



UNIVERSIDADE
FEDERAL DE
SERGIPE



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE MEDICINA

AMANDA GONTIJO MOREIRA

**TERMONOCICEPÇÃO NA PROLE DE RATAS
HIPOTIREOIDIANAS: COMPROMETIMENTO DE
COMPONENTES NEUROQUÍMICOS**

ARACAJU-SE

2019

AMANDA GONTIJO MOREIRA



**TERMONOCICEPÇÃO NA PROLE DE RATAS
HIPOTIREOIDIANAS: COMPROMETIMENTO DE
COMPONENTES NEUROQUÍMICOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Federal de Sergipe como requisito
parcial à obtenção do título de Bacharel em
Medicina, sob orientação do Prof. Dr. Daniel
Badauê Passos Junior

ORIENTADOR: PROF. DR. DANIEL BADAUÊ PASSOS JUNIOR
CO-ORIENTADORA: PROF^ª DRA IURA GONZALEZ NOGUEIRA ALVES

ARACAJU-SE

2019

AMANDA GONTIJO MOREIRA

**TERMONOCICEPÇÃO NA PROLE DE RATAS
HIPOTIREOIDIANAS: COMPROMETIMENTO DE COMPONENTES
NEUROQUÍMICOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Federal de Sergipe como requisito
parcial à obtenção do título de Bacharel em
Medicina, sob orientação do Prof. Dr. Daniel
Badauê Passos Junior

Autora: Amanda Gontijo Moreira

Orientador: Prof. Dr. Daniel Badauê Passos Junior

Co-Orientadora: Prof. Dr.^a Iura Gonzalez Nogueira Alves

AMANDA GONTIJO MOREIRA

**TERMONOCICEPÇÃO NA PROLE DE RATAS
HIPOTIREOIDIANAS: COMPROMETIMENTO DE COMPONENTES
NEUROQUÍMICOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Federal de Sergipe como requisito
parcial à obtenção do título de Bacharel em
Medicina, sob orientação do Prof. Dr. Daniel
Badauê Passos Junior

Aprovada em: ____ de _____ de 2019

BANCA EXAMINADORA

Universidade Federal de Sergipe

Universidade Federal de Sergipe

Universidade Federal de Sergipe

“Prepara-se o cavalo para o dia da batalha, mas é do Senhor que depende a vitória.”

Provérbios 21:31

AGRADECIMENTOS

À Deus toda minha gratidão. A razão e a origem de todos os meus sonhos. O carpinteiro que me construiu e me moldou a cada etapa para que eu tivesse coragem e força para chegar até aqui. O meu Pai zeloso que cuidou de cada detalhe, que me guiou pelos melhores caminhos, e me deu força para passar pelos piores deles; que colocou anjos na minha vida, pessoas incríveis que impulsionaram meus sonhos e tornaram a caminhada mais leve.

Agradeço aos meus pais, Manoel da Silva Moreira e Sirleia Godim Gontijo, por acreditarem mais em mim do que eu mesma, por me apoiarem em cada decisão e tornarem esse momento possível mesmo quando tudo parecia impossível. Vocês são força, vocês são a minha força. Toda gratidão em forma de palavras é pouco para agradecer toda dedicação e amor de vocês.

À minha irmã que desde pequena teve que compreender a ausência dos nossos pais nas viagens em busca desse sonho. Que me apoiou, que foi leveza e sorriso quando tudo parecia tão difícil. Você, sem dúvidas, é um dos meus anjos.

A toda minha família que não mediu esforços emocionais e financeiros para construção dessa jornada. Que abriram mão de suas necessidades para me ajudarem nas minhas. Sem vocês não seria possível. Meu avô João Gontijo (in memoriam), sei de cada lágrima que o senhor teria derramado de felicidade em cada vitória que tivemos.

Ao Marcos Filho, meu amparo emocional, minha pedra sólida quando tudo parecia ventania. Meu carinho, meu apoio. Se eu nunca esqueci a minha força e a minha coragem, você tem grande parte nisso, porque nunca me permitiu ser menos do que eu realmente posso ser, você nunca me permitiu parar por saber onde eu posso chegar. Minha gratidão em forma de amor.

Aos meus amigos, meus anjos, minha alegria, meu sorriso nas horas mais difíceis e nas mais inapropriadas. Vocês me acolheram, me fizeram família. Eu amo cada um de vocês.

Ao meu Orientador, Daniel Badauê, à minha co-orientadora, Iura Gonzalez, e toda a equipe do LANBAC pela oportunidade e confiança para participar de um projeto tão grandioso. Vocês cultivaram a minha responsabilidade e me fizeram pensar grande e confiante. Tudo que eu aprendi do universo científico foi graças a vocês. Hoje eu vejo cada descoberta com um olhar muito mais cuidadoso e valioso.

Gratidão. Essa é a maior palavra de hoje. E de sempre.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

ARTIGO ORIGINAL

FIGURA 1.....	44
FIGURA 2.....	45
FIGURA 3.....	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACC	Córtex cingulado anterior
Ach	acetilcolina
AchE	acetilcolinesterase
AMPA	ácido-a-amino-2,3,-dihidro-5-metil-3-oxo-4- isoxazolepropiónico
AMPT	A-metil-p-tirosina, Inibidor da Tirosina Hidroxilase
CEPA	Comitê de Ética em Pesquisa com Animais
CLC-5	Canal de Cloreto tipo 5
D1, D2, D3	Desiodases tipo 1, 2 e 3
DEHAL	Dehalogenase Tirosina
DG	Dia de Gestação
DIT	Diiodotirosina
DUOX 1 e 2	Dual-oxidase 1 e 2
FCE	Fluido Cerebroespinhal
GABA	ácido gama-aminobutírico
Hcg	gonadotrofina coriônica
HGE	Hipotireoidismo Gestacional Experimental
HTs	Hormônios Tiroideanos
IASP	Associação Internacional para o Estudo da Dor
LANBAC	Laboratório de Neuroendocrinologia Básica e Comportamental
LAT	Transportadores de Aminoácidos tipo L
LAT1	Transportadores de Aminoácidos tipo L subtipo 1
LC	Locus Caeruleus
LCR	Líquido Cefalorraquidiano
MCT	Transportador de Monocarboxilato
MCT10	Monocarboxylate Transporter 10
MCT8	Monocarboxylate Transporter 8
MIT	Monoiodotirosina

MTZ	Metimazol
Na ⁺	Íon sódio
NIS	Simportador Sódio-Iodo
NO	Óxido nítrico
NR	Núcleo Receptores
OATP	Organic Anion Transporting Polypeptide
OATP1C1	Organic Anion Transporting Polypeptide 1C1
PAG	Substância Cinzenta Periaqueductal
PAGvl	Substância Cinzenta Periaqueductal ventrolateral
PBS	Solução Tampão Fosfato-Salino
PME	Prole de Mães Eutireoideas
PMH	Prole de Mães Hipotireoideas
PTU	Propiltiouracil
ROS	Oxigen-Reactive Species
rT3	T3 reverso ou 3,3',5'-triodotironina
RVM	Rostral Ventromedial Medulla
SLC	Proteínas Transportadoras de Solutos
SLC5A	Família transportadora de soluto 5 ^a
SNC	Sistema Nervoso Central
SS	Somatostatina
SUS	Sistema Único de Saúde
T2	3,5-diiodo-L-thyronine
T3	Triiodotironina ou 3,5,3'- triiodotironina
T4	Tiroxina ou 3,5,3',5'- tetraiodotironina
TBG	Tyroxine-Binding Globulin
TG	Tireoglobulina
TH	Tirosina Hidroxilase
THRa (NR1A1)	Gene codificador do Receptor α de Hormônios Tiroideanos
THR β (NR1B1)	Gene codificador do Receptor β de Hormônios Tiroideanos
TPO	Tireoperoxidase
TRH	Hormônio Liberador de Tireotrofina
TRa	Receptor alfa de Hormônio Tiroideano

TRa1, TRa2 e TRa3

TRβ1, TRβ2, TRβ3 e TRβ4

TSH

UFS

5'D1 e 5'D2

5-HT

Isoformas do Receptor α de Hormônios Tireoideanos

Isoformas do Receptor β de Hormônios Tireoideanos

Hormônio Tireoestimulante

Universidade Federal de Sergipe

Desiodase tipo 1 e 2

5-Hidroxitriptamina ou serotonina

SUMÁRIO

1.	REVISÃO DE LITERATURA	7
1.1	OS HORMÔNIOS TIREOIDEANOS.....	7
1.1.1	A GLÂNDULA TIREOIDE.....	7
1.1.2	SISTEMA HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-TIREÓIDE.....	8
1.1.3	A PRODUÇÃO TIREOIDIANA DE T3 E T4.....	8
1.1.4	A CONVERSÃO PERIFÉRICA	10
1.1.5	TRANSPORTADORES DE MEMBRANA	10
1.1.6	RECEPTORES INTRA-CELULARES DE HTS.....	11
1.2	DESENVOLVIMENTO DA TIREOIDE.....	12
1.2.1	HUMANOS	12
1.2.2.	RATOS	13
1.3	INDUÇÃO DO HIPOTIREOIDISMO	13
1.4	TIREOIDE E GESTAÇÃO	14
1.5	HIPOTIREOIDISMO GESTACIONAL E REPERCUSSÕES NA PROLE	15
1.6	CIRCUITARIA DE DOR.....	16
1.6.1	NOCICEPTORES: OS SENSORES DAS VIAS DE DOR.....	16
1.6.2.	TRANSMISSÃO DA DOR.....	17
1.6.3	MODULAÇÃO DA DOR.....	18
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	19
	NORMAS DE PUBLICAÇÃO ARCHIVES OF ENDOCRINOLOGY AND METABOLISM	
	INFORMAÇÕES GERAIS	29
	ARTIGO ORIGINAL.....	38
	RESUMO	39
	ABSTRACT	40
	INTRODUÇÃO.....	41
	MATERIAIS E MÉTODOS.....	42
	RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
	GRÁFICOS E FIGURAS.....	46

FONTE DE FINANCIAMENTO	48
CONFLITO DE INTERESSES.....	48
AGRADECIMENTOS	48
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1 OS HORMÔNIOS TIREOIDEANOS

1.1.1 A GLÂNDULA TIREOIDE

A tireoide é uma glândula endócrina contendo dois lobos que se encontram de cada lado da traqueia ligados por um istmo, pesa 20g e possui em sua face dorsal dois pares de glândulas paratireoides (Aires M, 2008). Os hormônios produzidos por essa glândula, e a ampla quantidade e distribuição de receptores para eles, permitem que desempenhem um papel essencial no desenvolvimento de diversos órgãos e tecidos desde a vida embrionária. A glândula é altamente vascularizada e innervada, histologicamente é composta por aproximadamente três milhões de folículos, suas unidades funcionais, que são estruturas císticas, constituídas por uma camada simples de células, os tireócitos, e um lúmen preenchido por um coloide rico em tireoglobulina (TG) (Campbell, 2011). Nos espaços interfoliculares do parênquima estão as células C, as quais participam da homeostase do cálcio, secretando calcitonina quando há aumento da calcemia (Aires M,2008).

A tireoide produz a 3,5,3',5' – tetraiodotironina (tiroxina ou T4), 80% da produção; 3,5,3' – triiodotironina (T3), aproximadamente 20%, e menos de 1% de 3,3',5' – triiodotironina (T3 reverso), forma inativa, e os lançam na corrente sanguínea (Maia et al., 2011a). Em ratos, a glândula é responsável por produzir cerca de 50% de todo T3 circulante (Maia et al.,2011a). O T3 é a forma mais ativa e responsável pela diferenciação dos órgãos, logo, sua manutenção em níveis adequados é regulada por mecanismos centrais e de conversão periférica pelas enzimas D1 e D2, expressas inclusive no sistema nervoso central (Antunes-Rodrigues, 2005).

1.1.2 SISTEMA HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-TIREÓIDE

O sistema tireoidiano conta com o controle de duas estruturas essenciais, o hipotálamo e a glândula hipófise. Neurônios localizados no núcleos paraventriculares e periventriculares do hipotálamo, estabelecem sinapses com capilares da circulação porta-hipotálamo-hipofisária. Sob estímulos adequados, esses neurônios liberam hormônio liberador de tireotrofina (TRH) e somatostatina (SS) para esses capilares, que levam estes hormônios hipotalâmicos para a adeno-hipófise, onde se ligam a receptores de membrana presentes nos tireotrofos (células da hipófise). Os tireotrofos, a partir do estímulo do TRH, produzem hormônio tireoestimulante (TSH); enquanto que o estímulo pela SS inibe a sua produção. O TSH estimula os tireócitos a produzirem T3 e T4, que em concentração elevada, pelo mecanismo de *feedback negativo*, inibem a produção de TRH pelo hipotálamo e de TSH pela hipófise a fim de manter a homeostase (Antunes-Rodrigues,2005).

1.1.3 A PRODUÇÃO TIREOIDIANA DE T3 E T4

A biossíntese e a secreção dos hormônios tireoidianos (T3 e T4) recebem interferência do TSH em todo o processo. No interior das células foliculares tireoidianas ocorre o transporte ativo de iodeto, pelo estímulo de TSH, por meio da proteína cotransportadora (2Na⁺/1I⁻) NIS presente na membrana basal e basolateral dos tireócitos (Bizhanova&Kopp,2009;Mihai,2011). A concentração plasmática dessa proteína é regulada pelo TSH e pela quantidade de Iodeto plasmático. Na sequência, após a entrada de iodeto na glândula, este vai para os tireócitos em sua membrana apical e é transportado por um canal de ânions cloreto-iodeto, a pendrina (Aires M, 2008; Mihai, 2011). Recentemente sugeriu-se que, além disso, a pendrina atua em condições de excesso de iodeto nos tireócitos mediando um efluxo de iodeto (Aires M, 2008;Mihai, 2011). Em contrapartida, há estudos que questionam o papel da pendrina no transporte apical de desse íon (Bizhanova &Kropp,2011). Outras proteínas como a SLC5A8 e o canal de cloreto 5(CLC-5) também são sugeridas como participantes do transporte apical de iodeto. (Rodriguez et al., 2002; van den Hove et al.,2006).

Já na luz folicular o iodeto sofre oxidação pela selenoproteína tireoperoxidase (TPO), a qual se encontra ancorada, via domínio transmembrana C-terminal (Grasberger,2010). O peróxido atua como co-substrato desse processo, doando O₂, gerado por duas glicoproteínas homólogas, dual-oxidase 1 e 2 (DUOX 1 e DUOX 2) (De Deken et al., 2000; Morand et al.,2003; Moreno et al., 2002).

A iodinação especificamente dos aminoácidos tirosina da tireoglobulina, glicoproteína molde dos HTs, resulta na formação das monoiodotirosinas (MITs) e diiodotirosinas (DITs). As MITs e DITs se acoplam no interior do colóide folicular para a formação das iodotironinas. Em seguida, a TG é estocada no lúmen do folículo tireoideano como coloide. Para a liberação de T3 e T4 para a corrente sanguínea, é necessária a ligação da tireoglobulina ao receptor megalina (Marinò et al., 2000; Zheng et al., 1998). Sob ação do TSH, o coloide intrafolicular é endocitado devido ao aumento da motilidade das microvilosidades da membrana apical da célula folicular tireoidiana. Formam-se, então, vesículas que são fagocitadas por lisossomos. As proteases hidrolisam o coloide e libera, T3 e T4, MITs e DITs para o citoplasma, e T3 e T4 para a corrente sanguínea (Aires M, 2008).

As MITs e DITs sofrem ação da dehalogenase (DEHAL) e são desiodadas. Esse iodeto é então reciclado para nova síntese de T3 e T4 (Gnidehou et. al.,2004). Os HTs deixam o tireócito por difusão simples (Aires M,2008), e pequena quantidade da TG intacta deixa a célula folicular.

Os hormônios tireoidianos, em sua maioria, são transportados ligados a proteínas plasmáticas na corrente sanguínea. A principal proteína é a globulina, a qual transporta 75% dos HTs séricos. A albumina transporta 10% e a pré -albumina 15% (Mihai,2011). Apesar de apenas 0,4% do T3 e 0,02% do T4 encontrar-se livre, essa é a forma biologicamente ativa dos HTs, sendo a porção ligada uma espécie de reserva (Aires M,2008). Devido a maior força de ligação do T4 às proteínas, a concentração de hormônios livres são similares, mesmo a concentração sérica de T4 sendo maior (Bianco & Kim,2006^a; Verloop et. al.; 2014).

1.1.4 A CONVERSÃO PERIFÉRICA

A secreção tireoidiana é predominantemente de T4, mas como o é o T3 a forma ativa, periféricamente há três selenoproteínas desiodases responsáveis pela conversão hormonal. A Desiodase do tipo 1 (D1) localiza-se na membrana plasmática celular, a desiodase tipo 2 (D2) na membrana do retículo endoplasmático, ambas proteínas integrais, desempenham um papel importante na conversão de T4 em T3, via deiodação do anel externo (Darras&Van Herck, 2012), e D2, além disso, é conhecida pela sua produção local de T3 (Bianco et al., 2002; Maia et. al., 2011a). D1 é uma enzima multifuncional, inativando e ativando os HTs de acordo com seu ponto de clivagem (Darras et. al., 2015), e seu substrato preferido é o T3 reverso (T3r). A Desiodase do tipo 3 (D3), por sua vez, é a principal enzima de inativação de T3, convertendo-o em T2 e T4 para T3r por meio da deiodação. Está presente na membrana plasmática celular e na membrana nuclear.

As desiodases tem um padrão de expressão variado de acordo com o tecido. (Bianco et al., 2002; Kohrle, 1999). D1 é expressa no fígado, rim, tireoide e hipófise; D2, no SNC pituitária, músculo esquelético, tireoide, coração, osso e tecido adiposo marron; já D3, no SNC e placenta (Bianco et. al., 2002). Essas selenoproteínas formam um sistema homeostático de controle da concentração intracelular de Hts ativos (Gereben et. al.,2000), sendo D2 a principal via de conversão de T4 (Bianco & Kim,2006a).

1.1.5 TRANSPORTADORES DE MEMBRANA

A entrada dos hormônios tireoidianos na célula alvo é facilitada por várias proteínas transportadoras de solutos (SLC), que inclui os transportadores monocarboxilato (MCT), responsáveis pelo transporte de ânions orgânicos (Muzzio et al., 2014; Stathatos,2012), e os tipo L, transportadores de aminoácidos (LAT1 e LAT2).

Dos transportadores monocarboxilatos, apenas os MCT8 e MCT10 funcionam como transportadores de HTs (Halestrap & Meredith,2004; Visser et al., 2011). O MCT8 mostra uma distribuição tecidual ampla em humanos e em ratos, inclusive acoplada à NIS na membrana do tireócito (Ishido et al.,2015), no coração e fígado (Price et al.,1998).

Desenvolve importante papel no transporte de T₂, T₃, T₄ e rT₃ devido à sua alta afinidade por todas as formas (Friesema et al., 2003). Já o MCT10 possui maior afinidade por T₃, porém também transporta, em menor quantidade, T₄ (Friesema et al., 2008; Visser & Visser, 2012). Além desses, os OATP medeiam o transporte celular independente do sódio do HTs, sua distribuição ainda não é muito clara, mas o subtipo OATPC1 apresenta boa distribuição placentária e cerebral, e tem maior afinidade por rT₃ e T₄.

Os transportadores tipo L (LAT1 e LAT2) estão presentes no tecido adiposo, no testículo, na placenta, no pâncreas e nos mastócitos (Heuer & Visser, 2013), além disso o LAT2 está no rim, intestino e no fígado (Heuer & Visser, 2013). Visto isso, é importante destacar que o mecanismo de transporte dos HTs é heterogêneo, uns dependem de sódio, outros não, além de toda expressão localizada especificamente.

1.1.6 RECEPTORES INTRA-CELULARES DE HTS

Os HTs após entrarem no citoplasma celular, ligam-se aos receptores nucleares os quais sofrem alterações estruturais (Sandler et al., 2004). Existem dois tipos de genes receptores THR α (NR1A1) e THR β (NR1B1). Os alfa receptores dividem-se em TR α 1, TR α 2 e TR α 3, diferindo entre si no comprimento da cadeia de aminoácidos na porção C terminal. Somente o TR α 1 se liga ao T₃, está predominantemente expresso em pulmão, coração, músculo esquelético, rim e fígado (Brent, 2012; Williams, 2000). É também o principal subtipo expresso no cérebro de adultos vertebrados, 80% (Schwartz et al., 1992). O segundo grupo, os THR β , também apresenta três variantes TR β 1, TR β 2 e TR β 3 que se ligam ao T₃ (Brent, 2012). A primeira forma, TR β 1, está principalmente expressa em rim e fígado, e em menor quantidade em cérebro, coração, pulmão, músculo esquelético baço (Williams, 2000). TR β 2 é primariamente expresso no cérebro, retina e ouvido interno. Já TR β 3, em fígado, rim e pulmão (Cheng et al., 2010). Essas formas diferem entre si pelo comprimento e sequência de

aminoácidos no domínio amino-terminal. De todos os receptores, apenas as isoformas TR α 1, TR β 1 e TR β 2 são considerados receptores reais dos hormônios tireoidianos, por se ligarem ao T3 e ativarem e inibirem a transcrição gênica (Fraichard et al., 1997). Quase todos os receptores de HTs têm maior afinidade para T3, mesmo a concentração de T4 sendo maior (Lin et al.,1990), fazendo T3 o hormônio ativo predominante nas concentrações dos receptores nucleares na maioria dos vertebrados (Darras et al.,2015).

1.2 DESENVOLVIMENTO DA TIREOIDE

1.2.1 HUMANOS

A tireoide é a glândula de desenvolvimento mais precoce no embrião humano (Trueba et al.,2005), seu surgimento ocorre entre 16º e 17º dia de gestação (Chung, 2014) pelo espessamento do assoalho da faringe, e inicialmente independe da ação do TSH. No 48º atinge a região anterior à traqueia, onde começa a formar folículos (Trueba et al.,2005). Mas, somente na 10ª-11ª semana após a concepção, a glândula está apta a incorporar iodo e sintetizar T4. A partir desse período, HTs passam a ser detectados no soro fetal (Chung, 2014), embora grande parte deles sejam provenientes da transferência via placenta (Contempné et al.,1993). TSH e T4 aumentam progressivamente desse período até o parto, enquanto T3 permanece em níveis relativamente mais baixos (Kratzsc &Pulzer, 2008). Esse aumento ocorre por vários motivos, além da maturação e da estimulação da glândula, há um aumento da concentração sérica de globulina ligadora de tiroxina (TBG). Apesar da TBG ser identificada na glândula tireóidea na 5ªsemana, sua maturação leva muito mais tempo (De Nayer et al., 1984; Sobrero et al., 2007), e alcançam níveis adultos no terceiro trimestre, provavelmente devido a maior produção proteica do fígado. A resposta ao TRH ocorre por volta da 25ª semana de gestação. Apesar do T3 ter uma baixa concentração circulante, por volta da 20 a 26ª semana os níveis cerebrais desse hormônio já ultrapassou 50% dos valores adultos. As concentrações de desidases conversoras durante a gestação são variáveis, D1 tem uma baixa concentração, enquanto de D2 e D3 são elevadas (Kester et al., 2004).

1.2.2. RATOS

Em ratos a formação e a capacidade secretora da tireoide ocorre mais precocemente, por volta do 20º dia embrionário encontra-se pronta para captação de iodo e produção hormonal (Feldman et al.,1961). Os níveis de HTs T3 e T4 aumentam significativamente do 18º dia gestacional até o nascimento devido à maturação da glândula. Após o nascimento o T4 atinge no 17º dia seu pico de concentração plasmática (Fisher, et al.,1976), enquanto o T3 atinge seu pico por volta do 28º pós-natal, e sua concentração basal de adulto no 40º dia. Assim como nos humanos, os HTs são essenciais para o desenvolvimento cerebral (Solis &Valverde, 2006). Isso é tão marcante que se observa o início da formação do tubo neural, junto ao início do desenvolvimento tireoidiano e do surgimento dos receptores, por volta do 8º dia embrionário (Bradley et al., 1992). Em fetos de ratos, o T3 não é permeável, mas a razão ainda é desconhecida, mas sabe-se que não é devido a fraca expressão do transportador MCT8 (Grijota-Martínez et al.,2011). Sendo assim, a concentração cerebral nessa fase é proveniente da conversão do T4, enquanto no período pós-natal e adulto, parte do T3 cerebral é proveniente do sangue e outra parte da deiodação de T4.

1.2 INDUÇÃO DO HIPOTIREOIDISMO

O hipotireoidismo ocorre em sua maioria devido a defeito ou destruição da glândula tireoide que pode ser congênito ou adquirido (hipotireoidismo primário). Ou ainda de origem central devido à falha hipofisária na secreção de TSH (hipotireoidismo secundário), ou deficiência na liberação de TRH pelo hipotálamo (hipotireoidismo terciário). Além disso, pode-se apresentar resistência generalizada ou parcial dos tecidos aos HTs (Brenta et al., 2013).

Drogas utilizadas para o tratamento de hipertireoidismo experimentalmente são importantes para a indução do hipotireoidismo. O Metimazol impede o adesão de iodo aos resíduos tirosil, reduzindo então a concentração de HTs (Goodman LS et al., 2007). O PTU (propiltiouracil), outra droga antitireoidiana, também atravessa a placenta e é encontrada no

leite materno, e produzem um hipotireoidismo fetal transitório, com retorno ao estado eutireoideo dentro de semanas após o nascimento. (Diav-Citrin & Ornoy,2002).

1.4 TIREOIDE E GESTAÇÃO

A gestação promove diversas mudanças fisiológicas inclusive tireoidianas (Maraka S et. al., 2015). Devido a isso, sugere-se faixas de normalidade específicas de TSH em cada trimestre gestacional e para cada localidade geográfica da gestante. Na ausência de valores específicos, adota-se TSH normal entre 2,5mIU/L e 3mIU/L (Stagnaro-Green et. al., 2011). Partindo desses valores, existe uma taxa de variação de hipotireoidismo gestacional entre 5,5 e 15% (Blatt et al., 2012; Ong et al., 2014a). A partir disso, têm-se evidenciado estreita relação entre os acontecimentos intrauterinos e nos primeiros anos de vida com acometimentos na vida adulta (Barker et al.,1989). Nesse contexto, têm-se preocupado cada vez mais com os estudos do desenvolvimento fetal, bem como o papel, nessa etapa, dos HTs (Maciel & Magalhães, 2008).

Já no primeiro trimestre da gestação ocorrem algumas alterações na concentração plasmática dos HTs. Devido ao aumento do estrógeno, há um aumento de TBG, e por consequência, uma redução dos T4 e T3 livres, resultando em estímulo do eixo hipotálamo-hipófise-tireoide (Stricker et al., 2007; Vieira et al., 2004). Em contrapartida, há estimulação direta da tireoide materna pelas concentrações elevadas de gonadotrofina coriônica (hCG). Este aumento é acompanhado por inibição do eixo hipotálamo-hipófise, promovendo aumento temporário de T4 livre (Glinoe,1997; Glinoe et al., 1993).

Há, durante a gestação, um aumento do volume da glândula de 10 a 40%, da produção de T4 e T3 em 50%, resultando também no aumento da necessidade diária de iodo. Toda essa alteração evidencia a importância dos HTs para o desenvolvimento somático e manutenção da homeostase durante os períodos fetal e neonatal (Chung,2014; Li et al., 2014).

No período gestacional ocorre alteração, também, na atividade da desidase tipo 2, a qual é expressa na placenta, o que modifica o metabolismo dos HTs devido à desidase, mantendo a produção local de T3 quando as concentrações maternas de T4 reduzem; e da desidase tipo 3, a qual converte T4 em T3r e T3 em T2.

A permeabilidade placentária aos HTs é baixa mas existe até o nascimento (Jatin Patel et al., 2011; Roti et al., 1983). Vários transportadores de membrana placentários são descritos, como MCT8, MCT10, LAT1, LAT2, OATP1A2 e OATP4A1 presentes na placenta a partir da 6ª semana de gestação e durante toda a gravidez (Loubière et al., 2010).

Não há, porém, evidências de mecanismos reguladores da redução de HTs maternos, o que sugere que essas alterações podem promover danos encefálicos importantes ao feto (Chan et al., 2009).

1.5 HIPOTIREOIDISMO GESTACIONAL E REPERCUSSÕES NA PROLE

Sabe-se que a vida fetal tem forte influência nas doenças adultas devido à plasticidade desse período. A carência dos HTs materno pode resultar em diversas patologias na vida adulta devido à insuficiência hormonal fetal (Chan & Rovet, 2003), principalmente relacionadas ao sistema nervoso central (SNC), pois quantidades insuficientes desses hormônios leva a hipoplasia dos neurônios corticais, atraso de mielinização e redução da vascularização. A deficiência de T3, mais especificamente, retarda o crescimento, pode resultar em surdez, neurogênese prejudicada e má formações cardíacas congênitas (Li et al., 2014), já a deficiência de T4, ou alta de TSH, pode resultar em prejuízo cognitivo na prole (Kasatkina et al., 2006; Li et al., 2010). Nos estudos de hipotireoidismo por indução com MTZ ou PTU do 1º dia de prenhez até a 3ª semana de amamentação, verificou-se que há redução na prole da atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE), o que leva a um aumento consequente de ácido gama-aminobutírico (GABA), com supressão de ATPases para sódio, potássio, cálcio e magnésio, no cérebro, cerebelo e bulbo (Ahmed et al., 2010). A deficiência de HTs maternos acarreta, também, elevação prematura de óxido nítrico sintase neuronal (nNOS), e morte neuronal no neocórtex embrionário de ratos (Sinha et al., 2008). A reposição de tiroxina deve ser feita, então, precocemente após o nascimento para evitar maiores danos.

As disfunções tireoidianas têm efeitos significativos, também, sobre a função cardiovascular (Balli et al., 2016; Danzi & Klein, 2014), logo, a prole de mães com

hipotireoidismo gestacional apresentam hipotensão arterial na vida adulta (Santos et al., 2012). Além desses dois sistemas, a visão e o sistema reprodutor dessa prole também podem ser afetados (Hasegawa and wada, 2013; Kobayashi et al., 2014), assim como o sistema autoimune, com aumento das chances de encefalite autoimune na vida adulta (Albornoz et al., 2013).

Nos roedores, desordens que afetem o desenvolvimento estrutural e funcional do sistema somatossensorial podem levar a alterações na sensibilidade a dor e os demais sistemas sensoriais (Fitzgerald & Jennings, 1999). Partindo desse princípio, o hipotireoidismo experimental pôde demonstrar que há hipersensibilidade a estímulos nocivos da prole nas mais diferentes idades, além da redução da performance motora dos machos filhos de mães hipotireoideas (Alves et al., 2013).

Há, então, evidências de alterações definitivas em diversos órgãos e sistemas da prole ao longo da vida, e, principalmente, em circuitarias neuronais e somatossensoriais fetais, que são claramente dependentes de HTs de origem materna. Devido a isso, deficiências desses hormônios acarretam em doenças hiper e hipoalgésicas crônicas, sem causa aparente, em indivíduos adultos.

1.6 CIRCUITARIA DE DOR

Dor se define, segundo a Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP) como uma experiência sensorial e emocional desagradável associada a uma lesão tecidual real ou potencial ou descrita em termos de tal dano.

1.6.1 NOCICEPTORES: OS SENSORES DAS VIAS DE DOR

A sensibilidade de um receptor para dor é alta apenas para um tipo de estimulação, porém, há outros receptores polimodais que respondem a estímulos de diversas origens. Os neurônios têm diferenças constitucionais na membrana e em estruturas acessórias que os envolvem, o que propicia diversidade de sensibilidade quanto à natureza e à intensidade dos

estímulos que recebem. Os termorreceptores são constituídos por terminações nervosas livres, histologicamente indiferenciadas, mas com funções diferentes, assim, variam suas sensibilidades térmicas, uns mais sensíveis a temperaturas mais frias, outros a temperaturas elevadas, sendo os receptores de frio associados às fibras A δ e os receptores quentes às fibras do tipo C. Outros são sensíveis a extremos de temperatura, mas não geram sensação térmica, mas sim, sensação dolorosa.

A morfologia das terminações nervosas sensoriais nociceptivas de roedores e humanos são altamente semelhantes (Andrew & Greenspan, 1999; Foulkes & Wood, 2008; Lewin & Moshourab, 2004; Raja et al., 1988). Porém, devido à característica silenciosa da parte elétrica dos nociceptores, a informações periféricas devem alcançar centros superiores e gerar potenciais de ação de alta frequência nos neurônios aferentes, passar pela somação temporal pré e pós sináptica para assim gerar influências centrais (Dubin & Patapoutian, 2010).

1.6.2. TRANSMISSÃO DA DOR

Neurônios sensoriais têm sua velocidade de transmissão diretamente relacionada ao diâmetro e à presença ou não de mielina. A maioria dos nociceptores tem pequeno diâmetro e axônios desmielinizados – Fibras C (Woolf & Ma, 2007), são agrupados em fascículos e rodeados por células de Schwann. A dor primária, de aparecimento rápido, é mediada por nociceptores com axônios mielinizados e alta velocidade de condução – Fibras A. Já as fibras mielinizadas de médio calibre A δ são as de mais rápida condução. Assim sendo, fibras mielinizadas A δ provocam a dor primária, rápida, de natureza “cortante”, enquanto as amielinizadas do tipo C evocam uma fase de dor crônica, “maçante” (Millan, 1999).

A maioria das fibras se originam de neurônios com corpos celulares medulares dorsais, fazem sinapse com neurônios do corno dorsal da medula – secundários – e estes dão origem às vias ascendentes de dor que transmitem impulsos supraespinhais. A substância cinzenta da medula espinhal pode ser dividida em 10 lâminas, com base na citoarquitetura ou com base nas características citológicas neuronais. As fibras aferentes A δ e C são responsáveis por enviar os estímulos nocivos até as lâminas superficiais do corno dorsal da medula espinhal, já as A β levam para camadas mais profundas.

1.6.3 MODULAÇÃO DA DOR

O cérebro apresenta circuitos modulatórios cuja principal função é regular a percepção da dor e afetar a resposta a estímulos nocivos. Na medula espinhal encontram-se os sítios iniciais de modulação, onde as interconexões entre vias podem controlar a transmissão de informações de nocicepção. No SNC também há centros de regulação para atenuar a resposta a estímulos nocivos, este controle pode ser feito em diversos locais, mas os mais importantes são a PAG, núcleos da rafe e o locus ceruleus (LC).

Um mecanismo importante de modulação ascendente da transmissão nociceptiva espinhal é o de vias descendentes do PAG através do RMV para o corno dorsal da medula espinhal (Velázquez et al., 2007). À nível medular, a modulação de sinapses entre neurônios de primeira e segunda ordem pode envolver encefalinas e outros neurotransmissores como dopamina e GABA (Sorkin & Wallace, 1999). Todd & Millar em 1983 observaram que a serotonina também estimula interneurônios GABAérgicos o que, por sua vez, auxiliaria na redução da dor. Isto ocorre devido à função inibitória do aminoácido, além de ser o neurotransmissor mais amplamente distribuído no sistema nervoso. Aproximadamente 40% das terminações nervosas no PAG são GABAérgicas. Atua na redução da excitabilidade neuronal através da ligação a receptores GABA que promovem a abertura de canais de Cl⁻ ou de K⁺ na membrana do nervo destes receptores. O influxo de Cl⁻ ou o efluxo de K⁺ na célula pós-sináptica hiperpolariza a membrana celular, e inibe a transmissão sináptica reduzindo a propagação do potencial de ação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahmed, O.M., Abd El-Tawab, S.M., Ahmed, R.G., 2010. Effects of experimentally induced maternal hypothyroidism and hyperthyroidism on the development of rat offspring: I. The development of the thyroid hormones-neurotransmitters and adenosinergic system interactions. *Int. J. Dev. Neurosci. Off. J. Int. Soc. Dev. Neurosci.* 28, 437–454. doi:10.1016/j.ijdevneu.2010.06.007
- Aires M, 2008. *Fisiologia*. Guanabara Koogan.
- Albornoz, E.A., Carreño, L.J., Cortes, C.M., Gonzalez, P.A., Cisternas, P.A., Cautivo, K.M., Catalán, T.P., Opazo, M.C., Eugenin, E.A., Berman, J.W., Bueno, S.M., Kalergis, A.M., Riedel, C.A., 2013. Gestational hypothyroidism increases the severity of experimental autoimmune encephalomyelitis in adult offspring. *Thyroid Off. J. Am. Thyroid Assoc.* 23, 1627–1637. doi:10.1089/thy.2012.0401
- Alves, I.G.N., da Cruz, K.M.L., Mota, C.M.D., de Santana, D.S., Gaujac, D.P., de Carvalho, V.C.B., Reis, L.C., Sluka, K.A., Quintans-Junior, L.J., Antonioli, A.R., Desantana, J.M., Badauê-Passos, D., Jr, de Santana-Filho, V.J., 2013. Experimental hypothyroidism during pregnancy affects nociception and locomotor performance of offspring in rats. *Eur. J. Pain Lond. Engl.* doi:10.1002/j.1532-2149.2013.00306.x
- Andrew, D., Greenspan, J.D., 1999. Peripheral coding of tonic mechanical cutaneous pain: comparison of nociceptor activity in rat and human psychophysics. *J. Neurophysiol.* 82, 2641–2648.
- Antunes-Rodrigues, 2005. *Neuroendocrinologia: Básica e Aplicada*. Guanabara Koogan.
- Ballı, M., Çetin, M., Taşolar, H., Uysal, O.K., Yılmaz, M., Durukan, M., Elbasan, Z., Çaylı, M., 2016. The relationship between serum thyroid hormone levels, subclinical hypothyroidism, and coronary collateral circulation in patients with stable coronary artery disease. *Türk Kardiyol. Derneği Arş. Türk Kardiyol. Derneğinin Yayın Organıdır* 44, 130–136.

- Barker, D.J., Osmond, C., Law, C.M., 1989. The intrauterine and early postnatal origins of cardiovascular disease and chronic bronchitis. *J. Epidemiol. Community Health* 43, 237–240.
- Bianco, A.C., Kim, B.W., 2006a. Deiodinases: implications of the local control of thyroid hormone action. *J. Clin. Invest.* 116, 2571–2579. doi:10.1172/JCI29812
- Bianco, A.C., Salvatore, D., Gereben, B., Berry, M.J., Larsen, P.R., 2002. Biochemistry, cellular and molecular biology, and physiological roles of the iodothyronine selenodeiodinases. *Endocr. Rev.* 23, 38–89. doi:10.1210/edrv.23.1.0455
- Bizhanova, A., Kopp, P., 2009. Minireview: The sodium-iodide symporter NIS and pendrin in iodide homeostasis of the thyroid. *Endocrinology* 150, 1084–1090. doi:10.1210/en.2008-1437
- Blatt, A.J., Nakamoto, J.M., Kaufman, H.W., 2012. National status of testing for hypothyroidism during pregnancy and postpartum. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 97, 777–784. doi:10.1210/jc.2011-2038
- Bradley, D.J., Towle, H.C., Young, W.S., 1992. Spatial and temporal expression of alpha- and beta-thyroid hormone receptor mRNAs, including the beta 2-subtype, in the developing mammalian nervous system. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 12, 2288–2302.
- Brent, G.A., 2012. Mechanisms of thyroid hormone action. *J. Clin. Invest.* 122, 3035–3043. doi:10.1172/JCI60047
- Brenta, G., Vaisman, M., Sgarbi, J.A., Bergoglio, L.M., Andrada, N.C. de, Bravo, P.P., Orlandi, A.M., Graf, H., 2013. Clinical practice guidelines for the management of hypothyroidism. *Arq. Bras. Endocrinol. Amp Metabol.* 57, 265–291. doi:10.1590/S0004-27302013000400003
- Campbell, I., 2011. Thyroid and parathyroid hormones and calcium homeostasis. *Anaesth. Intensive Care Med.* 12, 465–468. doi:10.1016/j.mpaic.2011.07.003
- Chan, S., Rovet, J., 2003. THYROID HORMONES IN FETAL CENTRAL NERVOUS SYSTEM DEVELOPMENT. *Fetal Matern. Med. Rev.* 14, 177–208. doi:10.1017/S0965539503001086

- Chan, S.Y., Vasilopoulou, E., Kilby, M.D., 2009. The role of the placenta in thyroid hormone delivery to the fetus. *Nat. Clin. Pract. Endocrinol. Metab.* 5, 45–54. doi:10.1038/ncpendmet1026
- Cheng, S.-Y., Leonard, J.L., Davis, P.J., 2010. Molecular aspects of thyroid hormone actions. *Endocr. Rev.* 31, 139–170. doi:10.1210/er.2009-0007
- Chung, H.R., 2014. Adrenal and thyroid function in the fetus and preterm infant. *Korean J. Pediatr.* 57, 425–433. doi:10.3345/kjp.2014.57.10.425
- Contempré, B., Jauniaux, E., Calvo, R., Jurkovic, D., Campbell, S., de Escobar, G.M., 1993. Detection of thyroid hormones in human embryonic cavities during the first trimester of pregnancy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 77, 1719–1722. doi:10.1210/jcem.77.6.8263162
- Danzi, S., Klein, I., 2014. Thyroid disease and the cardiovascular system. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.* 43, 517–528. doi:10.1016/j.ecl.2014.02.005
- Darras, V.M., Houbrechts, A.M., Van Herck, S.L.J., 2015. Intracellular thyroid hormone metabolism as a local regulator of nuclear thyroid hormone receptor-mediated impact on vertebrate development. *Biochim. Biophys. Acta* 1849, 130–141. doi:10.1016/j.bbagr.2014.05.004
- Darras, V.M., Van Herck, S.L.J., 2012. Iodothyronine deiodinase structure and function: from ascidians to humans. *J. Endocrinol.* 215, 189–206. doi:10.1530/JOE-12-0204
- De Deken, X., Wang, D., Many, M.C., Costagliola, S., Libert, F., Vassart, G., Dumont, J.E., Miot, F., 2000. Cloning of two human thyroid cDNAs encoding new members of the NADPH oxidase family. *J. Biol. Chem.* 275, 23227–23233. doi:10.1074/jbc.M000916200
- De Nayer, P., Cornette, C., Vanderschueren, M., Eggermont, E., Devlieger, H., Jaeken, J., Beckers, C., 1984. Serum thyroglobulin levels in preterm neonates. *Clin. Endocrinol. (Oxf.)* 21, 149–153.
- Diav-Citrin, O., Ornoy, A., 2002. Teratogen update: antithyroid drugs-methimazole, carbimazole, and propylthiouracil. *Teratology* 65, 38–44. doi:10.1002/tera.1096
- Dubin, A.E., Patapoutian, A., 2010. Nociceptors: the sensors of the pain pathway. *J. Clin. Invest.* 120, 3760–3772. doi:10.1172/JCI42843

- Feldman, J.D., Vazquez, J.J., Kurtz, S.M., 1961. Maturation of the rat fetal thyroid. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 11, 365–383.
- Fisher, D.A., Dussault, J.H., Sack, J., Chopra, I.J., 1976. Ontogenesis of hypothalamic--pituitary--thyroid function and metabolism in man, sheep, and rat. *Recent Prog. Horm. Res.* 33, 59–116.
- Fitzgerald, M., Jennings, E., 1999. The postnatal development of spinal sensory processing. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 96, 7719–7722.
- Foulkes, T., Wood, J.N., 2008. Pain genes. *PLoS Genet.* 4, e1000086. doi:10.1371/journal.pgen.1000086
- Fraichard, A., Chassande, O., Plateroti, M., Roux, J.P., Trouillas, J., Dehay, C., Legrand, C., Gauthier, K., Kedinger, M., Malaval, L., Rousset, B., Samarut, J., 1997. The T3R alpha gene encoding a thyroid hormone receptor is essential for post-natal development and thyroid hormone production. *EMBO J.* 16, 4412–4420. doi:10.1093/emboj/16.14.4412
- Friesema, E.C.H., Ganguly, S., Abdalla, A., Manning Fox, J.E., Halestrap, A.P., Visser, T.J., 2003. Identification of monocarboxylate transporter 8 as a specific thyroid hormone transporter. *J. Biol. Chem.* 278, 40128–40135. doi:10.1074/jbc.M300909200
- Friesema, E.C.H., Jansen, J., Jachtenberg, J.-W., Visser, W.E., Kester, M.H.A., Visser, T.J., 2008. Effective cellular uptake and efflux of thyroid hormone by human monocarboxylate transporter 10. *Mol. Endocrinol. Baltim. Md* 22, 1357–1369. doi:10.1210/me.2007-0112
- Gereben, B., Goncalves, C., Harney, J.W., Larsen, P.R., Bianco, A.C., 2000. Selective proteolysis of human type 2 deiodinase: a novel ubiquitin-proteasomal mediated mechanism for regulation of hormone activation. *Mol. Endocrinol. Baltim. Md* 14, 1697–1708. doi:10.1210/mend.14.11.0558
- Glinoeer, D., 1997. The regulation of thyroid function in pregnancy: pathways of endocrine adaptation from physiology to pathology. *Endocr. Rev.* 18, 404–433. doi:10.1210/edrv.18.3.0300
- Glinoeer, D., 1993. Maternal thyroid function in pregnancy. *J. Endocrinol. Invest.* 16, 374–378. doi:10.1007/BF03348861

- Gnidehou, S., Caillou, B., Talbot, M., Ohayon, R., Kaniewski, J., Noël-Hudson, M.-S., Morand, S., Agnangji, D., Sezan, A., Courtin, F., Virion, A., Dupuy, C., 2004. Iodotyrosine dehalogenase 1 (DEHAL1) is a transmembrane protein involved in the recycling of iodide close to the thyroglobulin iodination site. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 18, 1574–1576. doi:10.1096/fj.04-2023fje
- Goodman LS, Brunton LL, Blumenthal D, Buxton I, 2007. Goodman and Gilman's manual of pharmacology and therapeutics. McGraw-Hill.
- Grasberger, H., 2010. Defects of thyroidal hydrogen peroxide generation in congenital hypothyroidism. *Mol. Cell. Endocrinol.* 322, 99–106. doi:10.1016/j.mce.2010.01.029
- Grijota-Martínez, C., Díez, D., Morreale de Escobar, G., Bernal, J., Morte, B., 2011. Lack of action of exogenously administered T3 on the fetal rat brain despite expression of the monocarboxylate transporter 8. *Endocrinology* 152, 1713–1721. doi:10.1210/en.2010-1014
- Halestrap, A.P., Meredith, D., 2004. The SLC16 gene family—from monocarboxylate transporters (MCTs) to aromatic amino acid transporters and beyond. *Pflug. Arch. Eur. J. Physiol.* 447, 619–628. doi:10.1007/s00424-003-1067-2
- Hasegawa, M., Wada, H., 2013. Developmental hypothyroidism disrupts visual signal detection performance in rats. *Physiol. Behav.* 112–113, 90–95. doi:10.1016/j.physbeh.2013.02.019
- Heuer, H., Visser, T.J., 2013. The pathophysiological consequences of thyroid hormone transporter deficiencies: Insights from mouse models. *Biochim. Biophys. Acta* 1830, 3974–3978. doi:10.1016/j.bbagen.2012.04.009
- Ishido, Y., Luo, Y., Yoshihara, A., Hayashi, M., Yoshida, A., Hisatome, I., Suzuki, K., 2015. Follicular thyroglobulin enhances gene expression necessary for thyroid hormone secretion. *Endocr. J.* 62, 1007–1015. doi:10.1507/endocrj.EJ15-0263
- Kasatkina, E.P., Samsonova, L.N., Ivakhnenko, V.N., Ibragimova, G.V., Ryabykh, A.V., Naumenko, L.L., Evdokimova, Y.A., 2006. Gestational hypothyroxinemia and cognitive function in offspring. *Neurosci. Behav. Physiol.* 36, 619–624. doi:10.1007/s11055-006-0066-0

- Kobayashi, K., Kubota, H., Hojo, R., Miyagawa, M., 2014. Dose-dependent effects of perinatal hypothyroidism on postnatal testicular development in rat offspring. *J. Toxicol. Sci.* 39, 867–874.
- Köhrle, J., 1999. Local activation and inactivation of thyroid hormones: the deiodinase family. *Mol. Cell. Endocrinol.* 151, 103–119.
- Kratzsch, J., Pulzer, F., 2008. Thyroid gland development and defects. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 22, 57–75. doi:10.1016/j.beem.2007.08.006
- Lewin, G.R., Moshourab, R., 2004. Mechanosensation and pain. *J. Neurobiol.* 61, 30–44. doi:10.1002/neu.20078
- Li, M., Iismaa, S.E., Naqvi, N., Nicks, A., Husain, A., Graham, R.M., 2014. Thyroid hormone action in postnatal heart development. *Stem Cell Res.* 13, 582–591. doi:10.1016/j.scr.2014.07.001
- Li, Y., Shan, Z., Teng, W., Yu, X., Li, Y., Fan, C., Teng, X., Guo, R., Wang, H., Li, J., Chen, Y., Wang, W., Chawinga, M., Zhang, L., Yang, L., Zhao, Y., Hua, T., 2010. Abnormalities of maternal thyroid function during pregnancy affect neuropsychological development of their children at 25-30 months. *Clin. Endocrinol. (Oxf.)* 72, 825–829. doi:10.1111/j.1365-2265.2009.03743.
- Lin, K.H., Fukuda, T., Cheng, S.Y., 1990. Hormone and DNA binding activity of a purified human thyroid hormone nuclear receptor expressed in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* 265, 5161–5165.
- Loubière, L.S., Vasilopoulou, E., Bulmer, J.N., Taylor, P.M., Stieger, B., Verrey, F., McCabe, C.J., Franklyn, J.A., Kilby, M.D., Chan, S.-Y., 2010. Expression of thyroid hormone transporters in the human placenta and changes associated with intrauterine growth restriction. *Placenta* 31, 295–304. doi:10.1016/j.placenta.2010.01.013
- Maciel, L.M.Z., Magalhães, P.K.R., 2008. [Thyroid and pregnancy]. *Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.* 52, 1084–1095.
- Maia, A.L., Goemann, I.M., Meyer, E.L.S., Wajner, S.M., 2011a. Deiodinases: the balance of thyroid hormone: type 1 iodothyronine deiodinase in human physiology and disease. *J. Endocrinol.* 209, 283–297. doi:10.1530/JOE-10-0481

- Maraka S, O’Keeffe DT, Montori VM, 2015. Subclinical hypothyroidism during pregnancy—should you expect this when you are expecting?: A teachable moment. *JAMA Intern. Med.* 175, 1088–1089. doi:10.1001/jamainternmed.2015.1348
- Marinò, M., Zheng, G., Chiovato, L., Pinchera, A., Brown, D., Andrews, D., McCluskey, R.T., 2000. Role of megalin (gp330) in transcytosis of thyroglobulin by thyroid cells. A novel function in the control of thyroid hormone release. *J. Biol. Chem.* 275, 7125–7137.
- Mihai, R., 2011. Physiology of the pituitary, thyroid and adrenal glands. *Surg. - Oxf. Int. Ed.* 29, 419–427. doi:10.1016/j.mpsur.2011.06.017
- Millan, M.J., 1999. The induction of pain: an integrative review. *Prog. Neurobiol.* 57, 1–164.
- Morand, S., Dos Santos, O.F., Ohayon, R., Kaniewski, J., Noel-Hudson, M.-S., Virion, A., Dupuy, C., 2003. Identification of a truncated dual oxidase 2 (DUOX2) messenger ribonucleic acid (mRNA) in two rat thyroid cell lines. Insulin and forskolin regulation of DUOX2 mRNA levels in FRTL-5 cells and porcine thyrocytes. *Endocrinology* 144, 567–574. doi:10.1210/en.2002-220824
- Moreno, J.C., Bikker, H., Kempers, M.J.E., van Trotsenburg, A.S.P., Baas, F., de Vijlder, J.J.M., Vulmsa, T., Ris-Stalpers, C., 2002. Inactivating mutations in the gene for thyroid oxidase 2 (THOX2) and congenital hypothyroidism. *N. Engl. J. Med.* 347, 95–102. doi:10.1056/NEJMoa012752
- Muzzio, A.M., Noyes, P.D., Stapleton, H.M., Lema, S.C., 2014. Tissue distribution and thyroid hormone effects on mRNA abundance for membrane transporters Mct8, Mct10, and organic anion-transporting polypeptides (Oatps) in a teleost fish. *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* 167, 77–89. doi:10.1016/j.cbpa.2013.09.019
- Ong, G.S.Y., Hadlow, N.C., Brown, S.J., Lim, E.M., Walsh, J.P., 2014a. Does the thyroid-stimulating hormone measured concurrently with first trimester biochemical screening tests predict adverse pregnancy outcomes occurring after 20 weeks gestation? *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 99, E2668-2672. doi:10.1210/jc.2014-1918
- Patel, J., Landers, K., Li, H., Mortimer, R.H., Richard, K., 2011. Thyroid hormones and fetal neurological development. *J. Endocrinol.* 209, 1–8. doi:10.1530/JOE-10-0444
- Price, N.T., Jackson, V.N., Halestrap, A.P., 1998. Cloning and sequencing of four new

mammalian monocarboxylate transporter (MCT) homologues confirms the existence of a transporter family with an ancient past. *Biochem. J.* 329 (Pt 2), 321–328.

Raja, S.N., Meyer, R.A., Campbell, J.N., 1988. Peripheral mechanisms of somatic pain. *Anesthesiology* 68, 571–590.

Rodriguez, A.-M., Perron, B., Lacroix, L., Caillou, B., Leblanc, G., Schlumberger, M., Bidart, J.-M., Pourcher, T., 2002. Identification and characterization of a putative human iodide transporter located at the apical membrane of thyrocytes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 87, 3500–3503. doi:10.1210/jcem.87.7.8797

Roti, E., Gnudi, A., Braverman, L.E., 1983. The placental transport, synthesis and metabolism of hormones and drugs which affect thyroid function. *Endocr. Rev.* 4, 131–149.
doi:10.1210/edrv-4-2-131

Sandler, B., Webb, P., Apriletti, J.W., Huber, B.R., Togashi, M., Cunha Lima, S.T., Juric, S., Nilsson, S., Wagner, R., Fletterick, R.J., Baxter, J.D., 2004. Thyroxine-thyroid hormone receptor interactions. *J. Biol. Chem.* 279, 55801–55808. doi:10.1074/jbc.M410124200

Santos, S.O., Loureiro, S.M.A., Alves, I.G.N., Jesus, C.S. de, Santos, P.R. dos, Santos, M.R.V. dos, Dias, D.P.M., Santana-Filho, V.J., Badauê-Passos, D., Jr, 2012. Experimental gestational hypothyroidism evokes hypertension in adult offspring rats. *Auton. Neurosci. Basic Clin.* 170, 36–41. doi:10.1016/j.autneu.2012.07.004

Sinha, R.A., Pathak, A., Mohan, V., Bandyopadhyay, S., Rastogi, L., Godbole, M.M., 2008. Maternal thyroid hormone: a strong repressor of neuronal nitric oxide synthase in rat embryonic neocortex. *Endocrinology* 149, 4396–4401. doi:10.1210/en.2007-1617

Sobrero, G., Muñoz, L., Bazzara, L., Martin, S., Silvano, L., Iorkansky, S., Bergoglio, L., Spencer, C., Miras, M., 2007. Thyroglobulin reference values in a pediatric infant population. *Thyroid Off. J. Am. Thyroid Assoc.* 17, 1049–1054. doi:10.1089/thy.2007.0059

Solis, J.C., Valverde, C., 2006. [Neonatal hypothyroidism. pathophysiogenic, molecular and clinical aspects]. *Rev. Investig. Clínica Organo Hosp. Enfermedades Nutr.* 58, 318–334.

Stagnaro-Green, A., Abalovich, M., Alexander, E., Azizi, F., Mestman, J., Negro, R., Nixon, A., Pearce, E.N., Soldin, O.P., Sullivan, S., Wiersinga, W., American Thyroid

- Association Taskforce on Thyroid Disease During Pregnancy and Postpartum, 2011. Guidelines of the American Thyroid Association for the diagnosis and management of thyroid disease during pregnancy and postpartum. *Thyroid Off. J. Am. Thyroid Assoc.* 21, 1081–1125. doi:10.1089/thy.2011.0087
- Stathatos, N., 2012. Thyroid Physiology. *Med. Clin. North Am.* 96, 165–173. doi:10.1016/j.mcna.2012.01.007
- Stricker, R., Echenard, M., Eberhart, R., Chevaller, M.-C., Perez, V., Quinn, F.A., Stricker, R., 2007. Evaluation of maternal thyroid function during pregnancy: the importance of using gestational age-specific reference intervals. *Eur. J. Endocrinol. Eur. Fed. Endocr. Soc.* 157, 509–514. doi:10.1530/EJE-07-0249
- Trueba, S.S., Augé, J., Mattei, G., Etchevers, H., Martinovic, J., Czernichow, P., Vekemans, M., Polak, M., Attié-Bitach, T., 2005. PAX8, TITF1, and FOXE1 gene expression patterns during human development: new insights into human thyroid development and thyroid dysgenesis-associated malformations. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 90, 455–462. doi:10.1210/jc.2004-1358
- van den Hove, M.-F., Croizet-Berger, K., Jouret, F., Guggino, S.E., Guggino, W.B., Devuyst, O., Courtoy, P.J., 2006. The loss of the chloride channel, ClC-5, delays apical iodide efflux and induces a euthyroid goiter in the mouse thyroid gland. *Endocrinology* 147, 1287–1296. doi:10.1210/en.2005-1149
- Verloop, H., Dekkers, O.M., Peeters, R.P., Schoones, J.W., Smit, J.W.A., 2014. Genetics in endocrinology: genetic variation in deiodinases: a systematic review of potential clinical effects in humans. *Eur. J. Endocrinol. Eur. Fed. Endocr. Soc.* 171, R123-135. doi:10.1530/EJE-14-0302
- Vieira, J.G.H., Kanashiro, I., Tachibana, T.T., Ghiringhello, M.T., Hauache, O.M., Maciel, R.M.B., 2004. [Free thyroxine values during pregnancy]. *Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.* 48, 305–309. doi:S0004-27302004000200015
- Visser, W.E., Friesema, E.C.H., Visser, T.J., 2011. Minireview: thyroid hormone transporters: the knowns and the unknowns. *Mol. Endocrinol. Baltim. Md* 25, 1–14. doi:10.1210/me.2010-0095
- Visser, W.E., Visser, T.J., 2012. Finding the way into the brain without MCT8. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 97, 4362–4365. doi:10.1210/jc.2012-3759

- Williams, G.R., 2000. Cloning and characterization of two novel thyroid hormone receptor beta isoforms. *Mol. Cell. Biol.* 20, 8329–8342.
- Woolf, C.J., Ma, Q., 2007. Nociceptors—Noxious Stimulus Detectors. *Neuron* 55, 353–364. doi:10.1016/j.neuron.2007.07.016
- Zheng, G., Marino', M., Zhao, J., McCluskey, R.T., 1998. Megalin (gp330): a putative endocytic receptor for thyroglobulin (Tg). *Endocrinology* 139, 1462–1465. doi:10.1210/endo.139.3.5978

NORMAS DE PUBLICAÇÃO ARCHIVES OF ENDOCRINOLOGY AND METABOLISM

Estas instruções devem ser seguidas cuidadosamente a fim de se evitar atrasos no processamento do seu manuscrito. Os manuscritos devem ser submetidos para a publicação apenas nos AE&M, e não podem ter sido publicados ou estar em análise para publicação de forma substancial em nenhum outro periódico, profissional ou leigo. Os manuscritos devem ser submetidos em inglês. Recomenda-se que eles sejam profissionalmente revistos por um serviço de editoração científica, e para este serviço, sugerimos as seguintes empresas: Voxmed Medical Communications, American Journal Experts ou PaperCheck. Os manuscritos que forem aprovados no processo de revisão por pares e forem recomendados para publicação, serão aceitos e publicados apenas depois do envio do certificado de revisão profissional da língua inglesa. Em circunstâncias extraordinárias, o Conselho Editorial pode abrir mão da apresentação deste certificado. Todas as submissões são avaliadas em profundidade pelos editores científicos. Os artigos que não estiverem em conformidade com os critérios gerais para publicação serão devolvidos aos autores sem uma revisão detalhada, normalmente em três a cinco dias. Os manuscritos que estiverem em conformidade serão enviados aos revisores (geralmente dois).

CATEGORIAS DE ARTIGOS

Os relatos originais de pesquisa podem ser submetidos aos AE&M como Artigos Originais ou Comunicações Breves. As outras categorias de artigos estão descritas abaixo. Todos os manuscritos devem obedecer ao número máximo de palavras determinado para o texto principal de acordo com as definições abaixo; o número de palavras não inclui o resumo, as referências e as figuras/tabelas e suas legendas. O número de palavras deve ser apresentado na página de título, junto com o número de figuras e tabelas. O formato é semelhante para todas as categorias de manuscritos e está descrito em detalhes na seção "Preparação dos manuscritos".

Artigos originais

O Artigo Original é um relato científico dos resultados de pesquisas originais que não foram publicadas ou enviadas para publicação em outros periódicos (impresso ou eletrônico). O Artigo Original representa um trabalho clínico ou laboratorial substancial. Em geral, Artigos Originais não devem exceder 3600 palavras no texto principal, e não devem ter mais de seis figuras ou tabelas e mais de 35 referências.

Artigos de revisão

Os AE&M publicam Artigos de Revisão que mostrem uma visão equilibrada de assuntos correntes no campo da endocrinologia clínica. Todas as revisões são feitas mediante convite e passam por revisão por pares. Os artigos desta categoria são requisitados pelos editores a autores que tenham experiência comprovada no campo. Autores que queiram submeter revisões não requisitadas devem entrar em contato com os editores com antecedência para determinar se o tópico proposto é de interesse corrente e potencial para este periódico. Os artigos de revisão não devem ter mais do que 4000 palavras no texto principal, mais de quatro figuras e tabelas e mais de 60 referências. O autor deve mencionar a fonte e/ou pedir autorização para o uso de figuras ou tabelas que já tenham sido publicadas.

Declarações de Consenso

As Declarações de Consenso relacionadas a padrões e práticas de saúde endocrinológica e metabólica devem ser enviadas por sociedades profissionais, forças-tarefas e outros consórcios. Estas declarações serão submetidas à revisão por pares, devem ser passíveis de modificação em resposta a críticas e serão publicadas apenas se estiverem de acordo com os padrões editoriais deste periódico. As Declarações de Consenso devem tipicamente conter até 3600 palavras no texto principal, devem incluir não mais de seis figuras e tabelas e não mais de 60 referências.

Comunicação Breve

A Comunicação Breve consiste de dados novos de importância suficiente para serem imediatamente publicados. A Comunicação Breve é uma descrição sucinta de um estudo objetivo com resultados importantes e claros que sejam confirmatórios ou negativos. A brevidade e a clareza aumentam a chance de aceitação deste tipo de manuscrito. A Comunicação Breve deve ter no máximo 1500 palavras no texto principal e até 20 referências, com não mais de duas ilustrações (tabelas ou figuras, ou uma de cada).

Relato de caso

Um Relato de Caso é uma comunicação breve que apresenta um ou vários casos de significância clínica ou científica. Estes relatos devem ser concisos e objetivos, e devem ter como foco a questão a ser discutida. Eles devem abordar a observação de pacientes ou famílias, trazendo conhecimento substancial sobre a etiologia, patogênese e delineamento da história natural ou manejo da condição descrita. Os Relatos de Caso devem ter 2000 palavras ou menos, com não mais de quatro figuras e tabelas e não mais de 30 referências. Ressaltamos que somente serão considerados para publicação relatos de casos que tragam uma grande contribuição básica translacional ou clínica, de preferência acompanhados de revisão literatura.

Cartas ao Editor

As Cartas ao Editor podem ser submetidas em resposta a artigos que foram publicados no periódico. As Cartas devem ser comentários curtos relacionados a pontos específicos de concordância ou discordância com os artigos publicados. As Cartas não devem ser usadas para apresentação de dados originais que não tenham relação com o artigo publicado. As Cartas não devem ter mais de 500 palavras e cinco referências completas. Elas também não devem incluir figuras ou tabelas.

PREPARAÇÃO DO MANUSCRITO

Formato Geral

Todos os manuscritos devem ser apresentados com o texto em uma única coluna, de acordo com as diretrizes abaixo: O manuscrito deve estar em formato de MS-Word. Todo o texto deve ser apresentado em espaço duplo com margens de 2 cm em ambos os lados e fonte Times Roman ou Arial tamanho 11. Todas as linhas devem ser numeradas ao longo de todo o manuscrito e o documento inteiro deve ter suas páginas numeradas. Todas as tabelas e figuras devem ter título e devem ser colocadas depois do texto. Os artigos devem estar completos, incluindo uma página de título, resumo, figuras e tabelas.

Os artigos que não tenham todos estes componentes serão colocados em espera até que o manuscrito seja completado. Todas as submissões devem incluir: Uma carta de apresentação requerendo a avaliação do manuscrito para publicação nos AE&M e quaisquer outras informações relevantes sobre o artigo. Em outro ponto do formulário de submissão, os autores

podem sugerir até três revisores específicos e/ou requerer a exclusão de até três outros. O manuscrito deve ser apresentado na seguinte ordem:

1. Página de título
2. Resumo estruturado (ou sumário, para os relatos de caso)
3. Texto principal
4. Tabelas e Figuras, citadas no texto principal em ordem numérica
5. Agradecimentos
6. Declaração sobre financiamento, conflito de interesses ou quaisquer bolsas relacionadas com o artigo
7. Lista de referências

Página de título

A página de título deve conter as seguintes informações:

1. Título do artigo (declaração concisa do conteúdo principal do artigo).
2. Nomes completos de todos os coautores, com seus departamentos, instituições, cidade e país.
3. Nome completo, endereço de correspondência, e-mail, telefone e fax do autor para correspondência.
4. Título abreviado com não mais de 40 caracteres para os cabeçalhos das páginas.
5. Até cinco palavras-chave ou frases adequadas para o uso em um índice (recomendamos o uso de termos MeSH).
6. Número de palavras – excluindo a página de título, o resumo, as referências e as figuras/tabelas e suas legendas.
7. Tipo de artigo.

Resumos estruturados

Todos os Artigos Originais, Comunicações Breves, Revisões e Relatos de Caso devem ser enviados com resumos estruturados de não mais que 250 palavras. O resumo deve ser independente e claro sem necessidade de referência ao texto, e deve ser escrito para o típico

leitor do periódico. O resumo deve incluir quatro seções que mostrem as divisões do texto principal. Todas as informações que estejam no resumo devem aparecer no manuscrito. Devem ser usadas frases completas em todas as seções o resumo.

Introdução

O artigo deve começar com uma breve introdução que coloque o estudo em perspectiva histórica e que explique seu objetivo e sua importância.

Materiais e Métodos

Os Materiais e Métodos devem ser descritos e referenciados em detalhe suficiente para que outros pesquisadores possam repetir o estudo. Devem ser apresentados os fornecedores de hormônios, produtos químicos, reagentes e equipamentos. Para métodos modificados, apenas as modificações devem ser descritas.

Resultados e Discussão

A seção Resultados deve apresentar, de forma breve, os dados experimentais em texto, tabelas e/ou figuras. Veja abaixo os detalhes sobre a preparação de tabelas e figuras. A Discussão deve ter como foco a interpretação e significância dos achados, com comentários objetivos e concisos que descrevam a relação destes achados com outros estudos na área. A Discussão não deve repetir os Resultados.

Autoria

Os AE&M seguem as diretrizes de autoria e contribuição definidas pelo International Committee of Medical Journal Editors (www.ICMJE.org). Permite-se a autoria conjunta irrestrita e um máximo de dois autores para correspondência. Os requerimentos uniformes para manuscritos submetidos a periódicos médicos declara que o crédito pela autoria deve se basear apenas em contribuições substanciais:

1. à concepção e desenho ou a análise e interpretação dos dados.
2. à composição do artigo ou sua revisão crítica com relação ao conteúdo intelectual relevante.
3. à aprovação final da versão a ser publicada. Todas estas condições devem ser respeitadas. O autor para correspondência é responsável por garantir que todos aqueles que

contribuíram adequadamente sejam listados como autores, e que todos os autores tenham concordado com o conteúdo do manuscrito e sua submissão aos AE&M.

Conflitos de interesse

Deve ser incluída, no documento principal, uma declaração de conflito de interesse para todos os autores, colocada logo após o texto, na seção Agradecimentos. Se os autores não tiverem conflitos de interesse relevantes a serem declarados, isto também deve ser indicado na seção Agradecimentos.

Agradecimentos

A seção de agradecimentos deve incluir os nomes de todas as pessoas que contribuíram para o estudo, mas não atenderam aos requerimentos necessários para a autoria. O autor para correspondência é responsável por informar a cada pessoa listada na seção de agradecimentos que ela foi incluída. Ele(a) também é responsável por fornecer a elas uma descrição da contribuição, de forma que estas pessoas saibam a atividade pela qual foram consideradas responsáveis. Cada pessoa listada nos agradecimentos deve dar permissão - por escrito, se possível - para o uso do seu nome. Estas informações são de responsabilidade do autor para correspondência.

Referências

As referências à literatura devem ser citadas em ordem numérica (entre parênteses) no texto, e devem ser listadas na mesma ordem numérica ao final do manuscrito, em uma ou mais páginas separadas. O autor é responsável pela exatidão das referências. O número de referências a serem citadas é limitado para cada categoria de artigo e está indicado acima.

Tabelas

As tabelas devem ser enviadas no mesmo formato do artigo (Word) e não em outro formato. Nota: não podemos aceitar tabelas em Excel no manuscrito. As tabelas devem ser autoexplicativas e os dados que contêm não devem ser duplicados no texto ou nas figuras. As tabelas devem ser construídas da forma mais simples possível e devem ser compreensíveis sem referência ao texto. Cada tabela deve ter um título conciso. Pode-se apresentar uma descrição das condições experimentais junto com as notas no rodapé da tabela. As tabelas não podem simplesmente duplicar o texto ou as figuras.

Figuras e legendas

Todas as figuras devem ser numeradas. Tamanho da figura: O autor é responsável por fornecer imagens de tamanho adequado e cortadas corretamente, e com espaço adequado entre elas. Figuras coloridas serão reproduzidas em cores na edição online sem custo adicional. Os autores devem pagar a reprodução de figuras coloridas na edição impressa (o editor vai fornecer o orçamento no momento do aceite do manuscrito).

Fotografias

Os AE&M prefere publicar fotos de pacientes sem máscara. Recomendamos a todos os autores interessados que trabalhem com as famílias antes da submissão e abordem o assunto da permissão para revisão e possível publicação de imagens de pacientes. Se seu artigo contém QUALQUER imagem identificável de paciente ou outra informação de saúde confidencial, É OBRIGATÓRIA a permissão do paciente (ou do seu responsável ou representante legal) por escrito antes que o material específico circule entre os editores, revisores e funcionários para a possível publicação nos AE&M. Se for necessário identificar algum paciente, recomenda-se o uso de números (por exemplo, Paciente 1), ao invés de qualquer outro tipo de indicação, como iniciais.

Unidades de medida

Os resultados devem ser expressos em unidades métricas. A temperatura deve ser expressa em graus Celsius e o horário, em relógio de 24 horas (por exemplo, 08:00h, 15:00 h).

Padronização das abreviaturas

Todas as abreviaturas devem ser imediatamente definidas depois de apresentadas pela primeira vez no texto.

Sujeitos de pesquisa experimental

Para serem consideradas para publicação, todas as investigações clínicas descritas nos manuscritos devem ser conduzidas de acordo com as diretrizes da Declaração de Helsinki, e devem ter sido formalmente aprovadas pelo comitê institucional de revisão ou seu equivalente. A população estudada deve ser descrita em detalhes. Os sujeitos devem ser identificados apenas com números ou letras, não por iniciais ou nomes. As fotografias dos rostos de pacientes devem ser incluídas apenas se forem significativas em termos científicos.

Para o uso de fotografias, os autores devem apresentar o consentimento dos pacientes por escrito. Para mais detalhes, veja as Diretrizes Éticas. Os sujeitos de pesquisa devem ser informados sobre os potenciais conflitos de interesse relacionados ao estudo e a descrição de que isso foi feito deve estar apresentada no manuscrito.

Experimentos com animais

Deve ser incluída no manuscrito uma declaração confirmando que todos os experimentos com animais descritos foram conduzidos de acordo com os padrões aceitos de bem-estar animal, como descritos nas Diretrizes Éticas.

Descrições em genética molecular

Use a terminologia padrão para variantes, apresentando os números rs para todas as variantes relatadas. Estes podem ser facilmente determinados para novas variantes descobertas no estudo. Onde forem fornecidos números rs, os detalhes do ensaio (sequência de primers, condições de PCR, etc.) devem ser apresentados de forma concisa. Os pedigrees devem ser determinados de acordo com padrões publicados (Veja Bennett et al. J Genet Counsel (2008) 17:424-433 -DOI 10.1007/s10897-008-9169-9).

Nomenclaturas

Use a notação genética e os símbolos aprovados pelo HUGO Gene Nomenclature Committee (HGNC) – (<http://www.genenames.org/>) para os genes. Para a nomenclatura de mutações, use as diretrizes sugeridas pela Human Genome Variation Society (<http://www.hgvs.org/mu-tnomen/>). Forneça informações e uma discussão sobre derivações do equilíbrio de HardyWeinberg (HWE). O cálculo do HWE pode ajudar a mostrar erros de genotipagem e o impacto em métodos analíticos downstream que considerem o HWE. Ofereça frequências genótípicas assim com a frequência alélica. Também é desejável que as frequências dos haplótipos sejam fornecidas Sempre que possível, os medicamentos devem ser indicados pelo seu nome genérico. Quando o nome comercial for usado, ele deve se iniciar com letra maiúscula. As abreviaturas devem ser usadas apenas quando estritamente necessário e explicadas na primeira vez em que forem apresentadas no texto.

Os artigos devem ser escritos em inglês claro e conciso. Evite os jargões e neologismos. Não faremos grandes correções de gramática e ortografia, o que é responsabilidade do autor. Se o inglês não for a língua nativa dos autores, o artigo deve ser

revisado por um revisor nativo de língua inglesa. Para não nativos de língua inglesa e autores internacionais que necessitem de assistência na escrita do manuscrito antes da submissão, sugerimos os serviços da Voxmed Medical Communications, American Journal Experts ou PaperCheck.

ARTIGO ORIGINAL**TERMONOCICEPÇÃO NA PROLE DE RATAS
HIPOTIREOIDIANAS: COMPROMETIMENTO DE COMPONENTES
NEUROQUÍMICOS**

TERMONOCICEPTION IN THE ROLE OF RATS HYPOTIIDS: NEUROCHEMICAL
COMPONENTS COMPROMISING

Amanda Gontijo Moreira¹, Daniel Badauê Passos Junior¹ Iura Gonzalez Nogueira Alves¹

¹ Departamento de Medicina, Universidade Federal de Sergipe (UFS), Aracaju, SE, Brasil.

Correspondências para:

Amanda Gontijo Moreira

Rua Permínio de Souza, 316

49055-530, Aracaju- SE, Brasil.

amandagontijo94@gmail.com

(79) 9 9109-8983

Título abreviado: Termonocicepção no hipotireoidismo gestacional

Palavras-chave: Termonocicepção. Hipotireoidismo Gestacional. Componentes neuroquímicos

Número de Palavras:

Tipo de artigo: artigo original

1 RESUMO

2

3 **Objetivo:** Investigar as repercussões do hipotireoidismo gestacional experimental (HGE) nos
4 sistema neuroquímicos encefálicos na prole de ratas aos 60 dias pós-natal. **Materiais e**
5 **métodos:** Para a indução de HGE foi utilizado o metimazol (MTZ) 0,02% na água de beber a
6 partir do 9º dia de gestação até o dia do parto. Aos 60 dias pós-natal (DPN), os machos da
7 prole de mães eu- (PME; controle) e hipotireoidianas (PMH) foram submetidos à avaliação da
8 nocicepção supraespinhal, por meio da exposição ao aparato da placa quente a $52\pm 0,2$ °C, e
9 da medida do lapso de tempo entre a exposição e a manifestação de lambida vigorosa da pata
10 traseira. Os testes foram realizados a nível basal e após administração i.p. de alpha-methy p-
11 tirosina (AMPT), inibidor da tirosina hidroxilase (TH) (nos tempos 0 e 3 h após a injeção).
12 Ademais, foi realizada a quantificação de neurônios da porção ventrolateral da substância
13 cinzenta periaquedutal (PAGvl) imunomarcados pela TH e a quantificação de glutamato no
14 líquido. ANOVA de 3- ou 2-vias de medidas repetidas, Bonferroni e *Student t test* foram
15 utilizados quando apropriados. **Resultados:** A quantificação de glutamato no líquido revelou a
16 redução do conteúdo deste neurotransmissor na PMH ($p < 0.01$). A inibição da TH não alterou
17 a resposta comportamental termnociceptiva. Da mesma forma, o número de neurônios TH-
18 positivos na PAGvl não diferiu entre os grupos. **Conclusão:** A ausência de HTs maternos,
19 exclusivamente na vida intrauterina, afeta componentes neuroquímicos de controle termo-
20 nociceptivo e pode provocar desordens termo-nociceptivas que atualmente são de origem
21 desconhecida.

22

23 **Palavras-chave:** Hipotireoidismo gestacional, Nocicepção, Glutamato, Catecolamina,
24 Imunomarcção.

25 **ABSTRACT**

26

27 **Objective:** To investigate the repercussions of experimental gestational hypothyroidism (I) on
28 the neurochemical brain system in the rat prosthesis at 60 days postnatal. **Materials and**
29 **methods:** For the induction of I, 0.02% methimazole (MTZ) was used in drinking water from
30 the 9th day of gestation until the day of delivery. At 60 days postnatal (TLD), the male
31 offspring of I (PME) and hypothyroid (PMH) mothers underwent a supra-spinal nociception
32 evaluation by means of exposure to the hot plate apparatus at 52 ± 0.2 ° C, and the
33 measurement of the time interval between exposure and vigorous licking of the hind paw. The
34 testes were basally achieved and after i.p. of alpha-methyl-p-tyrosine (AMPT), tyrosine
35 hydroxylase (TH) inhibitor (at 0 and 3 h post injection). Quantification of the lateral ventral
36 portion of the periaqueductal gray matter (PAGv1) immunolabelled by TH and the
37 quantification of glutamate in the cerebrospinal fluid was performed. 3 – way or 2 – way
38 ANOVA, Bonferroni and Student ‘s t test were investigated when. **Results:** The
39 quantification of glutamate in the liquid reduced the content of this neurotransmitter in PMH
40 ($p < 0.01$). Inhibition of HT did not alter the thermocceptive behavioral response. Likewise,
41 the number of TH-positive neurons in PAGv1 did not differ between groups. **Conclusion:**
42 Absence of maternal HTs, exclusively in intrauterine life, under the neurochemical principle
43 of thermo-nociceptive control and can provoke thermo-nociceptive disorders that are of
44 unknown origin.

45

46 **Key-works:** Gestational hypothyroidism, Nociception, Glutamate, Catecholamine,
47 Immunmarcation.

48 **INTRODUÇÃO**

49

50 Ao longo dos últimos anos, tem sido dado um relevante valor ao estudo das consequências de
51 eventos ocorridos durante a vida intrauterina como determinantes de alterações dos padrões
52 de funcionamento dos sistemas fisiológicos de controle, sobretudo na vida pós-natal, sendo
53 muitas vezes consideradas causas de doença por hora sem etiologia conhecida.

54 As alterações fisiológicas, metabólicas e neuroendócrinas ocorridas no decorrer da gestação
55 resultam em uma reprogramação permanente no padrão de desenvolvimento celular que pode
56 resultar em doenças na vida adulta (1);(2).

57 A disfunção tireoidiana durante a gestação é o segundo distúrbio mais comum, ficando atrás
58 apenas do diabetes problema de saúde público ainda pouco assistido, com diversas
59 controversas acerca de triagem, avaliação e controle (3). Sua prevalência varia de 5,5% a 15%
60 (4); (5). Como o feto ainda não consegue suprir toda sua necessidade de hormônios
61 tireoidianos, a oferta materna é essencial para o bom desenvolvimento de sistemas como o
62 sistema nervoso central (6). A deficiência desses hormônios no período intrauterino e pós-
63 natal leva a hipoplasia neuronal, atrasa a mielinização, reduz a vascularização e as sinapses
64 (7); (8); (9) (10); (11); (12); (13); (14); (15); (16), além de redução do desempenho e de
65 habilidades cognitivas (17)). Dados pioneiros foram publicados pelo nosso grupo acerca da
66 nocicepção da prole de mães hipotireoideas. Nesse estudo evidenciou-se experimentalmente
67 que ratos filhos de mães hipotireoideas apresentam hipersensibilidade térmica na vida
68 neonatal até a adulta (18). No entanto, mesmo com tais evidências, não é consenso entre as
69 sociedades de endocrinologia a dosagem desses hormônios, e é importante destacar que isso
70 pode levar a não diagnosticar e tratar de 33 a 81% das mulheres gestantes com
71 hipotireoidismo (19); (20); (21); (22); (23). E, embora tenha aumentado os estudos acerca das
72 alterações uterinas e suas repercussões na vida adulta, pouco se tem feito para buscar
73 ativamente essas alterações e reduzir maiores danos à prole.

74 MATERIAIS E MÉTODOS

75

76 Trata-se de um estudo experimental em que foram utilizados três grupos de ratos Wistar
77 obtidos do Biotério Central da Universidade Federal de Sergipe. Grupo 1: Fêmeas adultas
78 (150 a 200g) que foram acompanhadas para acasalamento programado. Após o acasalamento,
79 e confirmada a gestação, foram submetidas ao protocolo de indução de hipotireoidismo
80 gestacional (grupo metimazol –MTZ) ou receberam água de torneira (grupo controle); Grupo
81 2: Machos adultos(250 a 300g) para acasalamento com as fêmeas; Grupo 3: ratos machos com
82 60 dias pós-natais (DPN) filhos de mães eu ou hipotireoideas.

83 As fêmeas antes de estarem gestantes tinham seu ciclo estral analisado diariamente por
84 colpocitologia para que na fase de proestro fossem expostas aos ratos machos para
85 acasalamento. A confirmação do coito era feita no dia seguinte por meio de visualização de
86 espermatozoide no lavado vaginal. Confirmado o coito, cada fêmea era individualizada em
87 todo período de gestação, parto e amamentação. No 3ºDPN os filhotes eram sexados e
88 mantidos em ninhadas de número de 8 para amamentação. No 21º DPN eram desmamados, os
89 machos foram separados em grupos de 5 animais por caixa, e as fêmeas eutanasiadas por
90 overdose com tiopental 100mg/kg. Durante todo o experimento os animais tiveram acesso
91 livre a água e ração própria para roedores, foram mantidos em sala de manutenção no
92 laboratório de Neuroendocrinologia Básica e Comportamental(LANBAC) com iluminação
93 controlada de ciclo claro/escuro 12/12h e temperatura de 23±2 °C. Todos os procedimentos
94 realizados estavam de acordo com as normas e princípios éticos pela Lei Arouca e aprovados
95 pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais (CEPA) da UFS, sob o número 29/12.

96 O metimazol a 0,02%, inibidor da iodoperoxidase, foi a droga de escolha para a indução do
97 hipotireoidismo gestacional experimental, administrado *ad libitum* na água de beber a partir
98 do nono dia gestacional (DG) até o dia do parto (24). Esta concentração ofertada por 10 dias é
99 suficiente para gerar o HG, visto através da redução dos níveis de T3 e T4 totais (25). O grupo
100 de fêmeas controle recebeu água de torneira *ad libitum*.

101 Inicialmente os animais foram anestesiados com ketamina (90mg/kg) e xilazina (10mg/kg)
102 por injeção intraperitoneal, verificada a cessação dos estímulos raquimedulares, realizou-se
103 uma incisão longitudinal desde a região púbica até a incisura jugular para retirada da pele e
104 visualização dos músculos. Outra incisão foi feita na região púbica em direção ao processo

105 xifoide para visualização do diafragma após a retirada do músculo. Realizou-se uma pequena
106 incisão no diafragma para exposição da caixa torácica, em seguida, deslocou-se o pulmão
107 permitindo livre acesso ao coração. Após isso, injetou-se no ventrículo esquerdo uma agulha
108 sem bisel conectada a um sistema de perfusão com o objetivo de trocar o tecido sanguíneo por
109 uma solução salina 0,9% tamponada à temperatura ambiente, por 5 minutos a um fluxo de
110 8ml/min. Após esse tempo, a solução salina foi substituída por solução de Formol 10%
111 tamponado à temperatura ambiente por 40 minutos, no mesmo fluxo anterior.

112 Posteriormente, os animais foram decaptados e foi feita uma incisão média na cabeça para
113 retirada de pele e subcutâneo e exposição da calota craniana. Em seguida, abriu-se a calota e a
114 duramater, o encéfalo foi exposto e retirado e submetido a um processo de pós-fixação através
115 de imersão por 2 horas na solução de formol utilizada na perfusão.

116 Por fim, o cérebro foi armazenado em solução de sacarose a 30% tamponada por 48 72 horas
117 até completa precipitação à temperatura de -4°C.

118 Após a precipitação completa dos cérebros, foram levados ao criostato (Leica CM1520), a -20°C
119 para a obtenção de secções seriadas coronais do mesencéfalo com 20µm de espessura através da
120 substância cinzenta periaquedutal ventrolateral (PAGvl) guiada pelo estereotáxico.

121 Os fragmentos cerebrais a serem avaliadas foram processados em flutuação à temperatura de 22°C
122 e lavadas, inicialmente, em solução fosfato salina (0,01 M), PBS (cinco lavagens de 5 minutos
123 casa). Essa lavagem também ocorria e após a exposição a cada reagente. Posteriormente, o
124 material foi incubado em uma solução de soro de cavalo a 10% e Triton X-100 (0,1%) diluído em
125 PBS para bloqueio de ligações inespecíficas.

126 Após esse bloqueio, o material foi submetido a lavagens com anticorpos primários contra tirosina
127 hidroxilase (policlonal, produzido em coelho, Sigma Aldrech – Lote: SLBK118V) na diluição
128 1:5000, *overnight*. Após o período de exposição aos anticorpos primários, os cortes foram
129 incubados com os anticorpos secundários anti-coelho produzido em burro e conjugado ao
130 Alexa Fluor 488 (policlonal, Life Technologies) 1:2000 em solução de PBS (0,01 M)
131 contendo Triton (0,1%), durante duas horas.

132 Por fim, as lâminas gelatinizadas foram montadas com o material, cobertas por 70µL de
133 solução de montagem e lamínulas, vedados com tinta esmalte, e levadas ao microscópio
134 eletrônico do LANBAC no departamento de fisiologia da UFS.

135 Foi utilizado um sistema computadorizado com microscópico (Nikon Eclipse Ci 45505) acoplado
136 a uma câmera de vídeo (Nikon DS Ril) para captura e digitalização das imagens das áreas
137 cerebrais. Após a captura, as áreas foram devidamente delimitadas, e as células com citoplasma
138 positivo para tirosina hidroxilase foram contadas manualmente por 3 avaliadores cegos, não
139 havendo diferença significativa entre a contagem dos mesmos (ANOVA two-way, fator
140 avaliador $p > 0,05$).

141 Aos 60DPN os machos filhos de mães hipo e eutireoideas foram submetidos ao aparato de placa
142 quente (aquecida a $52 \pm 0,2$ °C) para avaliação da nocicepção. A resposta ao estímulo doloroso foi
143 analisada por meio da medida do lapso de tempo entre a aplicação do estímulo térmico e o
144 momento da lambida da pata traseira. Os filhotes foram analisados novamente 3 horas após a
145 aplicação intraperitoneal do inibidor da tirosina hidroxilase (Alpha Methyl Para-Tirosina-AMPT,
146 100 mg/kg, i.p.; Sigma Chemical Company) dose única (26). O AMPT inibe a TH, enzima
147 limitante para a biossíntese das catecolaminas (27). Todos os animais foram filmados e seu
148 comportamento avaliado posteriormente por um avaliador cego.

149 A quantificação do glutamato no líquido cerebrospinal foi feita pelo método de cromatografia
150 líquida de alta eficiência (HPLC) com alíquotas de sobrenadante isento de células. As amostras
151 foram derivatizadas com o-phthalaldehyde e a separação foi realizada com uma coluna de fase
152 inversa (Supelcosil LC-18, 250 mm \times 4,6 mm, Supelco) em parceria com o Prof. Dr. Diogo
153 Onofre da UFRGS.

154

155 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

156

157 Neste estudo, não foi observada nenhuma diferença no comportamento nociceptivo na
158 placa quente das PMH e PME no tempo basal e três horas após a administração do inibidor da
159 tirosina hidroxilase, o AMPT. Os dados são mostrados em $\text{media} \pm \text{EPM}$. *Anova two-way*,
160 seguido do Bonferroni *post hoc test*. (FIGURA 1).

161 Em relação à quantificação de neurônios positivos para tirosina hidroxilase (TH) na
162 substância cinzenta periaquedutal ventrolateral (PAGvl) também não se observou diferenças
163 entre os grupos. Dados são mostrados em $\text{media} \pm \text{EPM}$. *Student t test*. (FIGURA 2).

164 Sabendo-se que as catecolaminas são de importante participação na cascata da
165 resposta nociceptiva, a utilização de um inibidor da tirosina hidroxilase –AMPT-, enzima
166 participante da cascata de produção das catecolaminas (27), para análise nociceptiva da PMH
167 torna-se de extremamente interessante. Até o presente momento, nenhum estudo avaliou a
168 influência dos HTs na formação dessas catecolaminas, nem a influência do HG na nocicepção
169 da prole. Então, de acordo com nossos achados a carência desses hormônios maternos
170 aparentemente não afeta a circuitaria catecolaminérgica nociceptive, visto que não observamos
171 diferença significativa entre a PMH e PME após a inibição da TH e na contagem neuronal
172 com expressão de TH na PAG. Porém, nosso estudo realizou a administração sistêmica de
173 AMPT, assim, os efeitos provocados em outros sistemas podem ter contribuído para a
174 ausência de resposta. Estudos, então, com aplicação direta do inibidor no SNC podem
175 eliminar esse vies e permitir uma avaliação mais efetiva.

176 Já em relação à quantificação de glutamato no líquido cefalorraquidiano (LCR) houve
177 redução de glutamato no líquido da PMH quando comparado ao grupo controle ($4,32 \pm 0,71$ vs
178 $2,11 \pm 0,14$, $p < 0.01$). *Student t test*. (FIGURA 3)

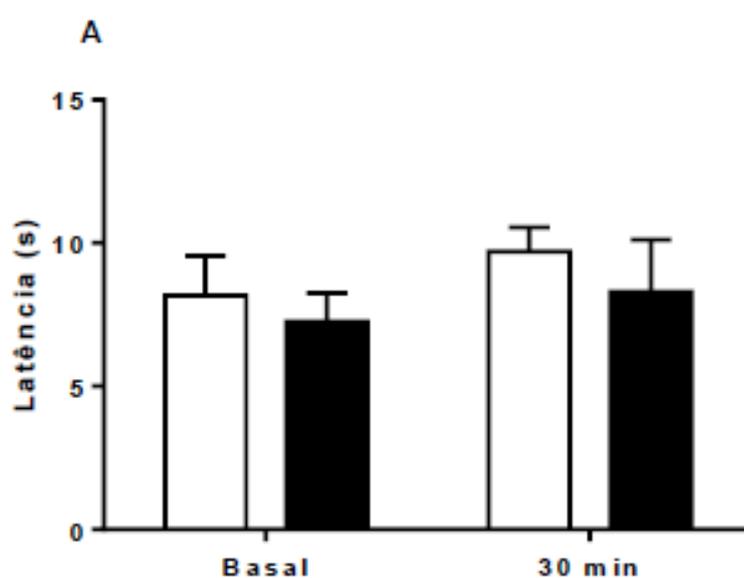
179 Em estudo prévio, como evidenciamos hiperalgesia térmica no *tail flick*, o esperado
180 seria encontrar um aumento do conteúdo de glutamate no LCR por ser um estimulante do
181 SNC. Porém, é válido ressaltar a interação que ocorre entre os HTs e o glutamato. Estudo
182 demonstrou redução da liberação de glutamato no cérebro de ratos devido a hipotireoidismo
183 cirúrgico (28);(29). Em contrapartida, um estudo em humanos mostra maior concentração de
184 glutamato no córtex cingulado anterior de 18 pacientes hipotireoideos (30), resultado
185 condizente com o de Yi et al., (2014)(31), que encontrou aumento da transmissão sináptica
186 glutamatérgica e redução da gabaérgica no cortex cingulado anterior (CCA) de ratos com
187 hipotireoidismo induzido por MTZ associado a perclorato de potássio na água de beber por 4
188 semanas. Os autores acreditam que isso ocorra, em parte, devido ao aumento da expressão de
189 receptores de glutamato e redução dos GABA. Isso porque estes autores já haviam encontrado
190 uma *up-regulation* da subunidade GluR1 do receptor AMPA e da subunidade NR2B do
191 NMDA em neurônios do CCA e *down-regulation* da subunidade $\alpha 2$ dos receptores GABA.

192 Dessa forma, é possível que mesmo em concentração reduzida de glutamato, o
193 aumento na expressão de seus receptores promova um aumento na transmissão sináptica
194 excitatória compensatória a redução do glutamato no liquor ou resultado do hipotireoidismo

195 materno. Resultando na hiperalgesia térmica observada no *tail flick*. Além disso, as alterações
196 gabaérgicas também merecem atenção para não perdermos o balance excitatório/inibitório tão
197 importante para a resposta nociceptiva. Para isso, estudos utilizando técnicas como Western
198 Blotting podem contribuir para elucidar essas alterações.

199 GRÁFICOS E FIGURAS

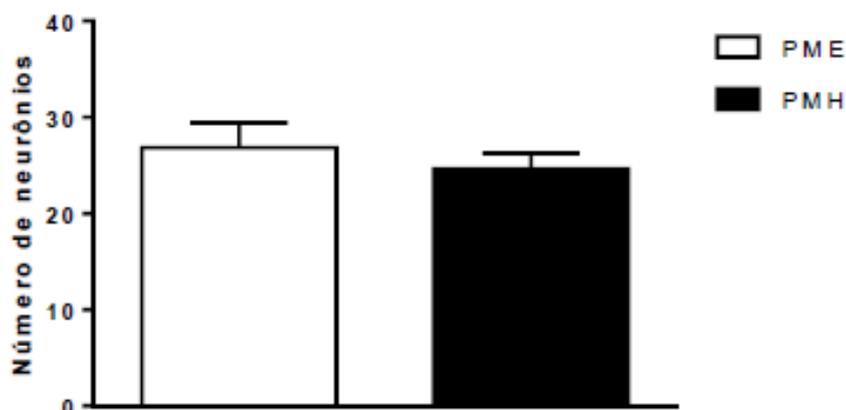
200



201

FIGURA 1: Efeito do HGE na nocicepção térmica (A) na placa quente da prole aos 60 DPN antes e 3 horas após a injeção i.p. de AMPT. Grupo Controle (prole de mães eutireóideas [PME], n=10) e Grupo Hipotireoidismo (prole de mães hipotireóideas [PMH], n=10). Dados são mostrados em $\text{media} \pm \text{EPM}$. *Anova two-way*, seguido do Bonferroni *post hoc test*.

202

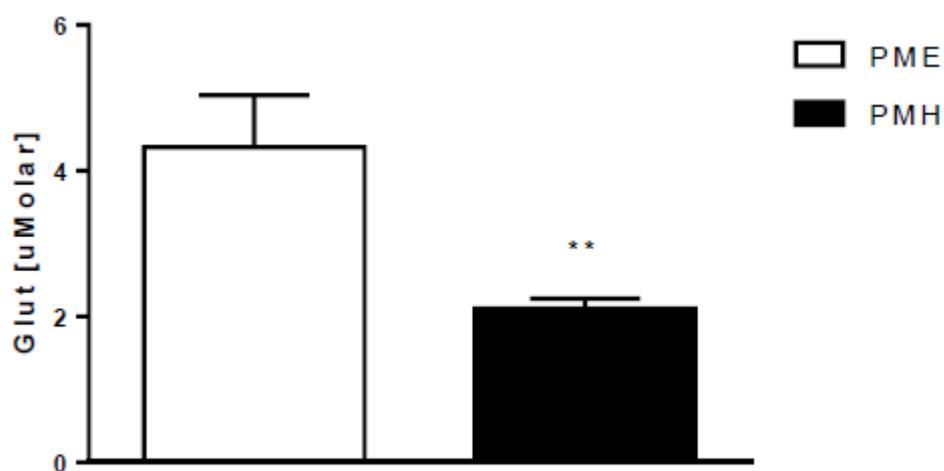


203

204 FIGURA 2: Efeito do HGE no número de neurônios positivos para Tirosina hidroxilase na
205 PAG ventrolateral aos 60 DPN. Grupo Controle (prole de mães eutireóideas [PME], n=6) e
206 Grupo Hipotireoidismo (prole de mães hipotireóideas [PMH], n=6). Dados são mostrados em
207 media±EPM. *Student t test*.

208

209



210

211

212 FIGURA 3: Efeito do HGE no conteúdo de glutamato no LCR na prole aos 60 DPN. Grupo
213 Controle (prole de mães eutireóideas [PME] n=6) e Grupo Hipotireoidismo (prole de mães
214 hipotireóideas [PMH], n=6). $p < 0.01$, *Student t test*.

215 FONTE DE FINANCIAMENTO

216 PJT-IC, CAPES, FAPITEC/SE e CNPq

217

218 CONFLITO DE INTERESSES

219 Este trabalho não possui conflito de interesses.

220

221 AGRADECIMENTOS

222 Ao laboratório de Neuroendocrinologia Básica e Comportamental (LANBAC) da

223 UFS.

224 **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

225

- 226 1. Fowden, A.L., Forhead, A.J., 2004. Endocrine mechanisms of intrauterine
227 programming. *Reprod. Camb. Engl.* 127, 515–526. doi:10.1530/rep.1.00033
228
- 229 2. Warner, M.J., Ozanne, S.E., 2010. Mechanisms involved in the developmental
230 programming of adulthood disease. *Biochem. J.* 427, 333–347.
231 doi:10.1042/BJ20091861
232
- 233 3. Gharib, H., Tuttle, R.M., Baskin, H.J., Fish, L.H., Singer, P.A., McDermott, M.T.,
234 American Association of Clinical Endocrinologists, American Thyroid Association,
235 Endocrine Society, 2005. Consensus Statement #1: Subclinical thyroid dysfunction: a
236 joint statement on management from the American Association of Clinical
237 Endocrinologists, the American Thyroid Association, and The Endocrine Society.
238 *Thyroid Off. J. Am. Thyroid Assoc.* 15, 24–28–33. doi:10.1089/thy.2005.15.24
239
- 240 4. Blatt, A.J., Nakamoto, J.M., Kaufman, H.W., 2012. National status of testing for
241 hypothyroidism during pregnancy and postpartum. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*
242 97, 777–784. doi:10.1210/jc.2011-2038
243
- 244 5. Ong, G.S.Y., Hadlow, N.C., Brown, S.J., Lim, E.M., Walsh, J.P., 2014a. Does the
245 thyroid-stimulating hormone measured concurrently with first trimester biochemical
246 screening tests predict adverse pregnancy outcomes occurring after 20 weeks
247 gestation? *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 99, E2668–2672. doi:10.1210/jc.2014-1918
248
- 249 6. Gärtner, R., 2009. Thyroid diseases in pregnancy. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 21,
250 501–507. doi:10.1097/GCO.0b013e328332a836
251
- 252 7. Ausó, E., Lavado-Autric, R., Cuevas, E., Del Rey, F.E., Morreale De Escobar, G.,
253 Berbel, P., 2004. A moderate and transient deficiency of maternal thyroid function at
254 the beginning of fetal neocortico-genesis alters neuronal migration. *Endocrinology* 145,
255 4037–4047. doi:10.1210/en.2004-0274
256
257
- 258 8. Berbel, P., Ausó, E., García-Velasco, J.V., Molina, M.L., Camacho, M., 2001. Role of
259 thyroid hormones in the maturation and organisation of rat barrel cortex. *Neuroscience*
260 107, 383–394.
261
- 262 9. Berbel, P., Guadaño-Ferraz, A., Angulo, A., Ramón Cerezo, J., 1994. Role of thyroid
263 hormones in the maturation of interhemispheric connections in rats. *Behav. Brain Res.*
264 64, 9–14.

- 265 10. Chen, C., Zhou, Z., Zhong, M., Zhang, Y., Li, M., Zhang, L., Qu, M., Yang, J., Wang,
266 Y., Yu, Z., 2012. Thyroid hormone promotes neuronal differentiation of embryonic
267 neural stem cells by inhibiting STAT3 signaling through TRa1. *Stem Cells Dev.* 21,
268 2667–2681. doi:10.1089/scd.2012.0023
269
- 270 11. Gilbert, M.E., Sui, L., Walker, M.J., Anderson, W., Thomas, S., Smoller, S.N., Schon,
271 J.P., Phani, S., Goodman, J.H., 2007. Thyroid hormone insufficiency during brain
272 development reduces parvalbumin immunoreactivity and inhibitory function in the
273 hippocampus. *Endocrinology* 148, 92–102. doi:10.1210/en.2006-0164
274
- 275 12. Goodman, J.H., Gilbert, M.E., 2007. Modest thyroid hormone insufficiency during
276 development induces a cellular malformation in the corpus callosum: a model of
277 cortical dysplasia. *Endocrinology* 148, 2593–2597. doi:10.1210/en.2006-1276
278
- 279 13. Martínez-Galán, J.R., Pedraza, P., Santacana, M., Escobar del Ray, F., Morreale de
280 Escobar, G., Ruiz-Marcos, A., 1997. Early effects of iodine deficiency on radial glial
281 cells of the hippocampus of the rat fetus. A model of neurological cretinism. *J. Clin.*
282 *Invest.* 99, 2701–2709. doi:10.1172/JCI119459
283
- 284 14. Mohan, V., Sinha, R.A., Pathak, A., Rastogi, L., Kumar, P., Pal, A., Godbole, M.M.,
285 2012. Maternal thyroid hormone deficiency affects the fetal neocortico-genesis by
286 reducing the proliferating pool, rate of neurogenesis and indirect neurogenesis. *Exp.*
287 *Neurol.* 237, 477–488. doi:10.1016/j.expneurol.2012.07.019
288
- 289 15. Thompson, C.C., Potter, G.B., 2000. Thyroid hormone action in neural development.
290 *Cereb. Cortex N. Y. N* 10, 939–945.
291
- 292 16. Wang, W., Teng, W., Shan, Z., Wang, S., Li, J., Zhu, L., Zhou, J., Mao, J., Yu, X., Li,
293 J., Chen, Y., Xue, H., Fan, C., Wang, H., Zhang, H., Li, C., Zhou, W., Gao, B., Shang,
294 T., Zhou, J., Ding, B., Ma, Y., Wu, Y., Xu, H., Liu, W., 2011. The prevalence of
295 thyroid disorders during early pregnancy in China: the benefits of universal screening
296 in the first trimester of pregnancy. *Eur. J. Endocrinol. Eur. Fed. Endocr. Soc.* 164,
297 263–268. doi:10.1530/EJE-10-0660
298
- 299 17. Shibutani, M., Woo, G.-H., Fujimoto, H., Saegusa, Y., Takahashi, M., Inoue, K.,
300 Hirose, M., Nishikawa, A., 2009. Assessment of developmental effects of
301 hypothyroidism in rats from in utero and lactation exposure to anti-thyroid agents.
302 *Reprod. Toxicol. Elmsford N* 28, 297–307. doi:10.1016/j.reprotox.2009.04.011
303
304

- 305 18. Alves, I.G.N., da Cruz, K.M.L., Mota, C.M.D., de Santana, D.S., Gaujac, D.P., de
306 Carvalho, V.C.B., Reis, L.C., Sluka, K.A., Quintans-Junior, L.J., Antonioli, A.R.,
307 Desantana, J.M., Badauê- Passos, D., Jr, de Santana-Filho, V.J., 2013. Experimental
308 hypothyroidism during pregnancy affects nociception and locomotor performance of
309 offspring in rats. *Eur. J. Pain Lond. Engl.* doi:10.1002/j.1532-2149.2013.00306.x
310
- 311 19. Horacek, J., Spitalnikova, S., Dlabalova, B., Malirova, E., Vizda, J., Svilias, I.,
312 Cepkova, J., Mc Grath, C., Maly, J., 2010. Universal screening detects two-times more
313 thyroid disorders in early pregnancy than targeted high-risk case finding. *Eur. J.*
314 *Endocrinol. Eur. Fed. Endocr. Soc.* 163, 645–650. doi:10.1530/EJE-10-0516
315
- 316 20. Jiskra, J., Bartáková, J., Holinka, Š., Límanová, Z., Springer, D., Antošová, M.,
317 Telicka, Z., Potluková, E., 2011. Low prevalence of clinically high-risk women and
318 pathological thyroid ultrasound among pregnant women positive in universal
319 screening for thyroid disorders. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes Off. J. Ger. Soc.*
320 *Endocrinol. Ger. Diabetes Assoc.* 119, 530–535. doi:10.1055/s-0031-1284369
321
- 322 21. Vaidya, B., Anthony, S., Bilous, M., Shields, B., Drury, J., Hutchison, S., Bilous, R.,
323 2007. Detection of thyroid dysfunction in early pregnancy: Universal screening or
324 targeted high-risk case finding? *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 92, 203–207.
325 doi:10.1210/jc.2006-1748
326
- 327 22. Wang, Y., Dong, J., Wang, Y., Wei, W., Song, B., Shan, Z., Teng, W., Chen, J., 2016.
328 Developmental Hypothyroxinemia and Hypothyroidism Reduce Parallel Fiber-
329 Purkinje Cell Synapses in Rat Offspring by Downregulation of
330 Neurexin1/Cbln1/GluD2 Tripartite Complex. *Biol. Trace Elem. Res.*
331 doi:10.1007/s12011-016-0664-9
332
- 333 23. Yang, H., Shao, M., Chen, L., Chen, Q., Yu, L., Cai, L., Lin, Z., Zhang, C., Lu, X.,
334 2014. Screening strategies for thyroid disorders in the first and second trimester of
335 pregnancy in China. *PloS One* 9, e99611. doi:10.1371/journal.pone.0099611
336
- 337 24. Sala-Roca, J., Martí-Carbonell, M.A., Garau, A., Darbra, S., Balada, F., 2002. Effects
338 of dysthyroidism in plus maze and social interaction tests. *Pharmacol. Biochem.*
339 *Behav.* 72, 643–650.
340
- 341 25. Ahmed, O.M., Abd El-Tawab, S.M., Ahmed, R.G., 2010. Effects of experimentally
342 induced maternal hypothyroidism and hyperthyroidism on the development of rat
343 offspring: I. The development of the thyroid hormones-neurotransmitters and
344 adenosinergic system interactions. *Int. J. Dev. Neurosci. Off. J. Int. Soc. Dev.*
345 *Neurosci.* 28, 437–454. doi:10.1016/j.ijdevneu.2010.06.007
346

- 347 26. Bobinski, F., Ferreira, T.A.A., Córdova, M.M., Dombrowski, P.A., da Cunha, C.,
348 Santo, C.C. do E., Poli, A., Pires, R.G.W., Martins-Silva, C., Sluka, K.A., Santos,
349 A.R.S., 2015. Role of brainstem serotonin in analgesia produced by low-intensity
350 exercise on neuropathic pain after sciatic nerve injury in mice. *Pain* 156, 2595–
351 2606. doi:10.1097/j.pain.0000000000000372
352
- 353 27. Daubner, S.C., Le, T., Wang, S., 2011. Tyrosine hydroxylase and regulation of
354 dopamine synthesis. *Arch. Biochem. Biophys.* 508, 1–12.
355 doi:10.1016/j.abb.2010.12.017
356
- 357 28. Lee, P.R., Brady, D., Koenig, J.I., 2003. Thyroid hormone regulation of N-methyl-D-
358 aspartic acid receptor subunit mRNA expression in adult brain. *J. Neuroendocrinol.*
359 15, 87–92.
360
- 361 29. Shuaib, A., Ijaz, S., Hemmings, S., Galazka, P., Ishaqzay, R., Liu, L., Ravindran, J.,
362 Miyashita, H., 1994. Decreased glutamate release during hypothyroidism may
363 contribute to protection in cerebral ischemia. *Exp. Neurol.* 128, 260–265.
364 doi:10.1006/exnr.1994.1135
365
- 366 30. Zhang, Q., Bai, Z., Gong, Y., Liu, X., Dai, X., Wang, S., Liu, F., 2015. Monitoring
367 glutamate levels in the posterior cingulate cortex of thyroid dysfunction patients with
368 TE-averaged PRESS at 3T. *Magn. Reson. Imaging* 33, 774–778.
369 doi:10.1016/j.mri.2015.03.004
370
- 371 31. Yi, J., Zheng, J., Zhang, W., Wang, S., Yang, Z., Dou, K., 2014. Decreased pain
372 threshold and enhanced synaptic transmission in the anterior cingulate cortex of
373 experimental hypothyroidism mice. *Mol. Pain* 10, 38. doi:10.1186/1744-8069-10-38
374