. 18, n. 5, p. 698-712, 2010.

DE ESCOBAR, G. M.; OBREGON, M. J.; DEL REY, F. E. Fetal and maternal thyroid hormones. **Hormones**, v. 26, n. 1-4, p. 12-27, 1987.

DOUSDAMPANIS, P. et al. The thyroid and the kidney: a complex interplay in health and disease. **The International journal of artificial organs**, v. 37, n. 1, p. 1-12, 2014.

ESCOBAR, G. M. et al. Effects of maternal hypothyroidism on the weight and thyroid hormone content of rat embryonic tissues, before and after onset of fetal thyroid function. **Endocrinology**, v. 117, n. 5, p. 1890-1900, 1985.

FEKETE, C. ; LECHAN, R. M. Central regulation of hypothalamic-pituitary-thyroid axis under physiological and pathophysiological conditions. **Endocrine reviews**, v. 35, n. 2, p. 159-194, 2013.

FISHER, D. A.; DUSSAULT, J.H.; SACK, J.; CHOPRA, I.J. "Ontogenesis of hypothalamic--pituitary--thyroid function and metabolism in man, sheep, and rat. **Recent Prog Horm Res**. 33: 59-116, 1976.

FISHER, D. A.; KLEIN, A.H. Thyroid development and disorders of thyroid function in the newborn. **N Engl J Med**. 304(12): 702-12. 1981.

FOLCH, J. et al. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **J biol Chem**, v. 226, n. 1, p. 497-509, 1957.

FRANÇA-SILVA, N.; OLIVEIRA, N. D. G.; BALBI, A. P. C. Morphofunctional renal alterations in rats induced by intrauterine hyperglycemic environment. **Arch. Med. Sci.** 12: 1-9, 2015.

GARBER, J. 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.

GOEL, A. et al. Frequent Occurrence of Faulty Practices, Misconceptions and Lack of Knowledge among Hypothyroid Patients. **Journal of clinical and diagnostic research: JCDR**, v. 11, n. 7, p. OC15, 2017.

GUPTA, V. e LEE, M. Central hypothyroidism. **Indian journal of endocrinology and metabolism**, v. 15, n. Suppl2, p. S99, 2011.

HAPON, M. B. et al. Reduction of mammary and liver lipogenesis and alteration of milk composition during lactation in rats by hypothyroidism. **Thyroid**, v. 17, n. 1, p. 11-18, 2007.

JENA, S.; CHAINYB, G.B.N.; DANDAPAT, J. Hypothyroidism modulates renal antioxidant gene expression during postnatal development and maturation in rat. **Gen Comp Endocrinol** 178: 8–18, 2012.

KARBALAEI, N. et al. The possible mechanisms by which maternal hypothyroidism impairs insulin secretion in adult male offspring in rats. **Experimental physiology**, v. 99, n. 4, p. 701-714, 2014.

KC, K.; SHAKYA, S.; ZHANG, H. Gestational diabetes mellitus and macrosomia: a literature review. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 66, n. Supl. 2, p. 14-20, 2015.

KLEIN, R. Z. et al Relation of severity of maternal hypothyroidism to cognitive development of Offspring. **J Med Screen** 8(1): 18-20, 2001.

KLIEM, V. et al. Mechanisms involved in the pathogenesis of tubulointerstitial fibrosis in 5/6-nephrectomized rats. **Kidney international**, v. 49, n. 3, p. 666-678, 1996.

KOEPPEN, B. M. e STANTON, B. A. **Berne y Levy. Fisiología**. Elsevier Health Sciences, 2012.

LÓPEZ-LUNA, P; MORALES, S. Effect of the hypothyroidism on the levels of different metabolites in pregnant rats. **Rev Esp Fisiol**. Sep;41(3):311-6, 1985.

MICHOS, O. Kidney development: from ureteric bud formation to branching morphogenesis. **Current opinion in genetics & development**, v. 19, n. 5, p. 484-490, 2009.

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.

MOORE, K. L.; PERSUAD, T. V. N. **Embriologia clínica**. 8 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 536 p, 2008.

MORREALE E.G et al. Effects of maternal hypothyroidism on the weight and thyroid hormone content of rat embryonic tissues, before and after onset of fetal thyroid function. **Endocrinology**, v. 117, n. 5, p. 1890-1900, 1985.

NAKAMURA, H. et al. Comparison of methimazole and propylthiouracil in patients with hyperthyroidism caused by Graves' disease. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 92, n. 6, p. 2157-2162, 2007.

NAWROTH, P. P. et al. Thyroid hormones and the function of the vascular endothelium. **Zeitschrift fur arztliche Fortbildung und Qualitätssicherung**, v. 98, p. 33-35, 2004.

ÖZGÜR, E. et al. The Effect of Congenital and Postnatal Hypothyroidism on Depression-Like Behaviors in Juvenile Rats. **Journal of clinical research in pediatric endocrinology**, v. 8, n. 4, p. 439, 2016.

PÄKKILÄ, F. et al. Maternal and child's thyroid function and child's intellect and scholastic performance. **Thyroid**, v. 25, n. 12, p. 1363-1374, 2015.

PATEL M. et al. Evaluation of acute physiological and molecular alterations in surgically developed hypothyroid Wistar rats. **Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics**, v. 4, p. 110-115, 2013.

RIVERA, S. M.; GOODMAN GILMAN, A. A invenção de fármacos e a indústria farmacêutica. **Brunton LL, Chabner BA, Knollmann BC. As bases farmacológicas da terapêutica de Goldman & Gilman. 12ª ed. São Paulo: AMGH, p. 3-16, 2012.**

ROVET, J. F. The role of thyroid hormones for brain development and cognitive function. **Endocr Dev**, v. 26, p. 26-43, 2014

SALA-ROCA, J. et al. Effects of dysthyroidism in plus maze and social interaction tests. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 72, n. 3, p. 643-650, 2002.

SANTOS, S. O. et al. Experimental gestational hypothyroidism evokes hypertension in adult offspring rats. **Autonomic Neuroscience**, v. 170, n. 1, p. 36-41, 2012.

SCHEDL, A. Renal abnormalities and their developmental origin. **Nature Reviews Genetics**, v. 8, n. 10, p. 791-802, 2007.

SIMEONI, U.; BARKER, D. J. Offspring of diabetic pregnancy: long-term outcomes. **Seminars in Fetal and Neonatal Medicine**, v. 14, n. 2, p. 119-124, 2009

SINGH, R. et al. Optimal levothyroxine replacement adequately improves symptoms of hypothyroidism; Residual symptoms need further evaluation for other than hypothyroidism causation. **Indian journal of endocrinology and metabolism**, v. 21, n. 6, p. 830, 2017.

VANDERPUMP, M. P. J; TUNBRIDGE, W. M. G. **The epidemiology of thyroid diseases.** Werner and Ingbar's the thyroid: a fundamental and clinical text, p. 398-406, 2005.

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, 2014.

VARMA, SK; MURRAY, R; STANBURY, JB. Effect of maternal hypothyroidism and triiodothyronine on the fetus and newborn in rats. *Endocrinology*. Jan;102(1):24-30, 1978.

WALKER, P.; DUBOIS, J.D.; DUSSAULT, J.H. Free thyroid hormone concentrations during postnatal development in the rat. *Pediatr Res*. 14:247-249, 1980.

WARD, LS; MACIEL, LMZ. Consensos em Tireóide. **Arch Bras End Metab**, Volume 57, Número 3, 2013.

YAN, J. et al. Long-term effects of maternal diabetes on blood pressure and renal function in rat male offspring. **PloS one**, v. 9, n. 2, p. e88269, 2014.

ZALETEL, K.; GABERSCEK, S. Hashimoto's thyroiditis: from genes to the disease. **Current genomics**, v. 12, n. 8, p. 576-588, 2011.

ZAMBRANO, E.; NATHANIELSZ, P. W. Mechanisms by which maternal obesity programs offspring for obesity: evidence from animal studies. **Nutrition reviews**, v. 71, n. suppl 1, p. S42-S54, 2013.

ZAMONER, A.; PESSOA-PUREUR, R.; SILVA, F.R.M.B. Membrane initiated actions of thyroid hormones on the male reproductive system. **Life Sci.** v.89, p.507–514, 2011.

ZIMMERMANN, M. B. The effects of iodine deficiency in pregnancy and infancy. **Paediatric and perinatal epidemiology**, v. 26, n. s1, p. 108-117, 2012.

ANEXO



Universidade Federal de Uberlândia
– Comissão de Ética na Utilização de Animais –



CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado “Efeitos do hipotireoidismo materno para o desenvolvimento renal e ósseo pós-natais e suas repercussões na vida adulta da prole de ratos Wistar”, protocolo nº 108 /16, sob a responsabilidade de **Ana Paula Coelho Balbi** – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata, para fins de pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela COMISSÃO DE ÉTICA NA UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS (CEUA) da UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA, em reunião de **16 de dezembro de 2016**.

(We certify that the project entitled " Efeitos do hipotireoidismo materno para o desenvolvimento renal e ósseo pós-natais e suas repercussões na vida adulta da prole de ratos Wistar", protocol 108/16, under the responsibility of Ana Paula Coelho Balbi - involving the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata, for purposes of scientific research - is in accordance with the provisions of Law nº 11.794, of October 8th, 2008, of Decree nº 6.899 of July 15th, 2009, and the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA) and it was approved for ETHICS COMMISSION ON ANIMAL USE (CEUA) from FEDERAL UNIVERSITY OF UBERLÂNDIA, in meeting of December 16th, 2016).

Vigência do Projeto	Início: 01/02/2017. Término: 22/12/2017.
Espécie / Linhagem / Grupos Taxonômicos	Ratos Wistar
Número de animais	152
Peso / Idade	Adultos e filhotes /200g a 350g
Sexo	Machos e Fêmeas
Origem / Local	Biotério
Número da Autorização SISBIO	-
Atividade(s)	-

Uberlândia, 20 de dezembro de 2016.

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