



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

DANIEL BARBA CAVALCANTI

**INFLUÊNCIA DO HIPOTIREOIDISMO GESTACIONAL EXPERIMENTAL SOBRE
A SOBREVIVÊNCIA E GRAVIDADE DA PROLE SUBMETIDA A UM MODELO DE
SEPSE**

ARACAJU

2019

DANIEL BARBA CAVALCANTI

**INFLUÊNCIA DO HIPOTIREOIDISMO GESTACIONAL EXPERIMENTAL SOBRE
A SOBREVIVÊNCIA E GRAVIDADE DA PROLE SUBMETIDA A UM MODELO DE
SEPSE**

Monografia apresentada ao Departamento de Medicina da
Universidade Federal de Sergipe como exigência parcial para
a obtenção do grau de Bacharel em Medicina.

Orientadora: Profa. Dra. Patricia Rabelo dos Santos

Coorientador: Prof. Dr. Daniel Badauê Passos Júnior

Autor: Daniel Barba Cavalcanti

Orientadora: Prof^ª. Dra. Patricia Rabelo dos Santos

ARACAJU

2019

DEDICATÓRIA

A Deus e à minha família.

AGRADECIMENTOS

A Deus que, achando pouco me agraciar com o dom da vida, está comigo todo o tempo guiando meus passos e me abençoando em todas as áreas de minha vida.

A minha família, por me proporcionar um lar cheio de amor e união por toda a vida, além de constante incentivo aos estudos e ao desenvolvimento pessoal. Nada pode comprar tamanho privilégio. Serei eternamente grato por tê-los comigo.

A minha orientadora, Dra. Patrícia Rabelo. Muito obrigado por me permitir fazer parte dessa etapa tão importante da sua carreira acadêmica. Foram quase dois anos de trabalho intenso, muitos experimentos e muitas histórias pra contar. Tenho grande admiração pela sua garra, inteligência e inesgotável energia para realizar seus propósitos, e sempre torcerei pelo seu sucesso.

Ao LANBAC (Laboratório de Neuroendocrinologia Básica e Comportamental), chefiado por meu professor e co-orientador Dr. Daniel Badauê. Obrigado por me concederem a oportunidade de participar de projetos de tão elevada qualidade. A experiência adquirida foi fundamental a minha iniciação no meio científico e à minha formação profissional. Guardarei sempre comigo os bons momentos juntos.

A todos os professores que em algum momento de minha estiveram presentes, sem vocês nenhuma formação é possível. Muito obrigado por nos guiarem e inspirarem ao longo de toda essa caminhada.

E, finalmente, agradeço a todos os meus amigos e colegas por serem uma verdadeira família nessa jornada que é a faculdade. Dos mais próximos aos mais distantes, sempre estivemos juntos e nos ajudando ao longo desses anos. Espero que a vida profissional seja tão leve quanto foi com vocês.

EPÍGRAFE

Ó profundidade da riqueza, tanto da sabedoria como da ciência de Deus! Quão insondáveis são os seus juízos, e quão inescrutáveis os seus caminhos!

Romanos 11:33

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Análise da massa corpórea das PMH em relação a das PME aos 7 DPN (Painel A), 14 DPN (Painel B), 21 DPN (Painel C), 30 DPN (Painel D) e 60 DPN (Painel E).....	35
Figura 2: Análise da repercussão do hipotireoidismo gestacional experimental na sobrevivência de camundongos à sepse polimicrobiana induzida pelo método CLP.....	36
Figura 3: Análise do Escore Clínico Geral das PME e PMH (Sham e Sepses) ao longo da linha de tempo experimental.....	37

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AACE	American Association of Clinical
ANOVA	Análise de variância
ATA	American Thyroid Association
CEPA	Comitê de Ética em Pesquisa com Animais
CLP	Cecal Ligation and Puncture
DG	Dia gestacional
DPN	Dias pós-natal
EA	Encefalomielite autoimune
EPM	Erro padrão da média
GH	Hormônio de crescimento
hCG	Gonadotrofina coriônica humana
HGE	Hipotireoidismo gestacional experimental
HHT	Hipotálamo-hipófise-tireoide
HT	Hormônios tireoidianos
MMS	Murine sepsis score
MTZ	Metimazol
PME	Proles de mães eutireoideanas
PMH	Proles de mães hipotireoideanas
PTU	Propiltiouracil
qSOFA	Quick SOFA
SUS	Sistema Único de Saúde
SOFA	Sequential Organ Failure Assessment

T3	Triiodotironina
T4	Tetraiodotironina
TG	Tratamento gestacional
TRH	Hormônio liberador da tireotrofina
TSH	Hormônio tireoestimulante
TBG	Proteína transportadora da tiroxina
UFS	Universidade Federal de Sergipe
VB	Versão brasileira
VB-MSS	Versão Brasileira do Murine Sepsis Score

SUMÁRIO

1	REVISÃO DE LITERATURA	10
1.1	PROGRAMAÇÃO FETAL	10
1.2	HORMÔNIOS TIREOIDIANOS.....	10
1.3	FUNÇÃO TIREOIDIANA NA GESTAÇÃO	11
1.4	HORMÔNIOS TIREOIDIANOS E SISTEMA IMUNOLÓGICO.....	13
1.5	SEPSE	13
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	15
2	NORMAS DE PUBLICAÇÃO	18
3	ARTIGO ORIGINAL	28
	Resumo.....	29
	Introdução.....	30
	Métodos.....	31
	Resultados.....	34
	Discussão.....	35
	Conclusão.....	38
	Referências.....	40

1 REVISÃO DE LITERATURA

1.1 PROGRAMAÇÃO FETAL

Na década de 1990, o médico e epidemiologista David James Porslove Barker (1938-2013), após realizar diversos estudos epidemiológicos retrospectivos propôs a teoria de que alterações placentárias e do desenvolvimento fetal estão correlacionadas a fatores de risco para doenças desenvolvidas na vida adulta. Em um dos seus trabalhos, Barker demonstrou que o risco de hipertensão arterial entre homens e mulheres, por volta dos 50 anos de idade, correlacionam-se com o baixo peso ao nascer, bem como com peso placentário elevado, fatores estes relacionados à desnutrição materna (BARKER et al., 1990). Surgiu, assim, a conhecida “hipótese de Barker”, a qual estimulou o desenvolvimento de pesquisas subsequentes com o intuito de relacionar patologias, muitas vezes idiopáticas, a eventos ocorridos no útero materno (BARKER, 2002; ERIKSSON et al., 2013).

O maior determinante do desenvolvimento fetal é o suprimento placentário de nutrientes e oxigênio maternos para o feto. Contudo, a vida intrauterina possui ainda períodos críticos nos quais perturbações à homeostase feto-placentária podem desencadear alterações de ordem metabólica, morfológica, fisiológica e epigenética. A persistência de alguma dessas alterações pode repercutir de forma tardia no desenvolvimento do indivíduo, desta forma predispondo-o a determinadas doenças na fase adulta (BARKER et al., 1993; CHEN; ZHANG, 2011; SFERRUZZI-PERRI; CAMM, 2016).

1.2 HORMÔNIOS TIREOIDIANOS

A tireoide é a glândula responsável pela síntese e liberação dos hormônios tireoidianos (HT) triiodotironina (T3) e tetraiodotironina (T4). Ela é constituída de dois lobos e se localiza anteriormente à traqueia, a nível do segundo e terceiro anéis traqueais. Ambos os HT possuem iodo em sua composição. O T4 é o principal hormônio sintetizado, enquanto o T3 é o hormônio de maior atividade (ORTIGA-CARVALHO et al., 2016; STATHATOS, 2012). Esses hormônios possuem importante papel em processos relacionados ao crescimento, desenvolvimento e metabolismo humanos (MCANINCH; BIANCO, 2014).

A síntese e liberação de hormônios tireoidianos são reguladas pelo eixo hipotálamo-hipófise-tireoide (HHT). O hormônio liberador da tireotrofina (TRH) é sintetizado e excretado pelo hipotálamo, e constitui o principal estimulador da síntese e liberação do hormônio tireoestimulante (TSH) pela adeno-hipófise. Este hormônio estimula a captação de iodo e uma série de etapas que culminam na síntese dos HT. A regulação da liberação dos HT é feita principalmente pelo mecanismo de *feedback* negativo que os HT têm sobre os neurônios produtores do TRH. Em determinadas situações, outros fatores locais, neurais e humorais também modulam o eixo HHT, podendo alterar seu funcionamento (ORTIGA-CARVALHO et al., 2016).

Uma vez secretados na circulação, os HT são carregados, em sua maior parte, por proteínas plasmáticas enquanto uma pequena parcela se mantém na forma livre (SCHUSSLER, 2000). Seu principal mecanismo de ação celular se baseia na modulação da transcrição de genes específicos. Portanto, o T3 é captado pelo receptor do hormônio tireoidiano (TR) localizado no núcleo celular o qual dá origem a complexos regulatórios que desenvolverão os efeitos no metabolismo celular (DAVIS; GOGLIA; LEONARD, 2016). Nos últimos anos, pesquisas têm descrito ainda as chamadas ações “não-genômicas” dos HT. Por mecanismos que independem da conhecida captação citoplasmática de T3 e formação de complexos com receptores intracelulares, os HT regulam funcionamento e atividade de células e tecidos (DAVIS; GOGLIA; LEONARD, 2016).

1.3 FUNÇÃO TIREOIDIANA NA GESTAÇÃO

A gestação determina uma série de alterações hormonais e metabólicas no organismo materno. Nas semanas iniciais, demonstrou-se que os níveis elevados do hCG (gonadotrofina coriônica humana) produzido no trofoblasto fetal têm efeito estimulante direto sobre a glândula tireoide. Em uma gestação normal, tal estímulo leva à elevação dos níveis séricos de T4, a qual resulta em supressão dos níveis de TSH em até 20% das gestantes nesse período (MOLETI; TRIMARCHI; VERMIGLIO, 2014). Sabe-se também que a TBG (proteína transportadora da tiroxina), principal molécula de transporte dos HT, tem elevação de seus níveis séricos na primeira metade da gestação em resposta ao estímulo estrogênico. Disto resulta um aumento da concentração total de HT e a redução da fração livre, alterações que, em última análise, estimulam a síntese de mais HT visando a estabelecer o equilíbrio hormonal (GLINOER, 1997).

A principal alteração na função tireoidiana associada a gestação é a necessidade de uma produção aumentada de HT, a qual depende diretamente da disponibilidade adequada de iodo na dieta e da integridade da maquinaria glandular (GLINOER, 2007). Estudos com gestantes submetidas à suplementação com iodo nas primeiras semanas de gestação demonstraram a sua relação com o melhor desempenho neuropsicomotor dos lactentes (PEARCE, 2009). Por outro lado, a síntese de HT pela tireoide fetal só se dá a partir da 10^a-12^a semana de gestação, o que torna o conceito dependente da transferência placentária de hormônios maternos para seu desenvolvimento e para a adequada implantação da placenta (LOUBIÈRE et al., 2010; STATHATOS, 2012; THORPE-BEESTON; NICOLAIDES, 1993). Neste quesito, demonstrou-se que fetos de ratos e camundongos se comportam de maneira similar quanto à dependência de HT maternos. A função tireoidiana fetal destes roedores só se dá na segunda metade da gestação, tornando-os igualmente dependentes dos HT maternos por boa parte do período gestacional (MORREALE DE ESCOBAR; OBREGÓN; ESCOBAR DEL REY, 2000).

Diversas alterações são observadas na tireoide materna durante a gestação e a incapacidade de se adaptar a essas mudanças fisiológicas pode determinar disfunção tireoidiana. Disfunções na tireoide são relativamente comuns no período gestacional e representam risco para a saúde fetal e materna (MÄNNISTÖ et al., 2010). O hipotireoidismo gestacional, neste contexto, possui elevada incidência no Brasil e no mundo e seus efeitos deletérios para mãe e feto são amplamente reconhecidos. Ele é definido como a presença de elevados níveis de TSH e de níveis diminuídos de T4 livre, ambos fora dos limites de referência para a idade gestacional (ALEXANDER et al., 2017). Por outro lado, o hipotireoidismo subclínico, definido pela elevação no TSH sérico com níveis normais de T4 livre, representa outra entidade frequentemente encontrada durante a gestação, sendo a sua repercussão nos eventos perinatais bem como no desenvolvimento pós-natal um tema que requer ampliação de conhecimento (ALEXANDER et al., 2017; MARAKA et al., 2016). Atualmente, instituições de referência como a *American Association of Clinical Endocrinologists* (AACE) e a *American Thyroid Association* (ATA) não recomendam o *screening* universal de doenças tireoidianas na gestação, defendendo sua obrigatoriedade apenas em gestantes com fatores de risco associados. De acordo com os manuais de pré-natal do Ministério da Saúde, o Sistema Único de Saúde (SUS) também não realiza tal medida. Contudo, diversos estudos têm demonstrado que 30-90% das gestantes podem estar sendo subdiagnosticadas com essa abordagem (NAZARPOUR et al., 2016).

1.4 HORMÔNIOS TIREOIDIANOS E SISTEMA IMUNOLÓGICO

Uma grande variedade de processos patológicos tem parte de sua etiologia atribuída a disfunções imunológicas, tais como câncer, diabetes, aterosclerose, doenças inflamatórias e reumatológicas. Dentre as inúmeras ações reconhecidas dos HT, sabe-se também que exercem papel em diferentes componentes do sistema imunológico. Estudos recentes têm demonstrado que diferentes células do sistema imune inato são alvo da ação dos HT. (PERROTTA et al., 2014)) demonstraram o papel do T3 tanto na maturação de macrófagos quanto na sua função, desde a interferência no recrutamento celular até o processo de fagocitose. Outro estudo recente demonstrou que a diminuição da concentração intracelular de T3 em modelos animais foi associada a menor índice de sobrevivência à infecção pneumocócica (VAN DER SPEK et al., 2018). Sabe-se também que os HT têm influência na proliferação e diferenciação de células tronco hematopoiéticas humanas (GRYMUŁA et al., 2007).

No contexto da programação fetal, estudos recentes têm demonstrado que distúrbios na regulação dos hormônios tireoidianos durante a gestação estão associados a alterações na responsividade do sistema imunológico a determinados quadros patológicos na vida adulta. Um grupo de pesquisadores chilenos demonstrou que camundongos adultos em cuja gestação houve hipotireoidismo gestacional tiveram um curso mais severo da doença em modelo experimental de encefalomielite autoimune (ALBORNOZ et al., 2013). Em outro estudo, houve menores taxas de mortalidade por pneumonia pneumocócica em camundongos fêmea da prole de mães com hipotireoidismo gestacional em modelo experimental (NIETO et al., 2016).

1.5 SEPSE

A sepse, atualmente, é definida como uma disfunção orgânica que ameaça a vida causada por uma resposta desregulada do indivíduo a uma infecção. Apesar do uso de modernos antibióticos e terapias de ressuscitação, ela é uma das principais causas de morbidade e mortalidade em pacientes críticos (GÜL et al., 2017). Suas manifestações clínicas são variadas e inespecíficas, tais como febre, confusão mental, taquipneia, taquicardia, hipotensão, leucocitose e distúrbios de coagulação. A sepse está entre as principais causas de admissão em unidades de terapia intensiva por todo o mundo. Nos EUA, a incidência de sepse severa é de 30 casos por 10.000 habitantes, e a mortalidade por choque séptico – estado agudo de falência dos mecanismos de controle hemodinâmicos secundário à sepse – é de aproximadamente 40%.

Os gastos com ela envolvidos tem cifras muito elevadas, com uma estimativa anual de 20 bilhões de dólares nas unidades de saúde americanas (TAEB; HOOPER; MARIK, 2017).

Os fatores de risco para sepse severa se relacionam tanto com a predisposição do paciente a infecções como com a probabilidade de disfunção orgânica aguda quando instalada a infecção. Dentre os pacientes portadores de doenças crônicas, acredita-se que os fatores de risco incluam a composição genética do indivíduo, o organismo causador e a condição clínica prévia (ANGUS; VAN DER POLL, 2013).

A identificação precoce do paciente séptico é um objetivo crucial em unidades de emergência, tendo sido objeto de diversos debates ao longo do tempo. Assim, estudos diversos foram elaborados e aprimorados no intuito de gerar parâmetros e protocolos que indiquem de forma sensível a evolução e prognóstico desses pacientes, facilitando a intervenção precoce. Como exemplo, os próprios parâmetros de SIRS por muito tempo foram usados para identificar a disfunção orgânica relacionada a infecção. Outro escore bem difundido é o *Sequential Organ Failure Assessment* (SOFA), utilizado largamente na prática clínica, bem como sua versão abreviada, o *Quick SOFA* (qSOFA) (MCLYMONT; GLOVER, 2016).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBORNOZ, E. A. et al. Gestational hypothyroidism increases the severity of experimental autoimmune encephalomyelitis in adult offspring. **Thyroid: Official Journal of the American Thyroid Association**, v. 23, n. 12, p. 1627–1637, dez. 2013.

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

ANGUS, D. C.; VAN DER POLL, T. Severe Sepsis and Septic Shock. **New England Journal of Medicine**, v. 369, n. 9, p. 840–851, 29 ago. 2013.

BARKER, D. J. et al. Fetal and placental size and risk of hypertension in adult life. **BMJ: British Medical Journal**, v. 301, n. 6746, p. 259–262, 4 ago. 1990.

BARKER, D. J. et al. Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life. **Lancet (London, England)**, v. 341, n. 8850, p. 938–941, 10 abr. 1993.

BARKER, D. J. P. Fetal programming of coronary heart disease. **Trends in endocrinology and metabolism: TEM**, v. 13, n. 9, p. 364–368, nov. 2002.

CHEN, M.; ZHANG, L. Epigenetic mechanisms in developmental programming of adult disease. **Drug Discovery Today**, v. 16, n. 23–24, p. 1007–1018, dez. 2011.

DAVIS, P. J.; GOGLIA, F.; LEONARD, J. L. Nongenomic actions of thyroid hormone. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 12, n. 2, p. 111–121, fev. 2016.

ERIKSSON, J. G. et al. The developmental origins of chronic rheumatic heart disease. **American Journal of Human Biology: The Official Journal of the Human Biology Council**, v. 25, n. 5, p. 655–658, out. 2013.

GLINOER, D. The regulation of thyroid function in pregnancy: pathways of endocrine adaptation from physiology to pathology. **Endocrine Reviews**, v. 18, n. 3, p. 404–433, jun. 1997.

GLINOER, D. Clinical and biological consequences of iodine deficiency during pregnancy. **Endocrine Development**, v. 10, p. 62–85, 2007.

GRYMUŁA, K. et al. The influence of 3,3',5-triiodo-L-thyronine on human haematopoiesis. **Cell Proliferation**, v. 40, n. 3, p. 302–315, jun. 2007.

GÜL, F. et al. Changing Definitions of Sepsis. **Turkish Journal of Anaesthesiology and Reanimation**, v. 45, n. 3, p. 129–138, jun. 2017.

LOUBIÈRE, L. S. et al. Expression of thyroid hormone transporters in the human placenta and changes associated with intrauterine growth restriction. **Placenta**, v. 31, n. 4, p. 295–304, abr. 2010.

MÄNNISTÖ, T. et al. Thyroid dysfunction and autoantibodies during pregnancy as predictive factors of pregnancy complications and maternal morbidity in later life. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 95, n. 3, p. 1084–1094, mar. 2010.

MARAKA, S. et al. Subclinical Hypothyroidism in Pregnancy: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Thyroid**, v. 26, n. 4, p. 580–590, 1 abr. 2016.

MCANINCH, E. A.; BIANCO, A. C. Thyroid hormone signaling in energy homeostasis and energy metabolism. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1311, p. 77–87, abr. 2014.

MCLYMONT, N.; GLOVER, G. W. Scoring systems for the characterization of sepsis and associated outcomes. **Annals of Translational Medicine**, v. 4, n. 24, dez. 2016.

MOLETI, M.; TRIMARCHI, F.; VERMIGLIO, F. Thyroid physiology in pregnancy. **Endocrine Practice: Official Journal of the American College of Endocrinology and the American Association of Clinical Endocrinologists**, v. 20, n. 6, p. 589–596, jun. 2014.

MORREALE DE ESCOBAR, G.; OBREGÓN, M. J.; ESCOBAR DEL REY, F. Is neuropsychological development related to maternal hypothyroidism or to maternal hypothyroxinemia? **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 85, n. 11, p. 3975–3987, nov. 2000.

NAZARPOUR, S. et al. Comparison of universal screening with targeted high-risk case finding for diagnosis of thyroid disorders. **European Journal of Endocrinology**, v. 174, n. 1, p. 77–83, jan. 2016.

NIETO, P. A. et al. Gestational Hypothyroidism Improves the Ability of the Female Offspring to Clear Streptococcus pneumoniae Infection and to Recover From Pneumococcal Pneumonia. **Endocrinology**, v. 157, n. 6, p. 2217–2228, 2016.

ORTIGA-CARVALHO, T. M. et al. Hypothalamus-Pituitary-Thyroid Axis. **Comprehensive Physiology**, v. 6, n. 3, p. 1387–1428, 13 2016.

PEARCE, E. N. What do we know about iodine supplementation in pregnancy? **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 94, n. 9, p. 3188–3190, set. 2009.

PERROTTA, C. et al. The thyroid hormone triiodothyronine controls macrophage maturation and functions: protective role during inflammation. **The American Journal of Pathology**, v. 184, n. 1, p. 230–247, jan. 2014.

SCHUSSLER, G. C. The thyroxine-binding proteins. **Thyroid: Official Journal of the American Thyroid Association**, v. 10, n. 2, p. 141–149, fev. 2000.

SFERRUZZI-PERRI, A. N.; CAMM, E. J. The Programming Power of the Placenta. **Frontiers in Physiology**, v. 7, p. 33, 2016.

STATHATOS, N. Thyroid physiology. **The Medical Clinics of North America**, v. 96, n. 2, p. 165–173, mar. 2012.

TAEB, A. M.; HOOPER, M. H.; MARIK, P. E. Sepsis: Current Definition, Pathophysiology, Diagnosis, and Management. **Nutrition in Clinical Practice: Official Publication of the American Society for Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 32, n. 3, p. 296–308, jun. 2017.

THORPE-BEESTON, J. G.; NICOLAIDES, K. H. Fetal thyroid function. **Fetal Diagnosis and Therapy**, v. 8, n. 1, p. 60–72, fev. 1993.

VAN DER SPEK, A. H. et al. Regulation of Intracellular Triiodothyronine Is Essential for Optimal Macrophage Function. **Endocrinology**, v. 159, n. 5, p. 2241–2252, 01 2018.

2 NORMAS DE PUBLICAÇÃO

A Revista Brasileira de Terapia Intensiva/Brazilian Journal of Intensive Care (RBTI/BJIC), ISSN 0103-507X, publicada trimestralmente, é a revista científica da Associação de Medicina Intensiva Brasileira (AMIB) e da Sociedade Portuguesa de Cuidados Intensivos (SPCI). Tem por objetivo publicar pesquisas relevantes, que visam melhorar o cuidado dos pacientes agudamente doentes por meio da discussão, distribuição e promoção de informação baseada em evidências, aos profissionais envolvidos com medicina intensiva. Nela são publicados artigos de pesquisas, revisões, comentários, relatos de casos e cartas ao editor, em todas estas áreas do conhecimento, relacionadas aos cuidados intensivos do paciente grave.

RBTI endossa todas as recomendações da International Committee of Medical Journal Editors - Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals, atualizada em Abril de 2010 e disponível em http://www.icmje.org/urm_main.html.

Todo o conteúdo da Revista Brasileira de Terapia Intensiva/Brazilian Journal of Intensive Care está licenciado sob uma Licença Creative Commons (CCBY) Atribuição 4 Internacional (https://creativecommons.org/licences/?lang=pt_br).

O periódico on-line é de acesso aberto e gratuito.

Processo de submissão

Os manuscritos podem ser submetidos em português, inglês ou espanhol. A RBTI é publicada na versão impressa em português e em formato eletrônico em português e inglês. Os autores não são submetidos à taxa de submissão de artigos e de avaliação. Os artigos submetidos em português (ou espanhol) serão traduzidos para o inglês e os submetidos em inglês serão traduzidos para o português gratuitamente pela revista. Todos os artigos devem ser submetidos eletronicamente em: <http://mc04.manuscriptcentral.com/rbti-scielo>

Os autores deverão encaminhar à Revista:

Carta ao editor (Cover letter) -A carta deve conter uma declaração de que o artigo é inédito, não foi ou não está sendo submetido à publicação em outro periódico. Os autores também devem declarar que o estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa (CEP) da instituição onde o mesmo foi realizado (ou o CEP de referência) fornecendo o número de aprovação do mesmo e, caso apropriado, uma declaração de que o consentimento informado

foi obtido ou sua não obtenção foi aprovada pelo CEP. Se necessário, durante o processo de revisão, os autores podem ser solicitados e enviar uma cópia da carta de aprovação do CEP.

Declaração de Conflito de Interesse - Os autores devem obter o formulário apropriado (disponível aqui) e, depois da assinatura pelos autores, anexá-lo durante o processo de submissão. A Declaração de Conflito de Interesses, segundo Resolução do Conselho Federal de Medicina nº 1595/2000, veda que em artigo científico seja feita promoção ou propaganda de quaisquer produtos ou equipamentos comerciais.

Financiamento - Informações sobre eventuais fontes de financiamento da pesquisa serão requisitadas durante o processo de submissão bem como na página de rosto do artigo.

Transferência de direitos autorais e autorização para publicação - Após aceitação do artigo, uma autorização assinada por todos os autores para publicação e transferência dos direitos autorais à revista deve ser enviada a Revista (disponível aqui).

Informação de pacientes - Para todos os manuscritos que incluem informação ou fotografias clínicas onde os pacientes possam ser identificados individualmente, deve ser enviado termo de consentimento escrito e assinado de cada paciente ou familiar.

Processo de revisão

Todos os artigos submetidos são objeto de cuidadosa revisão. A submissão inicial será inicialmente revisada pela equipe técnica da revista para garantir que a mesma está em acordo com os padrões exigidos pela revista e ao atendimento de todas as normas requeridas para envio dos originais, incluindo os requisitos éticos para experimentos em humanos e animais. Após essa conferência inicial, o artigo poderá ser devolvido aos autores para readequação.

Posteriormente, os manuscritos submetidos para apreciação serão encaminhados ao Editor, que fará uma análise inicial. Aqueles que não apresentarem mérito, que contenham erros significativos de metodologia, ou não se enquadrem na política editorial da revista, serão rejeitados sem processo formal de revisão por pares. O tempo médio para essa resposta é de uma semana.

Após aprovação pelo Editor chefe ou de um dos editores por ele designados, o artigo será encaminhado para avaliação por dois ou mais revisores. Os revisores serão sempre de instituições diferentes da instituição de origem do manuscrito, sendo o anonimato garantido em todo processo editorial. O prazo para a primeira resposta aos autores é de 30 dias apesar de um tempo mais longo ser por vezes necessário. Os editores podem emitir uma das seguintes

opiniões: aceite, revisões mínimas, revisões significativas, rejeição com possibilidade de resubmissão ou rejeição. A taxa de aceitação de artigos é atualmente de 30%. Nos últimos 12 meses, o tempo médio entre submissão a primeira decisão foi de 28 dias.

Após o recebimento dos pareceres dos revisores, os autores terão o prazo de 60 dias para submeter a versão com as modificações sugeridas bem como a resposta ponto a ponto para cada um dos revisores. Os autores podem contactar a revista solicitando extensão desse prazo. Caso essa submissão não ocorra num período de 6 meses o artigo será retirado do banco de dados e uma eventual re-submissão seguirá os trâmites de uma submissão inicial. Após a re-submissão, os editores podem escolher entre enviar o manuscrito novamente para revisão externa ou decidir com base em sua expertise.

As opiniões expressas nos artigos, inclusive as alterações solicitadas pelos revisores, serão de responsabilidade única dos autores.

Ética

Quando relatando estudos em humanos, os autores devem indicar se os procedimentos do estudo estão de acordo com os padrões éticos definidos pelo Comitê responsável por estudos em humanos (institucional ou nacional, se aplicável) e de acordo com a Declaração de Helsinki de 1975, revisada em 2000. Quando se tratar de estudos em animais, os autores devem indicar se as diretrizes institucionais e/ou nacionais para cuidados e uso de animais de laboratório foram seguidas. Em qualquer pesquisa, clínica ou experimental, em humanos ou animais, essas informações devem constar da sessão Métodos.

A preceitos éticos da Revista Brasileira de Terapia Intensiva podem ser encontrados em nosso site [ethical statements](#).

Política antiplágio

Qualquer contribuição à RBTI deve ser original e o manuscrito, ou parte dele, não deve estar em avaliação em qualquer outro periódico. Ainda, os autores não devem submeter um mesmo manuscrito em diferentes idiomas para diferentes periódicos. Os autores devem declarar qualquer potencial publicação que contenha dados ou partes do manuscrito enviado para avaliação do Editor. Os manuscritos enviados a RBTI estão sujeitos a avaliação através de ferramentas para detectar plágio, duplicação ou fraude, e sempre que estas situações forem identificadas, o Editor contactará os autores e suas instituições. Se tais situações forem detectadas, os autores devem preparar-se para uma recusa imediata do manuscrito. Se o Editor

não estiver ciente desta situação previamente a publicação, o artigo será retratado na próxima edição da RBTI.

Critérios para autoria

Somente pessoas que contribuíram diretamente para o conteúdo intelectual do artigo devem ser consideradas autoras, de acordo com os critérios:

1. elaborou a ideia inicial e planejou o trabalho ou interpretou os resultados finais OU
2. escreveu o artigo ou revisou sucessivas versões E
3. aprovou a versão final do artigo.

Posições administrativas, coleta de dados e estímulo não são considerados critérios para autoria e, quando cabível, devem constar apenas na sessão de agradecimentos.

Preparo dos manuscritos

Todos os artigos devem incluir:

Página título:

Título completo do artigo

Nomes completos, por extenso, de todos os autores

Afiliação institucional de cada autor (apenas a principal, ou seja, aquela relacionada a instituição onde o trabalho foi produzido). O endereço completo (incluindo telefone, fax e e-mail) do autor para correspondência.

O nome da instituição que deve ser considerada como responsável pelo envio do artigo.

Fonte financiadora do projeto.

Running title - Deve ser fornecido um título alternativo para o artigo, com no máximo 60 caracteres (com espaços). Esse nome deverá constar no cabeçalho de todas as folhas do artigo.

Título de capa - Nos casos em que o título do artigo tenha mais de 100 caracteres (com espaços), deve ser fornecido um título alternativo, com no máximo 100 caracteres (com espaços) para constar da capa da revista.

Resumo e Abstract

Resumo: O resumo deve conter no máximo que 250 palavras, evitando-se ao máximo o uso de abreviaturas. Deve ser estruturado com os mesmos capítulos usados no texto principal (Objetivo, Métodos, Resultados e Conclusão) refletindo acuradamente o conteúdo do texto principal. Quando se tratar de artigos de revisão e relatos de casos o resumo não deve ser estruturado. Para Comentários o resumo não deve exceder 100 palavras.

Abstract: O resumo em inglês deverá ser feito apenas para aqueles artigos submetidos nessa língua. Artigos submetidos em português terão seu resumo traduzido para o inglês pela revista.

Descritores

Devem ser fornecidos seis termos em português e inglês, que definam o assunto do trabalho. Devem ser, obrigatoriamente, baseados no MeSH (Medical SubjectHeadings) da National Library of Medicine, disponíveis no endereço eletrônico: <http://www.nlm.nih.gov/mesh>.

Texto

Os artigos devem ser submetidos em arquivo Word, com letra 12 Times New Roman e espaço duplo, inclusive em tabelas, legendas e referencias. Em todas as categorias de artigos, as citações no texto devem ser numéricas, sobrescritas e sequenciais.

Artigos Originais

Os artigos originais são aqueles que trazem resultados de pesquisas. Devem ter no máximo 3.500 palavras no texto, descontados folha de rosto, resumo, tabelas e referências. Artigos com maior número de palavras necessitam ser aprovados pelo editor. O número máximo de autores recomendado é de oito. Caso haja necessidade de incluir mais autores, deve vir acompanhado de justificativa, com explicitação da participação de cada um na produção do mesmo. Artigos originais deverão conter:

Introdução - esta sessão deve ser escrita de forma a se dirigir a pesquisadores sem conhecimento específico na área e deve claramente oferecer - e, se possível, ilustrar - a base para a pesquisa e seus objetivos. Relatos de pesquisa clínica devem, sempre que apropriado, incluir um resumo da pesquisa da literatura para indicar porque o estudo foi necessário e o que o estudo visa contribuir para o campo. Esta sessão deve terminar com uma breve declaração do que está sendo relatado no artigo.

Métodos - Deve incluir o desenho do estudo, o cenário, o tipo de participantes ou materiais envolvidos, a clara descrição das intervenções e comparações, e o tipo de análise usada, incluindo o poder de cálculo, se apropriados.

Resultados - Os resultados devem ser apresentados em sequência lógica e clara. Os resultados da análise estatística devem incluir, quando apropriado, riscos relativo e absoluto ou reduções de risco, e intervalos de confiança.

Discussão - Todos os resultados do trabalho devem ser discutidos e comparados com a literatura pertinente.

Conclusão - Deve discorrer claramente as conclusões principais da pesquisa e fornecer uma clara explicação da sua importância e relevância.

Referências - devem ser ordenadas por sequência de citação no texto e limitar-se a um máximo 40 referências. Ver abaixo normas para elaboração das referências.

Artigos de revisão

O artigo de revisão é uma descrição abrangente de certo aspecto de cuidado de saúde relevante ao escopo da revista. Deve conter não mais que 4.000 palavras (descontados folha de rosto, resumo, tabelas e referências) e até 50 referências. Devem ser redigidos por autores de reconhecida experiência na área e o número de autores não deve exceder três, salvo justificativa a ser encaminhada a revista. As revisões podem ser sistemáticas ou narrativas. Nas revisões é recomendado haver, também, o capítulo "Métodos" que relaciona as fontes de evidências usadas e as palavras chave usadas para realizar a busca da bibliografia. Revisões sistemáticas da literatura, que contenham estratégia de busca e resultados de forma apropriada, são consideradas artigos originais.

Relato de casos

Relata casos de uma determinada situação médica, especialmente rara, descrevendo seus aspectos, história, condutas, etc., incluindo resumo não estruturado, breve introdução e revisão da literatura, descrição do caso e breve discussão. Deverá ter no máximo 2.000 palavras, com cinco autores e até dez referências.

Comentários

São artigos de opinião escritos por especialistas e lidos pela comunidade médica em geral. Usualmente são feitos a convite dos editores, contudo, os não solicitados são bem-vindos

e serão rotineiramente avaliados para publicação. O objetivo do comentário é destacar algo, expandindo os assuntos destacados, e sugerir a sequência. Qualquer declaração deve ser acompanhada por uma referência, mas prefere-se que a lista de referências não exceda a 15. Para a leitura, as sentenças devem ser curtas e objetivas. Usar subtítulos para dividir o comentário em sessões. Devem ser curtos, com no máximo 800 a 1.000 palavras, excluindo o resumo e as referências. O número de autores não deve exceder dois, salvo justificativa.

Cartas ao editor

Comentários em qualquer artigo publicado na revista, cabendo geralmente uma resposta do autor ou do editor. Não é permitida tréplica. Devem ter no máximo 500 palavras e até cinco referências. O artigo da RBTI ao qual a carta se refere deve ser citado no texto e nas referências. Os autores devem também enviar seus dados de identificação e endereço completo (incluindo telefone, fax e e-mail). Todas as cartas são editadas e enviadas para os autores antes da publicação.

Diretrizes

A Revista publica regularmente as diretrizes e recomendações produzidas tanto pela Associação de Medicina Intensiva Brasileira (AMIB) quanto pela Sociedade Portuguesa de Cuidados Intensivos (SPCI).

Agradecimentos

Os autores devem usar esta sessão para agradecer financiamentos da pesquisa, ajuda de organismos acadêmicos; de instituições de fomento; de colegas ou outros colaboradores. Os autores devem obter permissão de todos os mencionados nos agradecimentos. Devem ser concisos não excedendo a 4 linhas.

Referências

Devem ser atualizadas contendo, preferencialmente, os trabalhos mais relevantes publicados nos últimos cinco anos, sobre o tema. Não devem conter trabalhos não referidos no texto ou não publicados. As referências deverão ser numeradas consecutivamente, na ordem em que são mencionadas no texto e identificadas com algarismos arábicos. A apresentação deverá seguir o formato denominado "Vancouver Style", conforme modelos abaixo. Os títulos dos periódicos deverão ser abreviados de acordo com o estilo apresentado pela National Library of Medicine, disponível em "List of Journal Indexed in Index Medicus" no endereço eletrônico: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=journals>.

Para todas as referências, citar todos os autores até seis. Quando em número maior, citar os seis primeiros autores seguidos da expressão et al.

Artigos em formato impresso

Dellinger RP, Vincent JL, Silva E, Townsend S, Bion J, Levy MM. Surviving sepsis in developing countries. Crit Care Med. 2008;36(8):2487-8.

Levy MM, Vincent JL, Jaeschke R, Parker MM, Rivers E, Beale R, et al. Surviving Sepsis Campaign: Guideline Clarification. Crit Care Med. 2008;36(8):2490-1.

Artigos em formato eletrônico

Buerke M, Prondzinsky R. Levosimendan in cardiogenic shock: better than enoximone! Crit Care Med [Internet]. 2008 [cited 2008 Aug 23];36(8):2450-1. Available from: <http://www.ccmjournal.com/pt/re/ccm/abstract.00003246-200808000-00038.htm>

Hecksher CA, Lacerda HR, Maciel MA. Características e evolução dos pacientes tratados com drotrecogina alfa e outras intervenções da campanha "Sobrevivendo à Sepse" na prática clínica. Rev Bras Ter Intensiva [Internet]. 2008 [citado 2008 Ago 23];20(2):135-43. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbti/v20n2/04.pdf>

Artigo de Suplemento

Walker LK. Use of extracorporeal membrane oxygenation for preoperative stabilization of congenital diaphragmatic hernia. Crit Care Med. 1993;21 (Suppl. 1):S379-S380.

Livro

Doyle AC. Biological mysteries solved. 2nd ed. London: Science Press; 1991.

Capítulo de livro

Lachmann B, van Daal GJ. Adult respiratory distress syndrome: animal models. In: Robertson B, van Golde LM. Pulmonary surfactant. 2nd ed. Amsterdam: Elsevier; 1992. p. 635-66.

Resumo publicado

Varvinski AM, Findlay GP. Immediate complications of central venous cannulation in ICU [abstract]. CritCare. 2000;4(Suppl 1):P6.

Artigo "In press"

Giannini A. Visiting policies and family presence in ICU: a matter for legislation? Intensive Care Med. In press 2012.

Tabelas e figuras

Todas as figuras e tabelas devem ser numeradas e mencionadas no texto na ordem que são citadas. Tabelas e figuras devem ser colocadas ao final do texto, após as referências, uma em cada página, sendo as últimas idealmente feitas em Microsoft Excel®, Tif ou JPG com 300 DPI. Figuras que necessitem melhor resolução podem ser submetidas em arquivos separados. Figuras que contenham textos devem vir em arquivos abertos para que possam ser traduzidas. Caso isso não seja possível, o autor se responsabilizará pela tradução.

As grandezas, unidades e símbolos utilizados nas tabelas devem obedecer a nomenclatura nacional. As figuras devem vir acompanhadas de legenda explicativa dos resultados, permitindo a compreensão sem a consulta do texto.

A legenda das tabelas e figuras deve ser concisa, porém autoexplicativa, permitindo a compreensão sem a consulta do texto. As unidades de medida devem vir no corpo da tabela e os testes estatísticos indicados na legenda.

Fotografias de cirurgia e de biópsias, onde foram utilizadas colorações e técnicas especiais, serão consideradas para impressão colorida, sendo o custo adicional de responsabilidade dos autores. Se as ilustrações já tiverem sido publicadas, deverão vir acompanhadas de autorização por escrito do autor ou editor.

A reprodução de figuras, quadros, gráficos e ou tabelas que não de origem do trabalho, devem mencionar a fonte de onde foram extraídas.

Abreviaturas e siglas

O uso de abreviaturas deve ser evitado no título do trabalho, no resumo e no título das tabelas e figuras. Seu uso deve ser minimizado em todo o texto. Devem ser precedidas do nome completo quando citadas pela primeira vez no texto. No rodapé das figuras e tabelas devem ser discriminados o significado das abreviaturas, símbolos e outros sinais.

Envio do manuscrito

Os artigos deverão ser submetidos eletronicamente no endereço:
<http://mc04.manuscriptcentral.com/rbti-scielo>.

3 ARTIGO ORIGINAL

INFLUÊNCIA DO HIPOTIREOIDISMO GESTACIONAL EXPERIMENTAL SOBRE A SOBREVIVÊNCIA E GRAVIDADE DA PROLE SUBMETIDA A UM MODELO DE SEPSE

Daniel Barba Cavalcanti ¹; Larissa Rodrigues Cardoso ¹; Marina Inês de Oliveira Prado
¹; Daniel Badauê-Passos Jr.; Patricia Rabelo dos Santos ¹

1: Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristóvão, Sergipe, Brasil.

Correspondência para: Patricia Rabelo dos Santos, Departamento de Fisiologia,
Universidade Federal de Sergipe. Av. Marechal Rondon, s/n. São Cristóvão, SE, Brasil.
CEP: 49100-000. E-mail: patricia.rabelo7@gmail.com

Instituição responsável pelo envio do artigo: Universidade Federal de Sergipe (UFS)

Título alternativo: Hipotireoidismo gestacional e resposta à sepse na prole.

Conflitos de interesse: Não há.

Financiamento: CAPES - CNPQ

RESUMO

Introdução: Os hormônios tireoideanos maternos são fundamentais ao adequado desenvolvimento fetal. Sabe-se que o hipotireoidismo gestacional se associa a efeitos deletérios em múltiplos sistemas orgânicos fetais. Entretanto, sua implicação no desenvolvimento do sistema imune permanece incerta. Considerando-se o fato de que o hipotireoidismo gestacional foi associado a alterações na resposta a infecções respiratórias e a doenças autoimunes, é possível que a resposta à sepse seja prejudicada nestas proles. **Objetivos:** Avaliar a gravidade e a mortalidade por sepse moderada em camundongos da prole de mães submetidas ao Hipotireoidismo Gestacional Experimental (HGE). **Métodos:** O HGE foi induzido pela administração de Metimazol 0,02% na água de beber, do 9º dia gestacional até o dia do parto. Após submeter machos proles de mães hipotireoideanas (PMH) e de eutireoideanas (PME) a um modelo de sepse induzida por ligação e perfuração cecal (CLP), foram avaliadas sobrevida e gravidade do quadro clínico. Os dados obtidos foram expressos em média $\pm$ E.P.M.. Estimou-se a sobrevida utilizando-se o teste de Kaplan-Meier/LogRank; os escores totais foram submetidos à análise de variância (ANOVA) univariada e pós-teste de Tukey. **Resultados:** Não houve diferença significativa entre a sobrevivência e a evolução clínica das PMH e as PME submetidas à sepse. **Conclusão:** O HGE não afeta a gravidade nem a mortalidade pela sepse moderada nos machos da prole.

Descritores: Programação fetal; Hipotireoidismo gestacional; Hormônios tireoideanos; Sepse; Escore; Camundongos

Fetal programming; Gestational hypothyroidism; Thyroid Hormones; Sepsis; Score; Mice

INTRODUÇÃO

Os hormônios tireoideanos desempenham um papel crucial no desenvolvimento adequado dos diversos sistemas orgânicos ¹⁻³. Durante a maior parte do desenvolvimento intrauterino o feto (humano e roedor) é dependente do suprimento de hormônios tireoideanos (HT) maternos ⁴. O hipotireoidismo é uma condição clínica frequente, com crescente incidência em gestantes e está associado a condições adversas para a saúde materno-fetal ⁵. Dados epidemiológicos indicam um aumento na prevalência de hipotireoidismo (clínico e subclínico) durante a gestação para uma faixa de 5,5 a 15%, e pode ser ainda maior em diferentes populações ⁶.

É sabido que a hipofunção tireoideana perinatal causa desordens a vários tecidos e sistemas fetais, incluindo o sistema nervoso central e o sistema imune ⁷. Evidências científicas demonstram a associação entre o hipotireoidismo materno e a ocorrência de retardo mental e atraso no desenvolvimento neuropsicomotor ⁸⁻¹⁰. Sugere-se, com isso, que eventos ocorridos na vida intrauterina podem ser determinantes na manifestação de doenças ocorridas em fases mais tardias ¹¹⁻¹³. Embora muitos estudos tenham abordado os efeitos do hipotireoidismo gestacional no desenvolvimento do sistema nervoso central fetal, pouco se sabe a respeito dos efeitos desta condição no sistema imune.

Rooney et al (2003) demonstraram que a indução hipotireoidismo em ratos no período neonatal resultou em um número reduzido de células B e T em timo e baço desses animais, ao passo que os valores relativos de células T e NK estavam aumentados ¹⁴. Os achados de Nakamura et al (2007), por outro lado, sugerem que o hipotireoidismo gestacional na prole de ratos leva a alterações histopatológicas em timo e baço, bem como a mudanças no perfil de distribuição das subpopulações de células linfoides. Apesar do impacto da carência dos HT no sistema imune em desenvolvimento sugerido por esses

achados, a literatura carece de mais estudos que demonstrem as repercussões clínicas desta condição ⁷.

Albornoz et al (2013) são pioneiros na investigação do impacto do hipotireoidismo gestacional experimental (HGE) no sistema imunológico da prole. Eles mostraram que camundongos oriundos da prole de mães submetidas ao HGE desenvolvem um quadro de maior gravidade quando submetidos à indução de encefalomielite autoimune (EA) ¹⁵. Outro estudo avaliou a evolução da pneumonia pneumocócica em camundongos gestados por mães hipotireoideanas e revelou uma maior resistência desta prole a essa infecção ⁹.

A sepse é uma síndrome de grande incidência e prevalência, que apresenta disfunção de órgãos, com grande risco de mortalidade, caracterizada por uma desregulação na resposta (imunológica/inflamatória) do hospedeiro à infecção (SINGER et al., 2016). Sabendo que fatores endógenos e pré-mórbidos têm impacto substancial na instalação e resolução do quadro séptico, modulando tanto o curso do desenvolvimento fisiopatológico quanto a abordagem terapêutica (LEVY et al., 2003), associado à importância dos HT para o desenvolvimento o sistema imunológico, hipotetizou-se que o HGE possa influenciar a responsividade da prole ao estímulo séptico. Portanto, neste estudo, visamos a investigar os efeitos do HGE na sobrevivência e na evolução clínica da prole quando submetida a um modelo de sepse polimicrobiana.

MÉTODOS

Animais

Foram utilizados camundongos heterogênicos, machos e fêmeas (20-25 g) da linhagem Swiss, provenientes do Biotério Setorial da Universidade Federal de Sergipe

(UFS) e mantidos em ambiente com temperatura ($23 \pm 2^\circ\text{C}$) e ciclo claro/escuro (12h/12h) controlados. Esses animais foram utilizados para acasalamento programado. As proles obtidas foram acompanhadas até os 60 dias pós-natal, quando foram utilizadas para os experimentos de indução de sepse. Todos os animais tiveram livre acesso a água e ração durante o tempo experimental. Todos os procedimentos foram submetidos à apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa com Animais (CEPA) da UFS e aprovado sob o protocolo de nº 44/2015.

Acasalamento programado e indução do hipotireoidismo gestacional (HG)

O ciclo estral de cada fêmea foi monitorado diariamente através de análise colpocitológica. Uma vez detectado o proestro, cada fêmea foi então alocada em uma gaiola juntamente com um macho e mantida lá até a manhã seguinte, para a cópula. O dia após a cópula foi considerado dia gestacional (DG) 0. As fêmeas com ganho de massa corpórea maior ou igual a 4g entre 0 DG e o 9º DG foram consideradas prenhas. Para a indução do hipotireoidismo gestacional experimental (HGE), foi ofertado Metimazol, MTZ (2-Mercapto-1-metilimidazol, Sigma, St. Louis, USA) na concentração de 0,02% na água de beber, *ad libitum*, a partir do 9º DG até o dia do parto (19º - 21º DG). O grupo controle recebeu apenas água durante toda a gestação. A massa corpórea de todas as proles foi registrada aos 7, 14, 21, 30 e 60 dias pós-natal (DPN). Aos 60 DPN estas proles foram submetidas à indução de sepse polimicrobiana.

Modelo de Sepse Polimicrobiana

A indução da sepse polimicrobiana moderada foi realizada baseada no modelo de ligação e perfuração do ceco (*Cecal Ligation and Puncture - CLP*) descrito por Wichterman; Baue; Chaudry, (1980)¹⁶, com modificações. Após aprofundamento anestésico obtido pela combinação Ketamina e Xilazina (100/15 mg/kg de massa

corpórea, respectivamente, via i.p.), seguido por tricotomia na região abdominal e assepsia local, uma incisão vertical de aproximadamente 1cm em topografia de linha alba foi realizada, dissecando todos os planos da parede abdominal. O ceco foi exteriorizado e, utilizando-se um fio de Nylon (4.0), foi realizada a ligadura de sua porção média, abaixo da válvula íleocecal, mantendo o trânsito intestinal. Com uma agulha estéril 22 Gauge, perfurou-se a porção distal do ceco ligado uma única vez, no sentido da superfície antimesentérica - mesentérica, criando dois orifícios ¹⁷. Esta porção foi levemente comprimida, e conteúdo fecal foi exteriorizado. Em seguida, todo o ceco foi reinserido na cavidade abdominal. A parede abdominal foi suturada com fio de Nylon (4.0). O grupo de animais selecionados como controle do experimento foi submetido a cirurgia fictícia (Sham), na qual o ceco foi exteriorizado e manipulado sem, contudo, proceder à ligadura e perfuração, sendo em seguida reinserido na cavidade abdominal. Na sequência, todos os animais foram submetidos à administração subcutânea de 1mL de salina estéril (37°C) para reposição volêmica.

Análise da sobrevivência

Após a indução da sepse, os animais foram alocados novamente em gaiolas individuais para recuperação pós-anestésica com livre acesso a água e ração. Estes animais foram individualmente monitorados por um avaliador blindado aos grupos experimentais, a cada 24h, durante sete dias, para registro da mortalidade ¹⁸.

Análise da gravidade

A avaliação clínica após os procedimentos foi realizada usando-se a versão brasileira (VB) do *Murine Sepsis Score (MSS)*, originalmente desenvolvida e publicada por Shrum e colaboradores (2014). A VB-MSS é uma escala traduzida, adaptada e validada para o português por nosso grupo de pesquisa. Duas duplas de avaliadores,

blindados em relação aos grupos experimentais, foram responsáveis por avaliar cada animal. As avaliações foram realizadas 1 hora antes da indução de CLP e, no pós-operatório, a cada 6 horas por um período de 24 horas. Após isso, a avaliação ocorreu a cada 24 horas da linha de tempo experimental de 7 dias.

Análise Estatística

Os dados foram analisados pelos programas SPSS versão 22.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL) e Graph Pad Prism 6.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) e expressos como média $\pm$ erro padrão da média (EPM). A massa corpórea das proles foi avaliada pelo *Student's t-test* não pareado. A análise da sobrevivência foi realizada pelo teste de Kaplan-Meier/*LogRank*. Os escores totais da Versão Brasileira do *Murine Sepsis Score* (VB – MSS) foram submetidos a análise de variância (ANOVA) univariada seguido do pós-teste de Tukey. O nível crítico fixado foi de 5% ($p < 0,05$) para se admitir uma diferença de médias como estatisticamente significativa.

RESULTADOS

Em relação à prole de mães eutireoideanas (PME), a prole de mães hipotireoideanas (PMH) apresentou massa corpórea significativamente inferior apenas ao 7º e 14º DPN [7 DPN: ($4,927 \pm 0,07137$ versus $4,662 \pm 0,06145$, respectivamente, e $p = 0,0057$); 14 DPN: ($8,305 \pm 0,1034$ g versus $8,026 \pm 0,07389$ g, respectivamente, e $p = 0,0264$)] (Figura 1). Nos demais dias avaliados não houve diferença estatisticamente relevante entre os grupos [21 DPN: ($13,42 \pm 0,1859$ g versus $13,65 \pm 0,1532$ g, respectivamente, e $p = 0,3463$); 30 DPN: ($25,74 \pm 0,2637$ g versus $25,87 \pm 0,2258$ g, respectivamente, e $p = 0,7096$); 60 DPN: ($37,37 \pm 0,5470$ g versus $37,32 \pm 0,5467$ g, respectivamente, e $p = 0,9433$)].

Entre o grupo de animais submetidos a cirurgia fictícia (Sham), tanto as proles de mães eutireoideanas (PME - SHAM) (n = 17) quanto as proles de mães hipotireoideanas (PMH-SHAM) (n = 19) tiveram sobrevida de 100% após o procedimento (Figura 2). As PME submetidas à indução de sepse por CLP (PME – SEPSE) obtiveram sobrevida de 23,81% (n = 21) e as PMH submetidas a sepse por CLP (PMH-SEPSE) de 19,05% (n = 21). Não houve diferença estatisticamente significativa entre a sobrevida desses dois grupos (Logrank test Mantel -Cox: 0,1925; df = 1; p = 0,66).

Os dados obtidos do Escore Clínico Geral da VB – MSS estão representados como média $\pm$ E.P.M. na Figura 3. A ANOVA univariada demonstrou ausência de interação de três vias estatisticamente significativa entre fatores de variação ‘tratamento gestacional’ (TG), ‘cirurgia’ e ‘tempo’ [$F_{(TG \times Cirurgia \times Tempo)} 11,681 = 0,78, p = 0,662$] e interação de duas vias não significativa do fator ‘tratamento gestacional’ (TG) com os fatores ‘tempo’ [$F_{(TG \times Tempo)} 10,681 = 0,73, p = 0,694$] e ‘cirurgia’ [$F_{(TG \times Cirurgia)} 1,681 = 0,01, p = 0,907$]. Contrariamente, a interação de duas vias dos fatores ‘cirurgia’ e ‘tempo’ foi considerada estatisticamente significativa [$F_{(Cirurgia \times Tempo)} 1,81 = 22,16, p < 0,0001$]. Também foi significativo o efeito isolado dos fatores ‘cirurgia’ [$F_{(Cirurgia)} 1,681 = 737,75, p < 0,0001$] e ‘tempo’ [$F_{(Tempo)} 10,681 = 30,58, p < 0,0001$] sobre o escore clínico geral.

DISCUSSÃO

Indução do HGE e massa corpórea da prole

A massa corpórea reduzida em PMH, ainda que apenas aos 7 e 14 DPN, corrobora a evidência de Amano *et al* (2018), em que proles de mães com hipotireoidismo gestacional induzido pela droga propiltiouracil (PTU) tiveram massa corpórea inferior às proles de mães eutireoideanas. Estudo prévio do nosso laboratório demonstrou a redução

da massa corpórea da PMH em relação à PME em ratos utilizando o mesmo protocolo de indução de hipotireoidismo gestacional experimental (HGE) adotado neste trabalho ¹⁹. Em outros dois estudos de um grupo de pesquisa iraniano nos quais se induziu o HGE com o PTU, verificou-se uma menor massa corpórea ao nascimento entre as PMH em comparação às PME ^{20,21}.

Em 1989, Cabello & Wrutniak apresentaram dados que sugeriam uma influência significativa da função tireoideana na ação do hormônio de crescimento (GH) em diferentes animais. Eles demonstraram que a produção de fatores de crescimento é estimulada pelos hormônios tireoideanos. Além disso, é sabido que o hipotireoidismo gestacional em humanos, até mesmo em níveis subclínicos, está relacionado ao crescimento intrauterino restrito e a menores pontuações no índice de APGAR ²². Outro mecanismo relacionado a esses achados é sugerido por estudo que demonstrou uma maior concentração de espécies reativas de oxigênio no líquido amniótico de mães hipotireoideanas. Entende-se que o aumento do estresse oxidativo local pode modular a expressão gênica direta ou indiretamente por meio da oxidação de biomoléculas ²³. Os dados da literatura até aqui expostos se mostram úteis para demonstrar a eficácia do protocolo de indução do HGE neste trabalho.

Curva de sobrevida e escore clínico

Apesar do conhecimento existente a respeito das repercussões do hipotireoidismo gestacional na vida pós-natal, pouco se sabe a respeito do impacto da carência de hormônios tireoideanos (HT) no desenvolvimento do sistema imune. Neste contexto, Nakamura *et al*, 2007 demonstraram que a administração de PTU ou metimazol (MTZ) na água de beber de ratas desde a gestação até a terceira semana de vida pós-natal resultou em alterações histopatológicas em timo e baço da prole, bem como em peso reduzido de ambos os órgãos. Em ambos os grupos (tratados com MTZ ou PTU), foi observada

redução da área cortical do timo e, no baço, atrofia da polpa branca e redução da área da polpa vermelha, além de alterações hematológicas.

Neste estudo, para induzir a sepse polimicrobiana moderada foi utilizado um método baseado no modelo de ligação e perfuração do ceco (CLP – Cecal Ligation and Puncture), descrito em 1980 por Wichterman; Baue; Chaudry. Tal modelo é o mais frequentemente utilizado devido à maneira como se assemelha com a progressão e características da sepse em humanos ²⁴. Através dele, objetivou-se avaliar o impacto do HGE na sobrevida de camundongos sépticos. Os resultados obtidos mostraram que não houve diferença estatisticamente significativa entre a taxa de sobrevida à sepse das PMH (19,05%), em relação a das PME (23,81%), sendo similar às taxas encontradas em outros estudos que utilizaram o mesmo modelo de sepse ¹⁷.

Pesquisadores chilenos, seguindo a mesma linha de pesquisa deste trabalho, utilizaram o mesmo método de indução do HGE para avaliar a resposta das proles de camundongos a um modelo experimental de encefalomielite autoimune (EA). O estudo demonstrou que a susceptibilidade ao desenvolvimento da doença foi equivalente entre PME e PMH (machos e fêmeas). Contudo, quando separadas por sexo, apenas 20% das fêmeas PMH se recuperaram da doença contra 32% da PME. Para os autores, este último dado sugere que as fêmeas gestadas sob hipotireoidismo materno tem capacidade reduzida de modular o dano de uma resposta inflamatória no sistema nervoso central ¹⁵.

Neste trabalho, também não foi verificada a influência do HGE na gravidade do quadro clínico da sepse por meio da análise da VB – MSS mensurado pelo escore. É interessante observar que no trabalho de Albornoz *et al.* (2013) acima citado, notou-se que, ao analisar o escore clínico dos camundongos submetidos à EA separadamente entre machos e fêmeas, houve maior gravidade da doença na prole de mães hipotireoideanas apenas entre as fêmeas. A gravidade foi demonstrada não só pela clínica como também

pela análise histopatológica, a qual revelou maior índice de desmielinização e maior infiltrado inflamatório na medula espinhal dessas proles ¹⁵. É importante destacar que no presente estudo foram utilizados apenas machos para a indução da sepse, e não houve impacto do HGE na sobrevida e tampouco no escore clínico destes camundongos. A concordância entre os dados aqui apresentados e com os de estudos prévios fomenta a discussão sobre a existência de fatores de suscetibilidade aos efeitos do HGE em fêmeas.

Nieto *et al.* (2016) estudaram o efeito do HGE, induzido com o mesmo protocolo deste estudo, na resposta da prole a um modelo experimental de pneumonia pneumocócica. Em concordância com os dados deste trabalho, o estudo demonstrou que, entre os machos, a sobrevida é similar entre as PMH e as PME. Contudo, ao analisar apenas as fêmeas, constatou-se uma maior taxa de sobrevida nas PMH em relação às PME.

Convém ressaltar que a maioria dos modelos animais experimentais de sepse em camundongos, assim como este, utilizaram animais que tem por volta de 2 a 3 meses de idade. Em humanos, isto equivale a cerca de 10 anos de idade ²⁴. É sabido que indivíduos de idade avançada tem uma desproporcional susceptibilidade ao desenvolvimento de sepse ²⁵. Tais fatos abrem uma perspectiva de estudo que vise a investigar os efeitos da programação fetal em faixas etárias mais avançadas. Camundongos tem uma vida útil de cerca de 2 anos e, por isso, constituem um modelo animal conveniente para o estudo dos efeitos do envelhecimento na fisiopatologia das doenças ²⁵.

CONCLUSÃO

O HGE não teve influência sobre a susceptibilidade da prole em desenvolver a sepse. Tampouco houve maior gravidade na evolução clínica destes animais. O protocolo

de indução do hipotireoidismo gestacional utilizado é amplamente reconhecido na literatura, e o achado de redução da massa corpórea na prole foi consistente com resultados prévios de outros autores. Ademais, o trabalho apresentado contribui para a melhor compreensão do impacto da carência de hormônios tireoideanos durante a vida intrauterina sobre a vida adulta.

REFERÊNCIAS

1. Kim H-Y, Mohan S. Role and Mechanisms of Actions of Thyroid Hormone on the Skeletal Development. *Bone Res.* 28 de junho de 2013;1(2):146–61.
2. Bassett JHD, Williams GR. Role of Thyroid Hormones in Skeletal Development and Bone Maintenance. *Endocr Rev.* abril de 2016;37(2):135–87.
3. Pharoah PO, Buttfield IH, Hetzel BS. Neurological damage to the fetus resulting from severe iodine deficiency during pregnancy. *Lancet Lond Engl.* 13 de fevereiro de 1971;1(7694):308–10.
4. Báñez-López S, Obregon MJ, Bernal J, Guadaño-Ferraz A. Thyroid Hormone Economy in the Perinatal Mouse Brain: Implications for Cerebral Cortex Development. *Cereb Cortex N Y N 1991.* 1o de maio de 2018;28(5):1783–93.
5. Stagnaro-Green A. Clinical guidelines: Thyroid and pregnancy - time for universal screening? *Nat Rev Endocrinol.* 2017;13(4):192–4.
6. Taylor PN, Albrecht D, Scholz A, Gutierrez-Buey G, Lazarus JH, Dayan CM, et al. Global epidemiology of hyperthyroidism and hypothyroidism. *Nat Rev Endocrinol.* maio de 2018;14(5):301–16.
7. Nakamura R, Teshima R, Hachisuka A, Sato Y, Takagi K, Nakamura R, et al. Effects of developmental hypothyroidism induced by maternal administration of methimazole or propylthiouracil on the immune system of rats. *Int Immunopharmacol.* 15 de dezembro de 2007;7(13):1630–8.
8. Pop VJ, Kuijpers JL, van Baar AL, Verkerk G, van Son MM, de Vijlder JJ, et al. Low maternal free thyroxine concentrations during early pregnancy are associated with

impaired psychomotor development in infancy. *Clin Endocrinol (Oxf)*. fevereiro de 1999;50(2):149–55.

9. Nieto PA, Peñaloza HF, Salazar-Echegarai FJ, Castellanos RM, Opazo MC, Venegas L, et al. Gestational Hypothyroidism Improves the Ability of the Female Offspring to Clear *Streptococcus pneumoniae* Infection and to Recover From Pneumococcal Pneumonia. *Endocrinology*. 2016;157(6):2217–28.

10. Melancia F, Servadio M, Schiavi S, Campolongo P, Giusti-Paiva A, Trezza V. Testing the correlation between experimentally-induced hypothyroidism during pregnancy and autistic-like symptoms in the rat offspring. *Behav Brain Res*. 15 de 2017;321:113–22.

11. Barker DJ, Bull AR, Osmond C, Simmonds SJ. Fetal and placental size and risk of hypertension in adult life. *BMJ*. 4 de agosto de 1990;301(6746):259–62.

12. Barker DJ, Gluckman PD, Godfrey KM, Harding JE, Owens JA, Robinson JS. Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life. *Lancet Lond Engl*. 10 de abril de 1993;341(8850):938–41.

13. Fowden AL, Forhead AJ. Endocrine mechanisms of intrauterine programming. *Reprod Camb Engl*. maio de 2004;127(5):515–26.

14. Rooney AA, Fournier M, Bernier J, Cyr DG. Neonatal exposure to propylthiouracil induces a shift in lymphoid cell sub-populations in the developing postnatal male rat spleen and thymus. *Cell Immunol*. junho de 2003;223(2):91–102.

15. Albornoz EA, Carreño LJ, Cortes CM, Gonzalez PA, Cisternas PA, Cautivo KM, et al. Gestational hypothyroidism increases the severity of experimental autoimmune

encephalomyelitis in adult offspring. *Thyroid Off J Am Thyroid Assoc.* dezembro de 2013;23(12):1627–37.

16. Wichterman KA, Baue AE, Chaudry IH. Sepsis and septic shock--a review of laboratory models and a proposal. *J Surg Res.* agosto de 1980;29(2):189–201.

17. Sônego F, Castanheira FVS, Czaikoski PG, Kanashiro A, Souto FO, França RO, et al. MyD88-, but not Nod1- and/or Nod2-deficient mice, show increased susceptibility to polymicrobial sepsis due to impaired local inflammatory response. *PloS One.* 2014;9(8):e103734.

18. Spiller F, Costa C, Souto FO, Vinchi F, Mestriner FLAC, Laure HJ, et al. Inhibition of neutrophil migration by hemopexin leads to increased mortality due to sepsis in mice. *Am J Respir Crit Care Med.* 1o de abril de 2011;183(7):922–31.

19. Alves IGN, da Cruz KML, Mota CMD, de Santana DS, Gaujac DP, de Carvalho VCB, et al. Experimental hypothyroidism during pregnancy affects nociception and locomotor performance of offspring in rats. *Eur J Pain Lond Engl.* outubro de 2013;17(9):1291–8.

20. Bagheripuor F, Ghanbari M, Zahediasl S, Ghasemi A. Comparison of the effects of fetal hypothyroidism on glucose tolerance in male and female rat offspring. *J Physiol Sci JPS.* março de 2015;65(2):179–85.

21. Bagheripuor F, Ghanbari M, Piryaee A, Ghasemi A. Effects of fetal hypothyroidism on uterine smooth muscle contraction and structure of offspring rats. *Exp Physiol.* 01 de 2018;103(5):683–92.

22. Saki F, Dabbaghmanesh MH, Ghaemi SZ, Forouhari S, Ranjbar Omrani G, Bakhshayeshkaram M. Thyroid function in pregnancy and its influences on maternal and fetal outcomes. *Int J Endocrinol Metab.* outubro de 2014;12(4):e19378.
23. Novakovic TR, Dolicanin ZC, Djordjevic NZ. Oxidative stress biomarkers in amniotic fluid of pregnant women with hypothyroidism. *J Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet.* 15 de novembro de 2017;1–6.
24. Dejager L, Pinheiro I, Dejonckheere E, Libert C. Cecal ligation and puncture: the gold standard model for polymicrobial sepsis? *Trends Microbiol.* 1o de abril de 2011;19(4):198–208.
25. Banerjee D, Opal SM. Age, exercise, and the outcome of sepsis. *Crit Care* [Internet]. 23 de novembro de 2017;21. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5701382/>

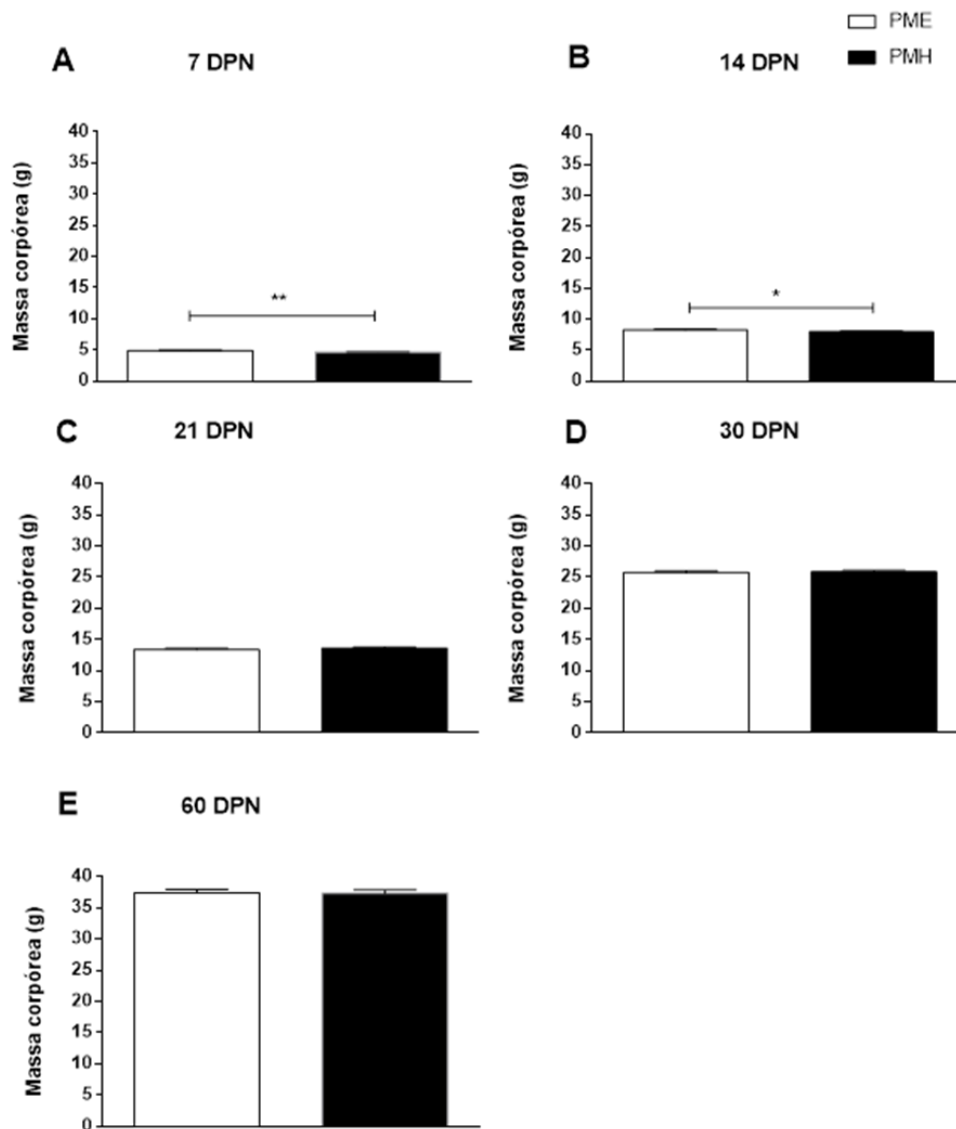


Figura 1: Análise da massa corpórea das PMH em relação a das PME aos 7 DPN (Painel A), 14 DPN (Painel B), 21 DPN (Painel C), 30 DPN (Painel D) e 60 DPN (Painel E). Os valores representam a média $\pm$ E.P.M. Análise estatística: Student T Test; (*) $p < 0,05$ e () $p < 0,01$ em relação à PME. Painel A: PME (n = 48); PMH (n = 59). Painel B: PME (n = 61); PMH (n = 74). Painel C: PME (n = 60); PMH (n = 69). Painel D: PME (n = 60); PMH (n = 65). Painel E: PME (n = 41); PMH (n = 44). HGE: Hipotireoidismo Gestacional Experimental; PME: Proles de Mães Eutireoideanas; PMH: Proles de Mães Hipotireoideanas; DPN: Dia Pós-Natal.**

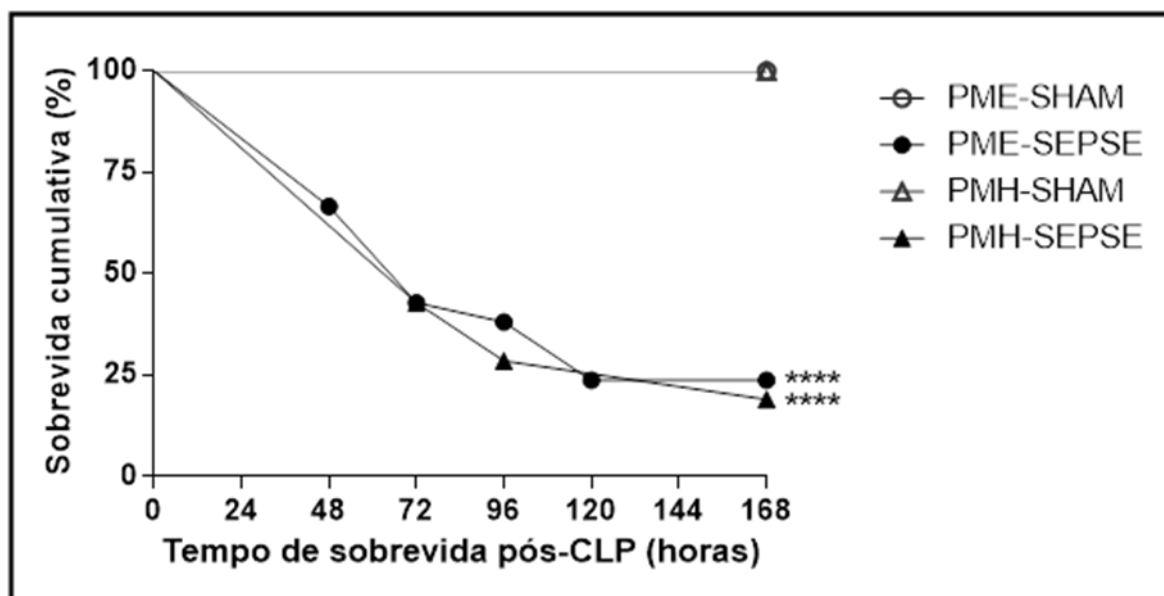


Figura 2: Análise da repercussão do hipotireoidismo gestacional experimental na sobrevivência de camundongos à sepse polimicrobiana induzida pelo método CLP. Análise estatística: Método de Kaplan-Meier e estatística do Logrank de Cox-Mantel para verificação da significância; (****) $p < 0,0001$ em relação aos grupos PME-SHAM e PME-SEPSE. PME-SHAM (n = 17); PME-SEPSE (n = 21); PMH-SHAM (n = 19); PME-SEPSE (n = 21). PME-SHAM: Prole de Mães Eutireoideanas falso-operada (Sham); PME-SEPSE: Prole de Mães Eutireoideanas Sépticas; PMH-SHAM: Prole de Mães Hipotireoideanas falso-operada (Sham); PMH-SEPSE: Prole de Mães Hipotireoideanas Sépticas; CLP: do inglês, Cecal Ligation and Puncture, ou ligação e perfuração do ceco.

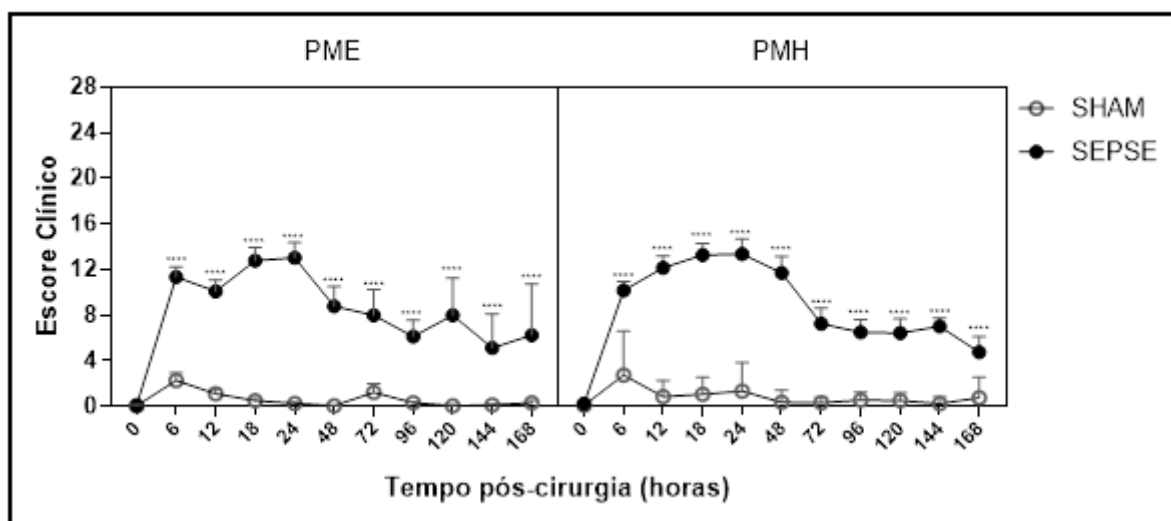


Figura 3: Análise do Escore Clínico Geral das PME e PMH (Sham e Sepse) ao longo da linha de tempo experimental. Os valores representam a média $\pm$ E.P.M. Análise estatística: ANOVA univariada seguido do pós-teste de Tukey. (****) $p < 0,0001$ escore clínico geral médio dos grupos PME-Sepse e PMH-Sepse quando comparados à média de seus respectivos controles experimentais (PME-Sham e PMH-Sepse) em cada tempo estudado. PME-Sham: Prole de Mães Eutireoideanas falso-operada (Sham); PME-Sepse: Proles de Mães Eutireoideanas Sépticas; PMH-Sham: Proles de Mães Hipotireoideanas falso-operada (Sham); PMH-Sepse: Proles de Mães Hipotireoideanas Sépticas; CLP: do inglês, Cecal Ligation and Puncture, ou ligação e perfuração do ceco.