



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

**MÁRCIO COUTO GOMES**

**EFEITOS DO HIPOTIREOIDISMO GESTACIONAL EXPERIMENTAL NA  
NOCICEPÇÃO SUPRAESPINAL NA PROLE DE RATOS ANTES E APÓS  
APLICAÇÃO DE MORFINA**

**ARACAJU**

**2019**

**MÁRCIO COUTO GOMES**

**EFEITOS DO HIPOTIREOIDISMO GESTACIONAL EXPERIMENTAL NA  
NOCICEPÇÃO SUPRAESPINHAL NA PROLE DE RATOS**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Sergipe como requisito parcial à conclusão da graduação de Medicina do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde.

**Orientador:** Prof. Dr. Daniel Badauê Passos Junior  
**Coorientadora:** Dr.<sup>a</sup> Iura Gonzalez Nogueira Alves

Aracaju-SE

2019

**MÁRCIO COUTO GOMES**

**EFEITOS DO HIPOTIREOIDISMO GESTACIONAL EXPERIMENTAL NA  
NOCICEPÇÃO SUPRAESPINHAL NA PROLE DE RATOS ANTES E APÓS  
APLICAÇÃO DE MORFINA**

Monografia apresentada à Universidade Federal de  
Sergipe como requisito parcial à conclusão da  
graduação de Medicina do Centro de Ciências  
Biológicas e da Saúde.

---

Autor: Márcio Couto Gomes

---

Orientador: Prof. Dr. Daniel Badauê Passos Junior

---

Coorientadora: Prof. Dr.<sup>a</sup> Iura Gonzalez Nogueira Alves

**MÁRCIO COUTO GOMES**

**EFEITOS DO HIPOTIREOIDISMO GESTACIONAL EXPERIMENTAL NA  
NOCICEPÇÃO SUPRAESPINHAL NA PROLE DE RATOS ANTES E APÓS  
APLICAÇÃO DE MORFINA**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Sergipe como requisito parcial à conclusão da graduação de Medicina do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde.

Aprovada em: \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2019

**BANCA EXAMINADORA**

---

Universidade Federal de Sergipe

---

Universidade Federal de Sergipe

---

Universidade Federal de Sergipe

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus por iluminar meus passos e me dar a oportunidade de conviver com tantas pessoas boas que me ajudaram na concretização desse sonho e por ter me permitido encontrar minha vocação na Medicina.

Aos meus pais, pelo apoio e dedicação incondicional. Por não medirem esforços para criar e educar com excelência seus quatro filhos e por sempre me incentivarem e me apoiarem em todas as decisões e dificuldades da minha vida.

Aos meus irmãos (Ludmila, Francisco e Marcos), por serem meu porto seguro e companheiros de todas as horas. Ter vocês como irmãos é ter a certeza que nunca estarei sozinho na vida. À Ludmila pelo incentivo em conhecer melhor a pesquisa científica e ajuda na correção de todos os trabalhos que realizei. Ao Marcos, por ser companheiro e meu maior estimulador em todas as batalhas da vida.

À toda minha família e amigos por me darem motivos para viver com bastante felicidade e com isso ter força de lutar por todos os meus sonhos.

Ao meu orientador, Daniel Badauê, pela oportunidade de participar desse projeto e por ter me dado a oportunidade de vivenciar o ambiente da pesquisa científica e a luta daqueles que vivem para a ciência mesmo diante dos escassos recursos financeiros disponibilizados.

À minha coorientadora, Iura, por ter me acolhido neste projeto e pela paciência de ensinar passo-a-passo como se desenvolve uma pesquisa científica. Os esforços foram grandes, mas com você aprendi ensinamentos que levarei para vida toda.

A todos os membros do LANBAC por despertarem em mim o amor pelo conhecimento científico tão recentemente em minha graduação.

Enfim, muito obrigado a todos que contribuíram para a realização dessa etapa.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

|                                                                                                            |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1. Efeito do HGE no peso corporal da prole de ratas com 7, 11, 15 e 21 dias após o nascimento. .... | 46 |
| Figura 2. Efeito do HGE no peso da prole com 60 dias após o nascimento.....                                | 46 |
| Figura 3. Efeito do HGE no limiar nociceptivo supraespinal da prole macho de ratas.....                    | 47 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|                               |                                                               |
|-------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| ACC                           | Córtex cingulado anterior                                     |
| CEPA                          | Comitê de Ética em Pesquisa com Animais                       |
| CLC-5                         | Canal de Cloreto tipo 5                                       |
| D1, D2, D3                    | Desiodases tipo 1, 2 e 3                                      |
| DBCA                          | Diretrizes Brasileiras para o Cuidado e utilização de Animais |
| DIT                           | Diiodotirosina                                                |
| DNA                           | Ácido Desoxirribonucléico                                     |
| DPN                           | Dia Pós-Natal                                                 |
| DUOX 1 e 2                    | Dual-oxidase 1 e 2                                            |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | Peróxido de Hidrogênio                                        |
| hAIT                          | Transportador Apical humano de Iodeto                         |
| hCG                           | gonadotrofina coriônica                                       |
| HGE                           | Hipotireoidismo Gestacional Experimental                      |
| HTs                           | Hormônios Tireoideanos                                        |
| LANBAC                        | Laboratório de Neuroendocrinologia Básica e Comportamental    |
| LAT                           | Transportadores de Aminoácidos tipo L                         |
| LC                            | Locus Ceruleus                                                |
| MCT                           | Transportador de Monocarboxilato                              |
| MDA                           | Malonildialdeído                                              |
| MIT                           | Monoiodotirosina                                              |
| MTZ                           | Metimazol                                                     |
| NA                            | Noradrenalina                                                 |
| Na <sup>+</sup>               | Íon sódio                                                     |
| NDR                           | Núcleo dorsal da rafe                                         |
| NADPH                         | Nicotinamida Adenina Dinucleotideo Fosfato                    |
| NIS                           | Simportador Sódio-Iodo                                        |
| NO                            | Óxido nítrico                                                 |
| OATP                          | <i>Organic Anion Transporting Polypeptide</i>                 |
| PAG                           | Substância Cinzenta Periaquedutal                             |
| PME                           | Prole de Mães Eutireoideas                                    |
| PMH                           | Prole de Mães Hipotireoideas                                  |
| PTU                           | Propiltiouracil                                               |

|             |                                             |
|-------------|---------------------------------------------|
| rT3         | T3 reverso ou 3,3',5'-triiodotironina       |
| RVM         | Bulbo ventromedial rostral                  |
| S1 e S2     | Sítios de ligação a HT                      |
| SLC         | Proteínas Transportadoras de Solutos        |
| SNC         | Sistema Nervoso Central                     |
| 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                              |
| THOX        | <i>Thyroid Oxidases</i>                     |
| TPO         | Tireoperoxidase                             |
| TRH         | Hormônio Liberador de Tireotrofina          |
| TR $\alpha$ | Receptor alfa de Hormônio Tireoideano       |
| TSH         | Hormônio Tireoestimulante                   |
| TSHR        | Receptor de TSH                             |
| UFS         | Universidade Federal de Sergipe             |

## SUMÁRIO

|                                                                                                                                                 |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. REVISÃO DE LITERATURA .....                                                                                                                  | 10 |
| 1.1. HORMÔNIOS TIREOIDIANOS .....                                                                                                               | 10 |
| 1.1.1. A Produção Tireoidiana de hormônios .....                                                                                                | 10 |
| 1.1.2. Sistema hipotálamo-hipófise-tireóide .....                                                                                               | 10 |
| 1.1.3. A produção tireoidiana de hormônios .....                                                                                                | 11 |
| 1.1.4. A conversão periférica .....                                                                                                             | 12 |
| 1.1.5. Transportadores de membrana .....                                                                                                        | 13 |
| 1.1.6. Receptores intra-celulares de HTs .....                                                                                                  | 14 |
| 1.2. DESENVOLVIMENTO DA TIREOIDE E GESTAÇÃO .....                                                                                               | 14 |
| 1.3. DROGAS PARA INDUÇÃO DO HIPOTIREOIDISMO EXPERIMENTAL ...                                                                                    | 16 |
| 1.4. EFEITOS DO HIPOTIREOIDISMO NO PERÍODO INTRAUTERINO.....                                                                                    | 16 |
| 1.5. CIRCUITARIA DE DOR .....                                                                                                                   | 17 |
| 1.6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....                                                                                                                  | 19 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....                                                                                                                 | 21 |
| 2. NORMAS DE PUBLICAÇÃO.....                                                                                                                    | 28 |
| 3. ARTIGO ORIGINAL .....                                                                                                                        | 37 |
| EFEITOS DO HIPOTIREOIDISMO GESTACIONAL EXPERIMENTAL NA<br>NOCICEPÇÃO SUPRAESPINAL NA PROLE DE RATOS ANTES E APÓS A<br>APLICAÇÃO DE MORFINA..... | 37 |
| RESUMO .....                                                                                                                                    | 38 |
| ABSTRACT.....                                                                                                                                   | 39 |
| INTRODUÇÃO .....                                                                                                                                | 40 |
| MATERIAIS E MÉTODOS .....                                                                                                                       | 41 |
| Animais utilizados.....                                                                                                                         | 41 |
| Protocolo de indução do hipotireoidismo gestacional experimental.....                                                                           | 42 |
| Acompanhamento da prole .....                                                                                                                   | 42 |
| Mensuração da nocicepção térmica .....                                                                                                          | 42 |
| Análise estatística.....                                                                                                                        | 43 |
| RESULTADOS E DISCUSSÃO .....                                                                                                                    | 43 |
| GRÁFICOS E FIGURAS .....                                                                                                                        | 46 |
| FONTE DE FINANCIAMENTO .....                                                                                                                    | 47 |
| CONFLITO DE INTERESSES .....                                                                                                                    | 47 |
| AGRADECIMENTOS.....                                                                                                                             | 47 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....                                                                                                                 | 48 |

## 1. REVISÃO DE LITERATURA

### 1.1. HORMÔNIOS TIREOIDIANOS

#### 1.1.1. A Produção Tireoidiana de hormônios

A Tireoide é uma glândula endócrina composta por dois lóbulos (direito e esquerdo) que estão ligados por um parênquima glandular denominado istmo, pesa aproximadamente 20 gramas. Esta glândula está localizada sobre a traqueia anterior a nível da cartilagem cricóide e possui inervação simpática, proveniente do gânglio cervical e parassimpática, oriunda do nervo vago. A drenagem sanguínea ocorre por meio das veias tireóideas que desembocam na veia jugular. As artérias tireóideas superiores e inferiores, ramos da carótida, são responsáveis pela irrigação sanguínea (Aires, 2008).

A tireoide é formada por aproximadamente três milhões de folículos, que são a unidade funcional desta glândula (Aires, 2008). Cada folículo é composto por uma parede de células epiteliais especializadas (células foliculares ou tireócitos) e um lúmen preenchido por um líquido rico em proteínas (coloide), dentre elas a tireoglobulina (TG), uma glicoproteína sintetizada pelos tireócitos. (Campbell, 2011; Stathatos, 2012). Além disso, o parênquima tireoidiano apresenta, entre os espaços interfoliculares, as células parafoliculares (células C) que secretam calcitonina em resposta ao aumento da calcemia (Aires, 2008).

Os folículos tireoidianos são responsáveis pela produção dos hormônios 3,5,3',5'-tetraiodotironina (T4 ou tiroxina) e 3,5,3'-triiodotironina (T3). Em humanos, cerca de 80% dos hormônios tireoidianos (HTs) liberados na corrente sanguínea são Tiroxina e 20% de triiodotironina (Maia *et al.*, 2011a). Em ratos, cerca de 40% T3 circulante é proveniente da secreção tireoidiana (Bianco *et al.*, 2002).

O T3 é considerado a forma ativa dos HTs pois apresenta cinco vezes mais atividade que o T4. A manutenção dos níveis séricos deste hormônio depende da atividade tireoidiana e da conversão periférica de T4 em T3 que é promovida pelas enzimas deiodinases (Antunes-Rodrigues, 2005).

#### 1.1.2. Sistema hipotálamo-hipófise-tireóide

Neurônios dos núcleos paraventriculares e periventriculares do hipotálamo secretam hormônio liberador de tireotrofina (TRH) e somatostatina (SS) nos capilares da circulação porta-hipotálamo-hipofisária, que os transportam para a Hipófise anterior. O TRH liga-se aos receptores de membrana dos tireotrofos (células da hipófise) e estimula a produção de

hormônio tireoestimulante (TSH), já a SS se liga a esses receptores e inibe a produção de TSH.

O TSH estimula a produção de HTs quando se acopla ao receptor de TSH (TSHR) localizado na membrana basal do tireócito (células foliculares) (Narumi & Hasegawa, 2015). Níveis séricos elevados dos HT inibem a liberação de TRH pelo hipotálamo e consequentemente de TSH (Antunes-Rodrigues, 2005).

### 1.1.3. A produção tireoidiana de hormônios

Diferentes etapas da biossíntese e secreção dos HTs sofrem interferência do TSH. A produção de T3 e T4 se inicia com o estímulo do TSH para o transporte ativo de iodeto para o interior da célula folicular por meio do co-transportador sódio-iodeto (NIS). Esta proteína está presente na membrana basal e basolateral do tireócito e transporta para seu interior dois íons de sódio e um de iodeto (Bizhanova & Kopp, 2009; Mihai, 2011). A atividade da NIS também é regulada pela concentração plasmática de iodetos (Bizhanova & Kopp, 2009). Estudos sugerem que o aumento dos níveis de iodetos culmina com a redução da quantidade de NIS presente nos tireócitos e também com redução da incorporação deste íon (Mihai, 2011).

A pendrina é um canal de ânions cloreto-iodeto presente na membrana apical das células foliculares que realiza o transporte do iodeto para o lúmen dos folículos (Aires, 2008; Mihai, 2011). Outras proteínas como a SLC5A8 e o canal de cloreto 5 (CLC-5) são apontadas como auxiliar no efluxo apical de iodeto (Rodriguez *et al.*, 2002; van den Hove *et al.*, 2006). Na luz folicular, as glicoproteínas dual-oxidase 1 e 2 (DUOX 1 e 2), na presença de cálcio e TSH, produzem o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) que é co-substrato na oxidação do iodeto pela tireoperoxidase (TPO) (Moreno *et al.*, 2002).

O coloide tireoidiano é rico em TG, uma glicoproteína que serve de molde para a formação dos HTs. O iodeto que foi oxidado pela ação TPO se liga a moléculas de tirosina presentes na TG formando as monoiodotirosinas (MITs) e diiodotirosinas (DITs) por um processo chamado de organificação. A TPO na presença de peróxido de hidrogênio também catalisa esta reação (Bizhanova & Kopp, 2009; Mihai, 2011). O HTs (iodotironinas) são formados a partir da reação das MITs e DITs no interior do colóide folicular. A TG iodada dispersa no coloide tireoidiano liga-se ao receptor megalina presente na membrana apical do tireócito e sofre transcitose para dentro desta célula onde são armazenados em vesículas contendo coloide (Christensen & Birn, 2002). Estas vesículas se fundem a lisossomos, pela ação do TSH, e então a TG é hidrolisada liberando T4, T3, DITs e MITs no citoplasma

folicular (Aires, 2008). Os HTs são, então, liberados na corrente sanguínea por meio de difusão simples pela membrana basal. As moléculas de DIT e MIT são desiodadas pela ação da dehalogenase tirosina (Aires, 2008). O iodeto produto desta reação é reutilizado para nova síntese de HTs (Gnidehou *et al.*, 2004).

A maior parte dos HTs é transportada ligada a proteínas plasmáticas na corrente sanguínea, somente 0,4% do T3 e 0,02% do T4 circulam na forma livre. A principal proteína ligadora é a Globulina (TBG, *thyroxine-binding globulin*) que representa 75% dos HTs séricos. A albumina é responsável pelo transporte de 10% destes hormônios, já a pré-albumina ligadora de tireoide por 15% (Mihai, 2011). Apenas a porção livre destes hormônios são biologicamente ativa, a porção ligada às proteínas funciona como uma reserva de HT (Aires, 2008). O T4 liga-se mais fortemente as proteínas transportadoras. Desta forma, as concentrações de hormônios livres são similares de T3 e T4, apesar de a concentração total de T4 ser consideravelmente maior (Bianco & Kim, 2006; Verloop *et al.*, 2014).

#### 1.1.4. A conversão periférica

A tireoide secreta em maior quantidade o T4, no entanto, periféricamente este hormônio é convertido em T3 por meio da ação catalizadora de três selenioproteínas denominadas de desiodases. As desiodases são enzimas integrais de membrana, sendo que a desiodase do tipo 1 (D1) está localizada na membrana plasmática celular, a desiodase do tipo 2 (D2) na membrana do retículo endoplasmático e a do tipo 3 (D3) na membrana nuclear e na membrana plasmática da célula (Baqui *et al.*, 2000).

Ademais, as desiodases apresentam um padrão de expressão específico nos diferentes tecidos. A D1 está presente principalmente na tireoide, no rim, na hipófise e no fígado. A D2 no músculo esquelético, no coração, no sistema nervoso central, no tecido adiposo multilocular, no osso e também na tireoide e na hipófise. Já a D3 está expressa no sistema nervoso central e no tecido placentário, além de estar presente em diversos tecidos fetais (Bianco *et al.*, 2002; Köhrle, 1999).

Cerca de 80% do total de T3 na corrente sanguínea é proveniente desta conversão. (Verloop *et al.*, 2014). Além disso, as desiodases são responsáveis pelo controle homeostático da concentração intracelular dos hormônios tireoideanos, mantendo os níveis necessários de hormônios ativos em cada tecido (Gereben *et al.*, 2000). A concentração citoplasmática de T3 depende do fornecimento plasmático e também da conversão intracelular de T4 em T3 pela via da D2 principalmente (Bianco & Kim, 2006). A conversão periférica de T4 em T3 deve-se principalmente pela ação das desiodases tipo 1 e tipo 2, sendo que esta

última é a principal responsável pela produção de T3 no meio intracelular (Bianco et al., 2002; Maia et al., 2011a, 2005a). Já a D3 é responsável pela inativação dos hormônios tireoidianos por meio da conversão de T4 em T3 reverso e de T3 em T2 mais T4 (Aires, 2008; Bianco et al., 2002; Köhrle, 1999; Maia et al., 2011b).

#### 1.1.5. Transportadores de membrana

As proteínas transportadoras de solutos (SLC) são responsáveis pelo transporte transmembrana celular dos HTs nas células alvo. A família dos polipeptídios transportadores de ânions orgânicos (OATP), os transportadores de aminoácidos tipo L (LAT) e os transportadores de monocarboxilato (MCT) compõem esse grupo de proteínas transportadoras (Muzzio et al., 2014; Stathatos, 2012).

Na família das proteínas MCT, a MCT8 e a MCT10 são as únicas que apresentaram evidências de serem transportadoras de HTs (Halestrap & Meredith, 2004; Visser et al., 2011). A MCT8 está presente em diversos tecidos de diferentes espécies de animais, nos humanos é expressa principalmente nas células do coração e do fígado (Price et al., 1998). Apresenta alta afinidade por HTs, desenvolvendo importante papel no influxo de T3, T4, T2 e rT3 (Friesema et al., 2003; Visser et al., 2008; Visser & Visser, 2012). Já a MCT10, apesar de transportar T4 e T3, possui afinidade elevada por T3 (Friesema et al., 2008; Visser & Visser, 2012).

A família de proteínas OATP realiza o transporte celular de HTs independente de sódio (Svoboda et al., 2011). O OATP do tipo 1C1 (OATP1C1) tem especificidade maior para T3r e T4 (Van Herck et al., 2013; Visser et al., 2011) e é encontrado vastamente no tecido cerebral, principalmente no plexo coróide e nos capilares cerebrais. Portanto desempenha importante papel no suprimento de HTs para o cérebro (Tohyama et al., 2004). Outros OATPs também transportam HTs, no entanto, apresentam menor afinidade (van der Deure et al., 2010; Visser et al., 2011).

O LAT1 e o LAT2 são heterodímeros da família LAT, que também são transportadores celulares de HTs (Kinne et al., 2011). O LAT2 é expresso no rim, no cérebro, no fígado, no intestino e cérebro (Loubière et al., 2010; Braun et al., 2011). Ambos (LAT1 e LAT2) estão presentes no tecido adiposo, nos testículos, na placenta, no pâncreas e nos mastócitos (Heuer & Visser, 2013).

### 1.1.6. Receptores intra-celulares de HTs

Os HT, quando no citoplasma celular, ligam-se a receptores nucleares, denominados de receptores para hormônios tireoideanos, induzindo a transcrição gênica (Cheng *et al.*, 2010). Estes estão ligados a sequências específicas de DNA regulando, assim, a expressão de genes e consequente codificação de proteínas alvo (Brent, 2012). Tais receptores apresentam em média 15 vezes mais afinidade por T3 do que por T4, razão pela qual o T3 é considerado o HT ativo (Darras *et al.*, 2015).

Os receptores nucleares dos HTs dividem-se em duas isoformas principais: TR $\alpha$  e TR $\beta$ . Existe três isoformas  $\alpha$  (TR $\alpha$ 1, TR $\alpha$ 2 e TR $\alpha$ 3) que se diferenciam pela composição da porção C-terminal (Tagami *et al.*, 2010). No entanto, apenas a TR $\alpha$ 1 se liga ativamente a T3 gerando transcrição gênica. Este receptor está expresso principalmente no cérebro, fígado, coração, rim, pulmão e músculos. O grupo de receptores  $\beta$ , dividem-se em TR $\beta$ 1, TR $\beta$ 2 e TR $\beta$ 3. O primeiro é expresso primariamente em fígado e rins (Williams, 2000). O TR $\beta$ 2 está presente principalmente em retina e cérebro, e o TR $\beta$ 3 em pulmão, fígado e rim (Cheng *et al.*, 2010). Em suma, as isoformas TR $\alpha$ 1, TR $\beta$ 1 e TR $\beta$ 2 são consideradas os verdadeiros receptores de hormônios tireoideanos pois se ligam a T3 gerando transcrição gênica (Fraichard *et al.*, 1997).

## 1.2. DESENVOLVIMENTO DA TIREOIDE E GESTAÇÃO

Em humanos, a tireoide começa a se desenvolver aproximadamente no 16º dia de gestação (Chung, 2014) e seus folículos começam a se formar por volta do 48º dia. A partir da 10ª semana gestacional, esta glândula encontra-se hábil a sintetizar hormônios e o seu volume aumenta com o decorrer da gestação (Trueba *et al.*, 2005). Com 12 semanas, já é possível detectar a presença destes hormônios na circulação fetal sendo que parte é de origem materna (Chung, 2014). A concentração de T4 no soro do feto atinge níveis de similares a de adultos aproximadamente na 36ª semana gestacional, enquanto que a concentração de T3 nunca ultrapassa 50% da materna durante toda a gestação. Já a concentração de TSH fetal é maior do que a materna durante toda gestação (Thorpe-Beeston *et al.*, 1991). A passagem de TSH via placentária é mínima, então concentrações baixas HT fetais são supridas por fonte materna via placenta (Vulsma *et al.*, 1989).

Em ratos, a tireoide encontra-se formada por volta do 17º dia embrionário e a partir do 20º dia está apta a produzir hormônios (Feldman *et al.*, 1961). No período pós-natal, a concentração sérica de HTs crescem acentuadamente até atingir níveis de adulto aproximadamente 40 dias após o nascimento (Fisher *et al.*, 1976).

Nos primórdios da gestação, a concentração adequada de HTs é fundamental para o desenvolvimento neuronal normal, sendo que os níveis encontrados no cérebro fetal refletem os níveis da circulação materna (Chan *et al.*, 2009). Em ratos, estes hormônios são derivados principalmente da circulação materna. No entanto, o T3 não consegue atravessar a barreira hemato-encefálica fetal, então todo T3 presente no cérebro é proveniente da conversão periférica a partir do T4 (Grijota-Martínez *et al.*, 2011). Neste aspecto, o hipotireoidismo materno pode impactar significativamente o desenvolvimento encefálico do feto e os níveis adequados de T4 materno são fundamentais para o desenvolvimento adequado do feto (Chan *et al.*, 2009).

Atualmente, existe diversas patologias da prática médica sem etiologia definida. Estudos clínicos epidemiológicos têm apontado relação entre a presença modificações no período intrauterino e a ocorrência destas doenças na vida adulta (Barker *et al.*, 1989). Dessa forma, recentes pesquisas objetivam estudar as repercussões do desenvolvimento fetal, sobretudo da ação dos HTs, na vida adulta (De Vivo *et al.*, 2010).

Durante o período gravídico ocorre um aumento da necessidade de HTs o que culmina com um aumento de 50% na produção destes hormônios e de 10% no tamanho desta glândula materna (Stagnaro-Green *et al.*, 2011). Estas mudanças evidenciam a importância dos HTs para o desenvolvimento fetal (Chung, 2014; Li *et al.*, 2014).

Este aumento na produção de T3 e T4 se deve a dois fatores principais. Os níveis elevados de estrógeno na gestação estimulam a produção hepática de TBG e como consequência acarreta aumento da concentração sérica de HTs e diminuição da porção livre destes hormônios e estímulo ao eixo hipotálamo-hipófise-tireóide (Stricker *et al.*, 2007). Ademais, a gonadotrofina coriônica (hCG), por possuir uma semelhança estrutural com TSH, estimula seus receptores na tireoide, induzindo a produção hormonal (Glinioer, 1997).

A elevação dos níveis de HTs durante a gestação resultam em redução da concentração sérica de TSH (Stagnaro-Green *et al.*, 2011). Dessa forma, é necessário adotar padrões de referência específicos para cada trimestre da gestação. De acordo com o Consenso Brasileiro para a abordagem clínica e tratamento do hipotireoidismo subclínico em adultos da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia, o hipotireoidismo é definido por valores de TSH > 2,5 mIU/L no primeiro triestre da gestação e > 3,5 mIU/L nos dois últimos trimestres (Sgarbi *et al.*, 2013). A prevalência estimada de hipotireoidismo no período gestacional varia de 5.5 a 15% (Blatt *et al.*, 2012; Ong *et al.*, 2014).

### 1.3. DROGAS PARA INDUÇÃO DO HIPOTIREOIDISMO EXPERIMENTAL

O hipotireoidismo experimental pode ser induzido por meio de drogas usadas para o tratamento do hipertireoidismo, como o Metimazol (MTZ) e o Propiltiouracil (PTU). O MTZ inibe a iodação da tireoglobulina, impedindo a síntese de HTs e com isso ocasionando redução da concentração plasmática destes hormônios (Goodman *et al.*, 2007). Estas drogas são capazes de atravessar a barreira placentária e são encontradas no leite materno (Diav-Citrin & Ornoy, 2002). Há evidências que o uso destas medicações durante a gestação causa hipotireoidismo fetal que geralmente é reversível após o parto (Kriplani *et al.*, 1994).

### 1.4. EFEITOS DO HIPOTIREOIDISMO NO PERÍODO INTRAUTERINO

O desenvolvimento fetal é marcado por uma intensa divisão celular que resulta na formação dos diferentes órgãos e tecidos, perturbações durante esse período podem acarretar alterações na função e estrutura dos sistemas orgânicos, que podem ser a causa de desordens sem etiologia definidas na vida adultas (Barker, 1989). Nesse sentido, o hipotireoidismo materno gera uma deficiência de HTs fetal e com isso pode culminar em consequências para esta prole na vida adulta (Chan & Rovet, 2003).

Em estudo experimental foi induzido hipotireoidismo em ratas com o uso de drogas antitiroideas (PTU e MTZ) durante a gestação e o período pós-natal evidenciou que a proles apresentou retardo no desenvolvimento neurológico, além de alteração na expressão de genes regulados por HTs no cérebro (Shibutani *et al.*, 2009). Além disso, foi evidenciado que a carência de T3 pode levar a deficiência auditiva, malformações cardíacas congênitas e déficit de crescimento em mamíferos (Li *et al.*, 2014). O hipotireoidismo gestacional experimental, induzido com MTZ, provocou alteração nociceptiva na prole de ratos em diferentes idades da vida adulta (Alves *et al.*, 2013).

A deficiência de HTs pode ocasionar retardo da mielinização, diminuição da vascularização e hipoplasia neuronal cortical. Assim, a reposição destes hormônios para mãe se faz necessária a fim de evitar um prejuízo para o desenvolvimento neuropsicomotor do filho (Setian, 2007). Corroborando com esses achados, um estudo epidemiológico com humanos mostrou que filhos de mães que apresentaram dosagem de T4 livre menor que limite inferior da normalidade na 12ª semana de gestação apresentaram déficit de desenvolvimento, em relação à população geral, quando avaliados aos 2 anos de idade (Pop *et al.*, 2003).

A disfunção tireoidiana materna pode levar também a alterações da função cardiovascular da prole. O hipotireoidismo gestacional experimental (HGE) foi associado à ocorrência de Hipertensão Arterial Sistêmica na vida adulta em prole de ratas tratadas com

MTZ durante a gestação (Santos *et al.*, 2012). Ademais, foi evidenciado que a deficiência materna de HTs pode gerar dificuldade visuais da prole de ratas (Hasegawa & Wada, 2013).

### 1.5. CIRCUITARIA DE DOR

A dor é uma experiência sensorial fisiológica e desagradável cuja finalidade é detectar e evitar danos teciduais (Velázquez *et al.*, 2007).

Os nociceptores são os receptores de dor da pele e são responsáveis por detectar possíveis estímulos lesivos e conduzi-los ao SNC. Estes receptores são ativados por diferentes estímulos: produtos químicos potencialmente lesivos, excesso de pressão temperaturas extremas e por lesão tecidual (Dubin & Patapoutian, 2010). Estudos experimentais mostram que a morfologia destas terminações nervosas é muito semelhante em humanos e ratos (Lewin & Moshourab, 2004). Para que ocorra a percepção de dor é necessário que nociceptores emitam potenciais de ação quando estimulados e esta informação chegue e seja interpretada pelo SNC (Dubin & Patapoutian, 2010).

A velocidade de condução de um impulso nervoso depende do diâmetro do axônio do neurônio que o conduz e da presença de mielina. Os nociceptores, em geral, são inervados por fibras de condução lenta do tipo C, que não são mielinizadas e apresenta pequeno diâmetro (Woolf & Ma, 2007). A dor aguda primária é conduzida por fibras do tipo A, que são mielinizadas e possuem maior velocidade de condução (Djoughri & Lawson, 2004). Já os nociceptores térmicos estão ligados a axônios mielinizados finos do tipo A $\delta$  que apresentam a maior velocidade de condução (Millan, 2002).

Estas fibras são axônios de neurônios cujos corpos celulares estão nos gânglios das raízes dorsais da medula, onde fazem sinapse com neurônios de segunda ordem, dando origem a via ascendente da dor (Millan, 1999). Os corpos celulares dos neurônios de segunda ordem se encontram no corno dorsal da medula espinhal e projetam suas fibras principalmente para o Tálamo onde fazem sinapse com os neurônios de terceira ordem. Na via clássica da dor, estes neurônios se projetam do tálamo para o córtex somatosensorial e para o giro cingulado anterior, responsáveis pela somatização e pelo componente emocional da dor, respectivamente (Russo and & Brose, 1998). Nesse sentido, o Tálamo possui importante papel na integração e transferência da informação nociceptiva. Os estímulos nociceptivos trazidos pela via ascendente da dor são recebidos e interpretados no tálamo quanto ao tipo (térmico, químico ou físico), localização topográfica, intensidade e padrão temporal (Millan, 1999).

Outras regiões do córtex cerebral também participam do processamento central da dor, como o núcleo parabrancual (PBN) e o córtex cingulado anterior (ACC) que apresentam importante papel no recebimento de informação nociceptiva (Millan, 1999). A indução da inatividade do núcleo parabrancual em ratos ocasionou a redução da resposta de dor (Coizet *et al.*, 2010). Já um estudo utilizando tomografia por emissão de pósitrons evidenciou que córtex insular e giro cingulado estão envolvidos na interpretação da nocicepção, sendo o ACC associado ao componente emocional da dor, visto que faz parte do sistema límbico (Tölle *et al.*, 1999). Ademais, ablação cirúrgica do ACC em ratos resultou em diminuição da sensação desagradável associada à nocicepção, mas não alterou a percepção da intensidade e localização do estímulo doloroso (Chen *et al.*, 2012).

A sensação dolorosa é o resultado do estímulo provenientes das vias aferentes nociceptivas e da regulação por outras fibras aferentes não-nociceptivas (Melzack & Wall, 1965). Ademais, existe diversos sistemas modulatórios cerebrais que regulam a percepção da dor por meio de vias descendentes originárias no tronco encefálico, córtex ou tálamo que modulam a transmissão do estímulo nociceptivo em nível medular (Millan, 1999).

A exacerbação dos reflexos nociceptivos após secção da medula espinhal evidenciou que as vias descendentes possuem ação inibitória (Gebhart, 2004). O entendimento a respeito do sistema modulatório descendente da dor foi possível após o estudo de Reynolds (1969) que mostrou que a estimulação do PAG bloqueou a percepção nociceptiva em ratos. Desde então, esta região é considerada uma importante área dos sistemas cerebrais de modulação nociceptiva além de ser sítio de ação de opióides (Yaksh & Rudy, 1978).

Outra origem de via descendente modulatória da nocicepção é o Bulbo ventromedial rostral (RVM) que resulta em bloqueio da condução de estímulos nervosos nociceptivos na medula por meio da ação no neurotransmissor Serotonina. Este neurotransmissor possui importante efeito na modulação dos estímulos da dor (Calvino & Grilo, 2006). A paraclorofenilalanina age bloqueando a produção de serotonina, isto resulta em bloqueio da analgesia resultante da estimulação central por este neurotransmissor (Stamford, 1995). O núcleo magno da rafe e o núcleo dorsal da rafe (NDR) são núcleos da rafe produtores de serotonina e que apresentam papel nas vias descendentes de controle da dor, sendo que o NDR é apontado como importante para o começo da estimulação analgésica (Stamford, 1995).

Além disso, as evidências também apontam a Noradrenalina como neurotransmissor relacionado à modulação da informação nociceptiva por meio de vias descendentes e de estimulação central, visto que a redução experimental da concentração medular deste neurotransmissor resultou em exacerbação do processo algico (Sagen & Proudfit, 1984). O

efeito antinociceptivo da noradrenalina no SNC é mediado por sua ligação em receptores  $\alpha$ -adrenérgicos encontrados em diversas regiões como hipotálamo, *Locus cerúleos*, RVM e amígdala (Zhang et al., 2010).

Por fim, há evidências fortes de que outros neurotransmissores estão envolvidos na modulação da percepção de dor, tais como a dopamina, o gaba e os opioides endógenos (encefalina e endorfinas) (Millan, 1999).

As vias descendentes também podem apresentar efeito facilitador na modulação das informações nociceptivas. Estudos evidenciaram que as vias descendentes do RVM podem estimular ou inibir os estímulos de dor provenientes da periferia e com isso ocasionar hiperalgesia ou analgesia respectivamente (Gebhart, 2004). Nesse sentido, regiões dos sistemas modulatórios nociceptivos cerebrais como o RVM e o PAG podem estar envolvidos com estados de manutenção da dor mesmo na ausência de permanência do estímulo lesivo (Staud, 2013).

## 1.6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Inúmeros estudos têm buscado compreender a neurobiologia do desenvolvimento das vias de percepção e modulação descendente da dor em animais e seres humanos (Millan, 2002; Melzack, 1965). Estão evidenciados efeitos do hipotireoidismo no desenvolvimento do sistema nervoso central (SNC) e em diversos outros órgãos e sistemas (Teng, 1998; Bruno NA, 2005). Estudos experimentais têm avaliado a nocicepção de estímulos térmicos, químicos e mecânicos em ratos filhos de mães hipotireóideas (Alves, 2013). Porém, até o presente momento, o efeito do hipotireoidismo gestacional experimental em áreas encefálicas importantes na regulação da dor, ainda não foi investigado. Alguns estudos já relataram influência da carência de HT no período perinatal no desenvolvimento do sistema nervoso central (Teng CG, 1998; Bruno NA, 2005) e de outros sistemas orgânicos como o cardiovascular (Sluka, 2000). Também foi mostrado que HGE provoca alterações na nocicepção térmica espinhal da prole de ratos (Alves, 2013). No entanto, ainda não se tem relatos de estudos de hipotireoidismo exclusivamente no período pré-natal que façam análise da nocicepção supraespinal da prole de ratas hipotireóideas.

Estudos experimentais com animais evidenciam que o desenvolvimento da circuitaria neuronal somatossensorial do feto seja dependente de HTs fornecidos pela mãe durante a gestação (Besson, 1999). Desta forma, o HGE pode estar relacionado com o desenvolvimento de doenças hiper ou hipoalgesicas sem etiologia definidas. Nesse sentido, este estudo visa a

compreender os efeitos dos HTs de origem materna no desenvolvimento da circuitaria neuronal somatossensorial durante o desenvolvimento fetal.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aires M.M., 2008. Fisiologia. Editora Guanabara Koogan, 3ª edição.
- 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
- Baqui, M.M., Gereben, B., Harney, J.W., Larsen, P.R., Bianco, A.C., 2000. Distinct subcellular localization of transiently expressed types 1 and 2 iodothyronine deiodinases as determined by immunofluorescence confocal microscopy. *Endocrinology* 141, 4309–4312. doi:10.1210/endo.141.11.7872
- 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., 2006. 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
- Braun, D., Wirth, E.K., Wohlgemuth, F., Reix, N., Klein, M.O., Grüters, A., Köhrle, J., Schweizer, U., 2011. Aminoaciduria, but normal thyroid hormone levels and signalling, in mice lacking the amino acid and thyroid hormone transporter Slc7a8. *Biochem. J.* 439, 249–255. doi:10.1042/BJ20110759
- Brent, G.A., 2012. Mechanisms of thyroid hormone action. *J. Clin. Invest.* 122, 3035–3043. doi:10.1172/JCI60047
- Calvino, B., Grilo, R.M., 2006. Central pain control. *Jt. Bone Spine Rev. Rhum.* 73, 10–16. doi:10.1016/j.jbspin.2004.11.006
- 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

- Chen, F.-L., Dong, Y.-L., Zhang, Z.-J., Cao, D.-L., Xu, J., Hui, J., Zhu, L., Gao, Y.-J., 2012. Activation of astrocytes in the anterior cingulate cortex contributes to the affective component of pain in an inflammatory pain model. *Brain Res. Bull.* 87, 60–66. doi:10.1016/j.brainresbull.2011.09.022
- 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
- Christensen, E.I., Birn, H., 2002. Megalin and cubilin: multifunctional endocytic receptors. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 3, 256–266. doi:10.1038/nrm778
- 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
- Coizet, V., Dommett, E.J., Klop, E.M., Redgrave, P., Overton, P.G., 2010. The parabrachial nucleus is a critical link in the transmission of short latency nociceptive information to midbrain dopaminergic neurons. *Neuroscience* 168, 263–272. doi:10.1016/j.neuroscience.2010.03.049
- 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
- De Vivo, A., Mancuso, A., Giacobbe, A., Moleti, M., Maggio Savasta, L., De Dominicis, R., Priolo, A.M., Vermiglio, F., 2010. Thyroid function in women found to have early pregnancy loss. *Thyroid Off. J. Am. Thyroid Assoc.* 20, 633–637. doi:10.1089/thy.2009.0323
- Diav-Citrin, O., Ornoy, A., 2002. Teratogen update: antithyroid drugs-methimazole, carbimazole, and propylthiouracil. *Teratology* 65, 38–44. doi:10.1002/tera.1096
- Djoughri, L., Lawson, S.N., 2004. Abeta-fiber nociceptive primary afferent neurons: a review of incidence and properties in relation to other afferent A-fiber neurons in mammals. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 46, 131–145. doi:10.1016/j.brainresrev.2004.07.015
- 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.
- Fraichard, A., Chassande, O., Plateroti, M., Roux, J.P., Trouillas, J., Dehay, C., Legrand, C., Gauthier, K., Keding, 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., 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

- Gebhart, G.F., 2004. Descending modulation of pain. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 27, 729–737. doi:10.1016/j.neubiorev.2003.11.008
- 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
- Glinioer, 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
- 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, J.H., Gilbert, M.E., 2007. Modest thyroid hormone insufficiency during development induces a cellular malformation in the corpus callosum: a model of cortical dysplasia. *Endocrinology* 148, 2593–2597. doi:10.1210/en.2006-1276
- 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
- Kinne, A., Schüle, R., Krause, G., 2011. Primary and secondary thyroid hormone transporters. *Thyroid Res.* 4, S7. doi:10.1186/1756-6614-4-S1-S7
- Köhrle, J., 1999. Local activation and inactivation of thyroid hormones: the deiodinase family. *Mol. Cell. Endocrinol.* 151, 103–119.
- Kriplani, A., Buckshee, K., Bhargava, V.L., Takkar, D., Ammini, A.C., 1994. Maternal and perinatal outcome in thyrotoxicosis complicating pregnancy. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 54, 159–163.
- 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
- 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
- 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
- Maia, A.L., Goemann, I.M., Meyer, E.L.S., Wajner, S.M., 2011b. 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
- Melzack, R., Wall, P.D., 1965. Pain mechanisms: a new theory. *Science* 150, 971–979.
- 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., 2002. Descending control of pain. *Prog. Neurobiol.* 66, 355–474.
- Millan, M.J., 1999. The induction of pain: an integrative review. *Prog. Neurobiol.* 57, 1–164.
- Moreno, J.C., Bikker, H., Kempers, M.J.E., van Trotsenburg, A.S.P., Baas, F., de Vijlder, J.J.M., Vulsma, 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
- Narumi, S., Hasegawa, T., 2015. TSH resistance revisited [Review]. *Endocr. J.* doi:10.1507/endocrj.EJ15-0131
- Ong, G.S.Y., Hadlow, N.C., Brown, S.J., Lim, E.M., Walsh, J.P., 2014. 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
- Pop, V.J., Brouwers, E.P., Vader, H.L., Vulsma, T., van Baar, A.L., de Vijlder, J.J., 2003. Maternal hypothyroxinaemia during early pregnancy and subsequent child development: a 3-year follow-up study. *Clin. Endocrinol. (Oxf.)* 59, 282–288.
- 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.
- Reynolds, D.V., 1969. Surgery in the rat during electrical analgesia induced by focal brain stimulation. *Science* 164, 444–445.
- 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

- Russo, C.M., and William G. Brose, 1998. Chronic Pain. *Annu. Rev. Med.* 49, 123–133. doi:10.1146/annurev.med.49.1.123
- Sagen, J., Proudfit, H.K., 1984. Effect of intrathecally administered noradrenergic antagonists on nociception in the rat. *Brain Res.* 310, 295–301.
- 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
- Setian, N.S., 2007. Hypothyroidism in children: diagnosis and treatment. *J. Pediatr. (Rio J.)* 83, S209–216. doi:doi:10.2223/JPED.1716
- Sgarbi, J.A., Teixeira, P.F.S., Maciel, L.M.Z., Mazeto, G.M.F.S., Vaisman, M., Junior, M., M, R., Ward, L.S., 2013. The Brazilian consensus for the clinical approach and treatment of subclinical hypothyroidism in adults: recommendations of the thyroid Department of the Brazilian Society of Endocrinology and Metabolism. *Arq. Bras. Endocrinol. Amp Metabol.* 57, 166–183. doi:10.1590/S0004-27302013000300003
- Shibutani, M., Woo, G.-H., Fujimoto, H., Saegusa, Y., Takahashi, M., Inoue, K., Hirose, M., Nishikawa, A., 2009. Assessment of developmental effects of hypothyroidism in rats from in utero and lactation exposure to anti-thyroid agents. *Reprod. Toxicol. Elmsford N* 28, 297–307. doi:10.1016/j.reprotox.2009.04.011
- 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
- Stamford, J.A., 1995. Descending control of pain. *Br. J. Anaesth.* 75, 217–227.
- Stathatos, N., 2012. Thyroid Physiology. *Med. Clin. North Am.* 96, 165–173. doi:10.1016/j.mcna.2012.01.007
- Staud, R., 2013. The important role of CNS facilitation and inhibition for chronic pain. *Int. J. Clin. Rheumatol.* 8, 639–646. doi:10.2217/ijr.13.57
- Stricker, R., Echenard, M., Eberhart, R., Chevailler, 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
- Svoboda, M., Riha, J., Wlcek, K., Jaeger, W., Thalhammer, T., 2011. Organic anion transporting polypeptides (OATPs): regulation of expression and function. *Curr. Drug Metab.* 12, 139–153.
- Tagami, T., Yamamoto, H., Moriyama, K., Sawai, K., Usui, T., Shimatsu, A., Naruse, M., 2010. Identification of a novel human thyroid hormone receptor beta isoform as a transcriptional modulator. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 396, 983–988. doi:10.1016/j.bbrc.2010.05.038
- Thorpe-Beeston, J.G., Nicolaidis, K.H., Felton, C.V., Butler, J., McGregor, A.M., 1991. Maturation of the secretion of thyroid hormone and thyroid-stimulating hormone in the fetus. *N. Engl. J. Med.* 324, 532–536. doi:10.1056/NEJM199102213240805

- Tohyama, K., Kusuhara, H., Sugiyama, Y., 2004. Involvement of multispecific organic anion transporter, Oatp14 (Slc21a14), in the transport of thyroxine across the blood-brain barrier. *Endocrinology* 145, 4384–4391. doi:10.1210/en.2004-0058
- Tölle, T.R., Kaufmann, T., Siessmeier, T., Lautenbacher, S., Berthele, A., Munz, F., Zieglgänsberger, W., Willoch, F., Schwaiger, M., Conrad, B., Bartenstein, P., 1999. Region-specific encoding of sensory and affective components of pain in the human brain: a positron emission tomography correlation analysis. *Ann. Neurol.* 45, 40–47.
- 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
- van der Deure, W.M., Peeters, R.P., Visser, T.J., 2010. Molecular aspects of thyroid hormone transporters, including MCT8, MCT10, and OATPs, and the effects of genetic variation in these transporters. *J. Mol. Endocrinol.* 44, 1–11. doi:10.1677/JME-09-0042
- Van Herck, S.L.J., Geysens, S., Delbaere, J., Darras, V.M., 2013. Regulators of thyroid hormone availability and action in embryonic chicken brain development. *Gen. Comp. Endocrinol.* 190, 96–104. doi:10.1016/j.ygcen.2013.05.003
- Velázquez, K.T., Mohammad, H., Sweitzer, S.M., 2007. Protein kinase C in pain: Involvement of multiple isoforms. *Pharmacol. Res. Off. J. Ital. Pharmacol. Soc.* 55, 578–589. doi:10.1016/j.phrs.2007.04.006
- 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
- Visser, W.E., Friesema, E.C.H., Jansen, J., Visser, T.J., 2008. Thyroid hormone transport in and out of cells. *Trends Endocrinol. Metab. TEM* 19, 50–56. doi:10.1016/j.tem.2007.11.003
- 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
- Vulsma, T., Gons, M.H., de Vijlder, J.J., 1989. Maternal-fetal transfer of thyroxine in congenital hypothyroidism due to a total organification defect or thyroid agenesis. *N. Engl. J. Med.* 321, 13–16. doi:10.1056/NEJM198907063210103
- 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
- Yaksh, T.L., Rudy, T.A., 1978. Narcotic analgesics: CNS sites and mechanisms of action as revealed by intracerebral injection techniques. *Pain* 4, 299–359.
- Zhang, G.-W., Yang, C.-X., Zhang, D., Gao, H.-E., Zhang, Y., Jiao, R.-S., Zhang, H., Liang, Y., Xu, M.-Y., 2010. Noradrenergic mechanism involved in the nociceptive modulation of nociceptive-related neurons in the caudate putamen. *Neurosci. Lett.* 480, 59–63. doi:10.1016/j.neulet.2010.06.003

## **2. NORMAS DE PUBLICAÇÃO**

### **ARCHIVES OF ENDOCRINOLOGY AND METABOLISM**

#### **Publicação de Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia**

Versão para impressão ISSN 2359-3997

Versão online ISSN 2359-4292

**Missão:** Publicar e disponibilizar à comunidade médica e científica contribuições científicas clínicas e básicas nacionais e internacionais no campo da endocrinologia e metabolismo e ciências afins.

**Indexado em:** Resumos Biológicos; Index Medicus; ISI-Web of Science - Thomson Reuters; Latindex; LILACS; MEDLINE-PubMed e SCOPUS.

## **INSTRUÇÕES AOS AUTORES**

### **Informação geral**

Nós enfatizamos a importância de seguir estas instruções cuidadosamente. Não fazer isso irá atrasar o processamento do seu manuscrito.

Os manuscritos devem ser submetidos exclusivamente ao AE & M e não devem ter sido publicados, ou estar sob consideração para publicação em qualquer forma substancial, em outro periódico - profissional ou leigo.

Os artigos que não atenderem a esses requisitos serão devolvidos ao autor para as revisões necessárias antes da revisão formal.

Todas as submissões são inicialmente avaliadas em profundidade pelos editores científicos. Os artigos que não estiverem em conformidade com os critérios gerais de publicação serão devolvidos aos autores sem revisão detalhada, geralmente dentro de três a cinco dias. Caso contrário, os manuscritos serão enviados aos revisores (mais comumente dois).

A Revista adota o sistema Crosschek para identificação de plágio. Artigos aceitos para publicação tornam-se propriedade da revista.

### **Forma e preparação de manuscritos**

## **1. Formato geral**

O AE & M exige que todos os manuscritos sejam enviados em um formato de coluna única que siga estas diretrizes:

O manuscrito deve ser submetido no formato MS-Word.

Todo o texto deve ter espaço duplo com margens de 2 cm em ambos os lados, usando fonte Times Roman ou Arial tipo 11 pontos.

Todas as linhas devem ser numeradas ao longo de todo o manuscrito e todo o documento deve ser paginado.

Todas as tabelas e figuras devem ser colocadas após o texto e devem ser rotuladas. O MS deve estar completo, incluindo a página de título, resumo, figuras e tabelas.

Os artigos enviados sem todos esses componentes serão suspensos até que o manuscrito esteja completo. Todas as submissões devem incluir:

Uma carta de apresentação solicitando a avaliação do manuscrito para publicação no AE & M, e qualquer informação relevante para o manuscrito. No formulário de submissão, os autores podem sugerir até três revisores específicos e/ou solicitar a exclusão de até três outros.

O manuscrito deve ser apresentado na seguinte ordem:

Folha de rosto.

Resumo estruturado (ou resumo para relatos de casos).

Texto principal.

Tabelas e Figuras. Eles devem ser citados no texto principal em ordem numérica.

Agradecimentos

Declaração de financiamento, interesses concorrentes e quaisquer subvenções ou bolsas de apoio ao estudo.

Lista de referências.

### **1.1 Página de Título**

A página de título deve conter as seguintes informações:

Título do artigo (uma declaração concisa do conteúdo principal do artigo).

Nomes completos, departamentos, instituições, cidade e país de todos os co-autores.

Nome completo, endereço postal, e-mail, números de telefone e fax do autor correspondente.

Título abreviado de no máximo 40 caracteres para cabeçalhos de página.

Até cinco palavras-chave ou frases adequadas para uso em um índice (o uso de termos MeSH é recomendado).

Contagem de palavras - excluindo página de título, resumo, referências, figuras / tabelas e suas legendas.

Tipo de artigo

## **1.2 Resumo**

Todos os Artigos Originais, Relatórios Resumidos, Revisões, Relatos de Casos devem ser submetidos com resumos de no máximo 250 palavras. O resumo deve ser independente e claro, sem referência ao texto. O formato abstrato deve incluir quatro seções que refletem os títulos das seções no texto principal. Todas as informações relatadas no resumo devem aparecer no MS. Por favor, use frases completas para todas as seções do resumo.

## **1.3 Introdução**

O objetivo da introdução é chamar a atenção do leitor para o artigo, com uma perspectiva histórica e uma justificativa para os objetivos.

## **1.4 Materiais e Métodos**

Estes devem ser descritos e referenciados em detalhes suficientes para que outros pesquisadores possam avaliar e repetir o estudo. A fonte de hormônios, produtos químicos e reagentes incomuns e peças especiais do aparelho devem ser declaradas. Para métodos modificados, apenas as modificações devem ser descritas.

## **1.5 Resultados e Discussão**

A seção Resultados deve apresentar brevemente os dados experimentais em texto, tabelas e / ou figuras. A repetição, no texto, dos resultados apresentados nas tabelas deve ser evitada. Para mais informações sobre a preparação de tabelas e figuras, veja abaixo. A discussão deve focar a interpretação e a significância dos resultados, com comentários objetivos concisos que descrevem sua relação com outros estudos nessa área. A discussão não deve reiterar os resultados; deve conter sugestões para explicá-las e deve terminar com as conclusões.

## **1.6 Autoria**

A AE & M atribui as diretrizes de autoria e contribuição definida pelo Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas ( [www.icmje.org](http://www.icmje.org) ). Autoria conjunta irrestrita é permitida.

O crédito de autoria deve basear-se apenas em contribuições substanciais para:

A concepção e design, ou análise e interpretação de dados;

A redação do artigo ou sua revisão crítica para conteúdo intelectual importante;

A aprovação final da versão a ser publicada.

Todas essas condições devem ser atendidas. O autor correspondente é responsável por garantir que todos os colaboradores apropriados sejam listados como autores e que todos os autores tenham concordado com o conteúdo do manuscrito e sua submissão ao AE & M.

### **1.7 Conflito de interesses**

Uma declaração de conflito de interesses para todos os autores deve ser incluída no documento principal, após o texto, na seção Agradecimentos. Mesmo que os autores não tenham nenhum conflito de interesse relevante para divulgar, isso deve ser indicado na seção Agradecimentos.

### **1.8 Agradecimentos**

A seção Agradecimentos deve incluir os nomes das pessoas que contribuíram para um estudo, mas não atenderam aos requisitos de autoria. O autor correspondente é responsável por informar cada pessoa listada na seção de reconhecimento de que foi incluída e qual é sua contribuição. Cada pessoa listada nos agradecimentos deve dar permissão - por escrito, se possível - para o uso de seu nome. É de responsabilidade do autor correspondente fornecer essas informações.

### **1.9 Referências**

As referências à literatura devem ser citadas em ordem numérica (entre parênteses) no texto e listadas na mesma ordem numérica no final do manuscrito, em página ou páginas separadas. O autor é responsável pela precisão das referências. O número de referências citadas é limitado para cada categoria de envio, conforme indicado abaixo.

### **1.10 Tabelas**

As tabelas devem ser enviadas no mesmo formato do artigo (Word) e não em outro formato. Por favor, note que as tabelas não são aceitáveis como arquivos do Excel. 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 ser inteligíveis

sem referência ao texto. Cada tabela deve ter um cabeçalho conciso. Uma descrição das condições experimentais pode aparecer junto com notas de rodapé ao pé da mesa.

### **1.11 Gráficos e Figuras**

Todos os gráficos e figuras devem ser numerados. Os autores são responsáveis pela formatação digital, fornecendo arte digital que foi dimensionada adequadamente. Todas as figuras coloridas serão reproduzidas em cores na edição on-line da revista sem nenhum custo para os autores. Solicita-se aos autores que paguem o custo de reproduzir figuras coloridas na edição impressa (a editora fornecerá cotações de preços após a aceitação do manuscrito).

### **1.12 Fotografias**

A AE & M prefere publicar fotos de pacientes desmascaradas. Encorajamos todos os autores potenciais a trabalhar com as famílias antes da submissão e abordar a questão da permissão para revisão e possível publicação de imagens de pacientes. Se a EM contiver imagens de pacientes identificáveis ou outras informações de saúde protegidas, os autores devem fornecer permissão documentada do paciente (ou dos pais, tutor ou representante legal do paciente) antes que o material específico circule entre editores, revisores e funcionários para fins possíveis publicação em AE & M. Se for necessário identificar um indivíduo, use uma designação numérica (por exemplo, Paciente 1) em vez de usar quaisquer outras notações de identificação, como iniciais.

### **1.13 Unidades de Medida**

Os resultados devem ser expressos em unidades métricas. A temperatura deve ser expressa em graus Celsius e hora do dia usando o relógio de 24 horas (por exemplo, 0800 h, 1500 h).

### **1.14 Abreviações padrão**

Todas as abreviaturas devem ser imediatamente definidas após serem usadas pela primeira vez no texto.

### **1.15 Pacientes**

Para que o EM seja considerado para publicação, todas as investigações clínicas descritas nos manuscritos submetidos devem ter sido conduzidas de acordo com as diretrizes

da Declaração de Helsinque e devem ter sido formalmente aprovadas pelos comitês de revisão institucional apropriados ou seus equivalentes.

As populações do estudo devem ser descritas em detalhes. Os assuntos devem ser identificados apenas por número ou letra, não por iniciais ou nomes. Fotografias de rostos de pacientes devem ser incluídas apenas se cientificamente relevantes. Os autores devem obter o consentimento por escrito do paciente para o uso de tais fotografias. Para mais detalhes, consulte as Diretrizes Éticas.

Os autores devem revelar um potencial conflito de interesse aos participantes do estudo e devem indicar no manuscrito que o fizeram.

### **1.16 Animais experimentais**

Uma declaração confirmando que toda a experimentação animal descrita no manuscrito foi conduzida de acordo com padrões aceitos de cuidados com animais humanos, conforme descrito nas Diretrizes Éticas, deve ser incluída no manuscrito.

### **1.17 Descrições de Genética Molecular**

Use a terminologia padrão para variantes, fornecendo números de rs para todas as variantes relatadas. Os detalhes do ensaio (sequências de primers, condições de PCR, etc.) devem ser descritos de forma muito concisa juntamente com os números rs. Os pedigrees devem ser elaborados de acordo com os padrões publicados (ver Bennett et al., J Genet Counsel (2008) 17: 424-433 -DOI: 10.1007 / s10897-008-9169-9).

### **1.18 Nomenclaturas**

Para genes, use notação genética e símbolos aprovados pelo Comitê de Nomenclatura Genética do HUGO (HGNC) - (<http://www.genenames.org/>).

Para nomenclatura de mutação, por favor, use as diretrizes de nomenclatura sugeridas pela Human Genome Variation Society ().

Fornecer informações e uma discussão de partidas do equilíbrio de Hardy-Weinberg para os polimorfismos calculados na população estudada. O cálculo do HWE pode ajudar a descobrir erros de genotipagem e impacto em métodos analíticos.

Fornecer frequências originais de genótipos, alelos e haplótipos.

Sempre que possível, os medicamentos devem receber seu nome genérico aprovado. Quando um nome proprietário (marca) é usado, ele deve começar com uma letra maiúscula.

Os acrônimos devem ser usados com parcimônia e totalmente explicados quando usados pela primeira vez.

## **2. Tipos de artigos**

Relatórios de pesquisa original podem ser submetidos à AE & M como artigos originais, artigos de revisão, relatos de casos, relatórios breves, declarações de consenso e cartas aos editores. Os tipos de artigos são descritos abaixo.

### **2.1 Artigos originais**

O Artigo Original é um relatório científico dos resultados de pesquisa original que não foi publicada ou submetida para publicação em outro lugar (impressa ou eletrônica). Representa um corpo substancial de trabalho laboratorial ou clínico. Em geral, os Artigos Originais não devem exceder 3.600 palavras no texto principal, incluir mais de seis figuras e tabelas, ou mais de 35 referências no estilo Vancouver.

### **2.2 Artigos de Revisão**

A AE & M publica artigos de revisão que mostram uma perspectiva equilibrada sobre questões oportunas no campo da endocrinologia clínica. Todas as revisões são enviadas a convite e estão sujeitas a revisão por pares. Os artigos desta categoria são solicitados pelos editores a autores com experiência comprovada no campo. Autores que considerarem a submissão de revisões não-convidadas devem contatar os editores com antecedência para determinar se o tópico que eles propõem é de interesse potencial atual para a Revista.

Os artigos de revisão devem ter no máximo 4.000 palavras no texto principal, incluir no máximo quatro figuras e tabelas e não mais de 60 referências no estilo Vancouver. Os autores devem mencionar a fonte e / ou solicitar autorização para uso de figuras ou tabelas previamente publicadas.

### **2.3 Declarações de consenso**

Consenso Os enunciados relacionados aos padrões de saúde e práticas de saúde endócrina e metabólica podem ser submetidos por sociedades profissionais, forças-tarefa e outros consórcios. Todas essas submissões serão submetidas a revisão por pares, devem ser modificáveis em resposta a críticas e serão publicadas somente se atenderem aos padrões editoriais usuais da Revista. As declarações de consenso geralmente não devem ter mais de

3.600 palavras no texto principal, incluir no máximo seis figuras e tabelas e não mais de 60 referências no estilo de Vancouver.

## **2.4 Breve relatório**

O relatório Breve consiste em novos dados de importância suficiente para garantir a publicação imediata. É uma descrição sucinta do estudo focado com resultados importantes, mas muito diretos, negativos ou confirmatórios. Brevidade e clareza são sempre susceptíveis de aumentar a chance de um manuscrito ser aceito para publicação. Os relatórios breves devem ter no máximo 1.500 palavras no texto principal e até 20 referências no estilo Vancouver, e não mais do que duas ilustrações (tabelas ou figuras, ou uma de cada).

## **2.5 Relato de Caso**

Um Relato de Caso é uma comunicação breve que apresenta relatórios de casos coletados ou únicos de importância clínica ou científica. Esses relatórios devem ser concisos e focados na questão a ser discutida. Eles devem abordar observações de pacientes ou famílias que contribuem substancialmente para o conhecimento da etiologia, patogênese e delineamento da história natural ou gestão da condição descrita. Os Relatos de Casos devem ter 2.000 palavras ou menos, com no máximo quatro figuras e tabelas, e não mais do que 30 referências no estilo Vancouver.

Os relatos de casos só serão considerados para publicação se trouxerem contribuições importantes para a área básica de tradução ou clínica, preferencialmente em conjunto com uma revisão da literatura.

## **2.6 Cartas ao Editor**

Cartas ao Editor podem ser submetidas em resposta ao manuscrito que foi publicado na Revista. As cartas devem ser breves comentários relacionados a pontos específicos de concordância ou desacordo com o manuscrito publicado. As cartas não são destinadas à apresentação de dados originais não relacionados a um artigo publicado. As cartas devem ter no máximo 500 palavras, com não mais do que cinco referências completas no estilo Vancouver, e não devem incluir figuras ou tabelas.

## **Submissão dos manuscritos**

Os autores assumem toda a responsabilidade por não ter publicado o artigo antes ou não tê-lo sob análise por outra publicação. Todas as contribuições científicas são revisadas pelo

editor-chefe, editores associados e membros do corpo editorial. Os artigos são enviados apenas aos revisores, desde que cumpram integralmente as instruções aos autores. Os artigos também são submetidos à revisão estatística, se necessário. A aceitação é baseada na originalidade, significância e contribuição científica para o conhecimento nesta área.

Não há taxas para artigos de submissão e revisão.

### 3. ARTIGO ORIGINAL

#### EFEITOS DO HIPOTIREOIDISMO GESTACIONAL EXPERIMENTAL NA NOCICEPÇÃO SUPRAESPINHAL NA PROLE DE RATOS ANTES E APÓS A APLICAÇÃO DE MORFINA

EFFECTS OF EXPERIMENTAL GESTATIONAL HYPOTHYROIDISM ON SUPRAESPINAL  
NOCICEPTION IN RAT'S OFFSPRING BEFORE AND AFTER INJECTION OF MORPHINE

Márcio Couto Gomes<sup>1</sup>; Iura Gonzalez Nogueira Alves<sup>2</sup>; Amanda Gontijo Moreira<sup>1</sup>; Edenia Cunha Menezes<sup>2</sup>; Fabíula Francisca de Abreu<sup>2</sup>; Daniel Badaue-Passos Jr.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Medicina, Universidade Federal de Sergipe (UFS), Aracaju, SE, Brasil.

<sup>2</sup> Departamento de Fisiologia, Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristóvão, SE, Brasil

**Correspondência para:**

Daniel Badaue Passos Júnior

Av. Marechal Rondon, SN. Departamento de Fisiologia / CCBS / UFS

49100-000 – São Cristóvão, SE, Brasil

badauejr@ufs.br

(79) 98839-4911

**Título abreviado:** Hipotireoidismo gestacional na nocicepção na prole

**Palavras-chave:** Nocicepção, Morfina, Hipotireoidismo gestacional, Placa quente, Ratos, Prole, Programação fetal

**Número de palavras:** 2134

**Tipo de artigo:** artigo original.

## RESUMO

Hormônios tireoideanos são essenciais para adequado desenvolvimento dos sistemas fisiológicos, dentre eles o Sistema Nervoso Central. Assim, as doenças maternas da tireoide durante a gestação podem ser responsáveis pelo aparecimento de desordens neurológicas. Concentrações séricas de hormônios tireoideanos maternos adequadas, especialmente no início da gestação, desempenham um papel importante para assegurar desenvolvimento normal da prole. Este estudo objetiva investigar as repercussões do hipotireoidismo gestacional experimental (HGE) na função nociceptiva supraespinhal e na circuitaria opioidérgica da prole de ratas. O HGE foi induzido adicionando metimazol a 0,02% na água de beber a partir do nono dia de gestação até o parto. Machos da prole de mães hipo- (n=14) e eutireoideanas (n=14) foram submetidos à avaliação basal do limiar nociceptivo com 60 dias pós-natal por meio do aparato da Placa Quente (52°C). Para tanto foi medida a latência da resposta de lambertura vigorosa da pata traseira. Em seguida, os animais receberam injeção intraperitoneal de 3 mg/kg de morfina e foram novamente alocados na placa quente para avaliação do limiar nociceptivo aos 30, 60, 90 e 120 minutos após a injeção desta droga. Após análise dos dados, foi possível constatar que o HGE não afetou o limiar nociceptivo basal supraespinhal da prole. No entanto, promoveu aumento deste limiar aos 30 e 60 minutos após a injeção da morfina (fator interação:  $F(4,100)=2.49$ ;  $p<0.05$ ). Assim, o HGE não altera a nocicepção térmica basal supraespinhal da prole, porém eleva a sensibilidade a morfina. Isto indica um possível aumento compensatório da expressão ou da sensibilidade de receptores opioidérgicos na circuitaria de modulação nociceptiva.

**PALAVRAS-CHAVE:** Nocicepção, Morfina, Hipotireoidismo gestacional, Placa quente, Ratos, Prole, Programação fetal.

## ABSTRACT

Thyroid hormones are essential for the adequate development of physiological systems, as the Central Nervous System. Thus, thyroid diseases may be responsible for neurological disorders in adulthood of offspring. Adequate serum concentrations of maternal thyroid hormones, especially at the first trimester of gestation, play an important role in ensuring adequate offspring development. This study aims to investigate the repercussions of experimental gestational hypothyroidism (EGH) on the supra-spinal nociceptive function and on the opioidergic circuitry of rats' offspring. EGH was induced by adding 0.02% methimazole in drinking water from the ninth day of gestation until delivery. Male offspring of hypo (n=14) and euthyroid (n=14) mothers were submitted to baseline nociceptive threshold assessment at 60 days postnatal using a Hot Plate apparatus (52 ° C), by measuring the latency of the vigorous licking response of the hind paw. Subsequently, the animals received intraperitoneal injection of morphine (3 mg / kg) and were reassigned on the hot plate for nociceptive threshold evaluation at 30, 60, 90 and 120 min after the injection. The EGH did not affect the supra-spinal nociceptive threshold in the offspring. However, the use of morphine increases the nociceptive threshold at 30 and 60 minutes after injection of morphine (interaction factor:  $F(4,100) = 2.49$ ,  $p < 0.05$ ). Thus, HGE does not affect the basal thermal nociception of the offspring but raises the sensibility to morphine. This result show that EGH can increase the expression or sensitivity in opioidergic receptors of pain modulatory circuitry.

KEYWORDS: Nociception, Morphine, Gestational hypothyroidism, Hot plate, Rats, Offspring, Fetal programming

## INTRODUÇÃO

Doenças frequentes e que provocam dor crônica podem ter etiologia indefinida (e.g.: fibromialgia). Recentes estudos sugerem que a origem de tais doenças pode estar na exposição a condições adversas durante a vida intrauterina ou perinatal, marcando o indivíduo temporária ou permanentemente, ao longo de sua vida (1-2).

A carência de hormônios tireoidianos (HTs) durante a gestação afeta cerca de 5 a 15% das mulheres grávidas (3-4). Durante o período intrauterino, o feto é incapaz de suprir sua demanda de hormônios tireoidianos, dependendo do fornecimento materno. Nesse sentido, o hipotireoidismo gestacional pode prejudicar o desenvolvimento da prole (5). Estudos de corte em humanos tem evidenciado que o hipotireoidismo materno na gestação está associado a um maior número de complicações perinatais (6), e além disso foi demonstrado que uma ingestão insuficiente de iodo na gravidez está associada a menores habilidades de linguagem infantil até 18 meses de idade (7).

Inúmeros estudos têm buscado compreender a neurobiologia do desenvolvimento das vias de percepção e modulação descendente da dor em animais e seres humanos (8-9). Estão evidenciados efeitos do hipotireoidismo no desenvolvimento do sistema nervoso central (SNC) e em diversos outros órgãos e sistemas (10-11). Estudos experimentais têm avaliado a nocicepção de estímulos térmicos, químicos e mecânicos em ratos filhos de mães hipotireóideas (12). Porém, até o presente momento, o efeito do hipotireoidismo gestacional experimental em áreas encefálicas importantes na regulação da dor, ainda não foi investigado. Alguns estudos já relataram influência da carência de HT no período perinatal no desenvolvimento do sistema nervoso central (10-11) e de outros sistemas orgânicos como o cardiovascular (13). Também foi mostrado que HGE provoca alterações na nocicepção térmica espinhal da prole de ratos (12). No entanto, ainda não se tem relatos de estudos de hipotireoidismo exclusivamente no período pré-natal que façam análise da nocicepção supraespinal da prole de ratas hipotireóideas.

Estudos experimentais com animais evidenciam que o desenvolvimento da circuitaria neuronal somatossensorial do feto seja dependente de HTs fornecidos pela mãe durante a gestação (14). Desta forma, o HGE pode estar relacionado com o desenvolvimento de doenças hiper ou hipoalgésicas sem etiologia definidas. Nesse sentido, este estudo visa a compreender os efeitos dos HTs de origem

materna no desenvolvimento da circuitaria neuronal somatossensorial durante o desenvolvimento fetal. Assim, este estudo objetiva investigar as repercussões do hipotireoidismo gestacional experimental (HGE) na resposta nociceptiva basal e após a aplicação de morfina e no desenvolvimento corporal na prole de ratas.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os procedimentos aos quais os animais utilizados neste estudo foram submetidos estão de acordo com as normas e princípios éticos preconizados pela Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização De Animais Para Fins Científicos e Didáticos (DBCA), bem como pelas Diretrizes da Prática de Eutanásia, ambas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). Toda a equipe executora deste projeto estava ciente do conteúdo da lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008 (Lei Arouca). Além disso, a presente proposta de estudo foi apreciada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais (CEPA) da Universidade Federal de Sergipe, aprovado conforme protocolo nº 29/12. Todos os esforços foram feitos para minimizar o número de animais utilizados bem como a geração de desconforto e sofrimento.

### *Animais utilizados*

Foram utilizadas três categorias de ratos Wistar obtidos do Biotério Setorial do Departamento de Fisiologia da Universidade Federal de Sergipe. São elas: Categoria I. 11 Fêmeas adultas (150 a 200 g) que foram acompanhadas para acasalamento programado. Destas, sete emprenharam e tiveram suas gestações concluídas para a produção do número necessário de filhotes (n=14). Confirmada as sete gestações, quatro ratas foram submetidas ao protocolo de indução de hipotireoidismo durante a gestação (grupo MTZ) e 3 receberam veículo (grupo Controle); Categoria II. 6 machos adultos (250 a 300 g) para acasalamento com as fêmeas adultas da categoria I; Categoria III. 28 ratos adultos, sendo 14 filhos de mães eutireóideas e 14 filhos de mães com HGE.

Enquanto não estavam gestantes, as fêmeas da categoria I foram mantidas em caixas de policarbonato coletivas com 2 animais por caixa. Diariamente tiveram seu ciclo estral acompanhado por análise colpocitológica para que na fase do proestro fossem expostas a rato Wistar adulto para

acasalamento. A confirmação do coito foi feita pela detecção microscópica de espermatozoide no lavado vaginal. Confirmado o coito, cada fêmea foi acondicionada individualmente em caixa de polycarbonato, onde permaneceram por toda a gestação, parto e lactação. No dia 3 após o nascimento, os filhotes foram sexados e mantidos em amamentação em ninhadas com oito animais. No dia 21 após o nascimento, a ninhada foi desmamada e os filhotes transferidos para caixas coletivas, com até 5 animais do mesmo sexo por caixa. Durante todo o período, os animais tiveram livre acesso à água e ração específica para roedores. As salas de manutenção dos animais e experimentação, localizadas no Laboratório de Pesquisa em Neurociências (LANBAC, HU), tinham luminosidade controlada com ciclo claro-escuro de 12/12h (luz das 6 às 18 horas), e temperatura de  $23 \pm 2^\circ\text{C}$ .

#### *Protocolo de indução do hipotireoidismo gestacional experimental*

Para a indução de HGE foi utilizado o inibidor da iodoperoxidase, Metimazol (MTZ), administrado *ad libitum* na concentração de 0,02% na água de beber (água de torneira) a partir do nono dia de gestação (DG) até o dia do parto. Esta solução foi protegida da luminosidade e trocada a cada três dias. As fêmeas controle (eutireóideas) receberam água de torneira *ad libitum*.

#### *Acompanhamento da prole*

O peso corporal da prole de machos das mães hipotireoideanas e eutireoideanas foi acompanhada semanalmente do nascimento até o dia 60 pós-natal para determinação do desenvolvimento corporal.

#### *Mensuração da nocicepção térmica*

Aos 60 dias pós-natal (DPN) os machos filhos de mães eutireoideas e de mães com hipotireoidismo gestacional foram submetidos à avaliação da nocicepção supraespinhal por meio do aparato da Placa quente (aquecida a  $52 \pm 0,2^\circ\text{C}$ ). A avaliação da resposta nociceptiva foi realizada por meio da medida do lapso de tempo entre a aplicação do estímulo térmico e o momento da lambida vigorosa da pata traseira. Esse modelo permite obter informações sobre o mecanismo de regulação da nocicepção térmica, uma vez que o parâmetro avaliado (*i.e.*: reflexo de retirada e lambedura vigorosa

da pata traseira) é de integração medular e supra-medular. Após isto, estes mesmos animais receberam injeção subcutânea de 3 mg/kg de morfina (10 mg/ml) e foram novamente alocados na placa quente 30, 60, 90 e 120 mim após a injeção da morfina para avaliação do limiar térmico nociceptivo.

#### *Análise estatística*

O modelo incluiu os efeitos fixos HGE (mães eutireóideas ou com hipotireoidismo) e tempo de alocação a placa quente após injeção de morfina (30, 60, 90 e 120 mim) e da interação HGE x tempo. Os dados foram analisados por ANOVA two-way, seguida do pós-teste de Bonferroni para avaliação do efeito do tempo e interação HGE x tempo e o teste *t de Student* para efeito do HGE. Para análise do desenvolvimento corporal foram comparados os dados obtidos no mesmo animal em diferentes faixas etárias.

Os resultados obtidos foram expressos em valores de média e erro padrão da média. O nível crítico fixado foi de 5% ( $p < 0,05$ ) para se admitir uma diferença de médias como estatisticamente significativa.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo, não foram identificadas diferenças no peso corporal da prole com 7, 11 e 15 dias após o nascimento. No entanto, foi observado que machos da prole de mães com hipotireoidismo gestacional (PMH) possuía peso corporal significativamente inferior quando comparada com os machos da prole de mães eutireóideas (PME) aos 21 dias pós-natal (fator interação:  $F(3,132)=6.65$ ,  $p < 0.0001$ ) (Figura 1). O mesmo pode ser observado aos 60 dias pós-natal. Nesta idade os machos da prole de mães com hipotireoidismo, também apresentaram massa corporal inferior quando comparada ao grupo controle ( $U=179.0$ ,  $p < 0.01$ ) (Figura 2).

Neste contexto, Lasley et al. (2011) (15) evidenciaram que prole de ratas hipotireóideas apresentavam redução do peso corporal apenas nas fases iniciais da vida (15 e 35 DPN). Estes dados diferem parcialmente do presente estudo, no qual a prole apresentou redução do peso entre 21 e 60 DPN. Em contrapartida, os nossos achados corroboram os de Rohani et al. (2009) (16), que demonstraram que a indução do hipotireoidismo materno impede o adequado desenvolvimento

corporal da prole, o qual pode ser traduzido pelo baixo peso corporal dos filhos de mães hipotireoideanas já a partir da segunda semana de vida. Dessa forma, tais achados se somam ao presente estudo no intuito de evidenciar que o hipotireoidismo materno afeta sobremaneira o desenvolvimento corporal da prole, interferindo no mesmo até a vida adulta da prole.

Ademais, no presente estudo, foi possível observar que a prole proveniente de mães com hipotireoidismo gestacional não apresenta diferença significativa no limiar nociceptivo a placa quente no basal. Neste contexto, Bruno et al. (2005) (11) desenvolveram estudo a fim de avaliar a nocicepção de filhotes neonatos de mães hipotireoideas e observaram que os filhotes com 24 e 420 DPN apresentaram aumento na latência ao estímulo térmico avaliado pelo *tail-flick* (hipoalgesia), quando comparado ao grupo controle, enquanto que com 60 DPN os mesmos filhotes apresentaram redução da latência térmica (hiperalgesia). Dados do nosso grupo, utilizando protocolo de indução de hipotireoidismo exclusivamente no período gestacional, evidenciaram que os filhotes machos de mães hipotireoideas apresentaram hiperalgesia térmica avaliada pelo teste do *Tail flick* (12). (Figura 3).

Contrariamente, em nossos achados atuais, não detectamos diferença significativa na nocicepção térmica basal, utilizando a placa quente, na prole de mães hipotireoideas quando a mesma foi comparada a prole de mães eutireoideas, aos 60 DPN. A explicação para tais diferenças pode estar associada aos aparatos utilizados na mensuração desta variável. Enquanto os estudos anteriores utilizaram o teste do *tail flick* para análise da sensibilidade térmica, o presente estudo fez uso do teste da Placa quente. É importante ressaltar, que o primeiro teste avalia uma resposta álgica predominantemente de arco reflexo (nocicepção espinhal), enquanto o segundo aparato avalia uma resposta nociceptiva que envolve integração central (nocicepção supraespinhal).

Apesar da ausência de diferenças na nocicepção basal no teste da placa quente entre as proles, após a administração intraperitoneal da morfina foi observado aumento significativo no limiar nociceptivo térmico na PMH quando comparada a PME nos tempos 30 e 60 min. Este achado evidencia que, nestes tempos, a PMH tem maior resposta analgésica a este fármaco quando comparada ao grupo controle (efeito principal para interação;  $F(4,100)=2.49$ ;  $p<0.05$ ). Dessa forma, é possível hipotetizar um mecanismos compensatórios na modulação central da dor que neutralize a hiperalgesia térmica espinhal (*Tail flick*) demonstrada no estudo anterior do nosso grupo (12). Tal mecanismo pode

186 estar associado a maior expressão e/ou maior sensibilidade de receptores opioidérgicos, de forma  
187 compensatória, provavelmente no bulbo ventromedial rostral (RVM) e/ou na medula espinhal. Os  
188 resultados encontrados em nosso estudo corroboram com tal hipótese, visto que os filhos de mães com  
189 hipotireoidismo gestacional apresentaram maior sensibilidade a morfina demonstrada pela maior  
190 latência da resposta ao estímulo termonociceptivo nos tempos de 30 e 60 minutos após a aplicação de  
191 morfina, que coincidem com já bem estabelecidos períodos de pico de ação deste fármaco (17).

192 Assim, concluímos que o HGE afeta o desenvolvimento corporal da prole de ratos na vida  
193 adulta, visto que os filhos de mãe hipotireoideas apresentaram menor peso corporal. Além disso, o  
194 HGE não altera a nocicepção térmica supraespinhal basal da prole, porém eleva a sensibilidade à  
195 morfina. Este resultado poderia indicar um possível aumento compensatório da expressão e/ou da  
196 sensibilidade de receptores opioidérgicos presentes no circuito modulatório da nocicepção. Para atestar  
197 tal suposição, estudo deveria ser desenvolvido com a finalidade de mensurar densidade de receptores  
198 opioides em encéfalos de ratos filhos de mães eu e hipotireoideas. É importante ressaltar aqui que, até  
199 o presente momento, não existem dados na literatura avaliando o efeito do HGE na resposta  
200 nociceptiva supraespinhal da prole de ratas em condições basais e após aplicação da morfina. Mais  
201 estudos são necessários para explicar a influência do HGE na resposta a dor durante a vida adulta.

202

## GRÁFICOS E FIGURAS

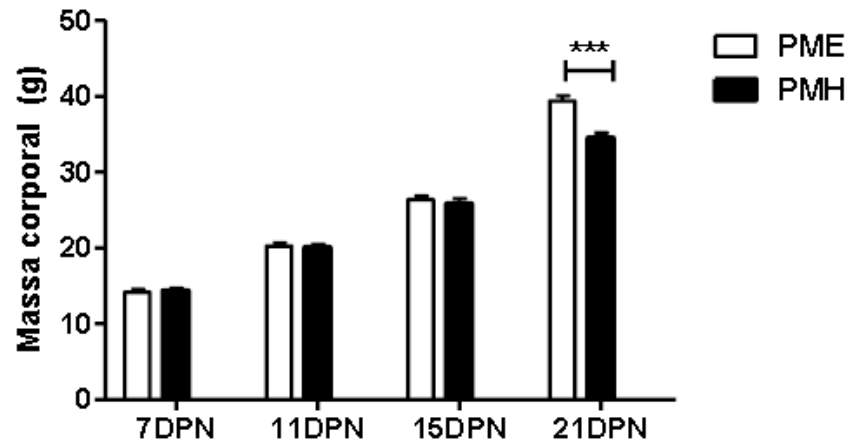


Figura 1. Efeito do HGE no peso corporal da prole de ratas com 7, 11, 15 e 21 dias após o nascimento.

HGE: hipotireoidismo gestacional experimental; PME: prole de mães eutireoideas; PMH: prole de mães hipotireoideas; DPN: Dia pós-natal. Análise estatística: ANOVA de duas vias seguida do pós-teste de Bonferroni. (\*\*\*)  $p < 0.0001$ .

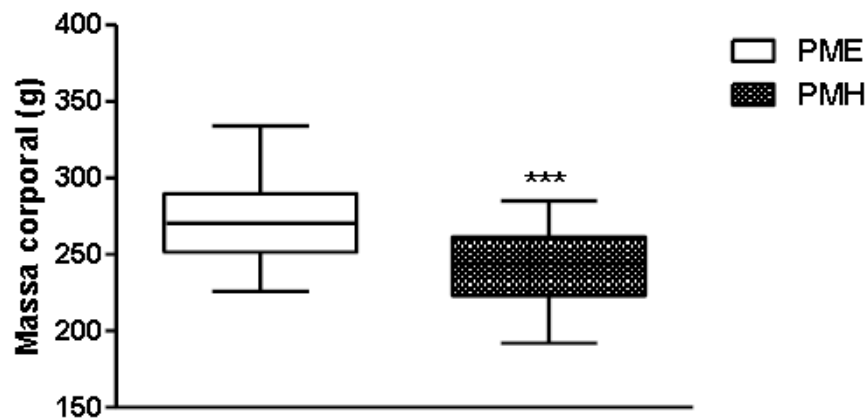


Figura 2. Efeito do HGE no peso da prole com 60 dias após o nascimento.

HGE: hipotireoidismo gestacional experimental; PME: prole de mães eutireoideas; PMH: prole de mães hipotireoideas. Análise estatística: Mann Whitney test. (\*\*\*)  $p < 0.01$ .

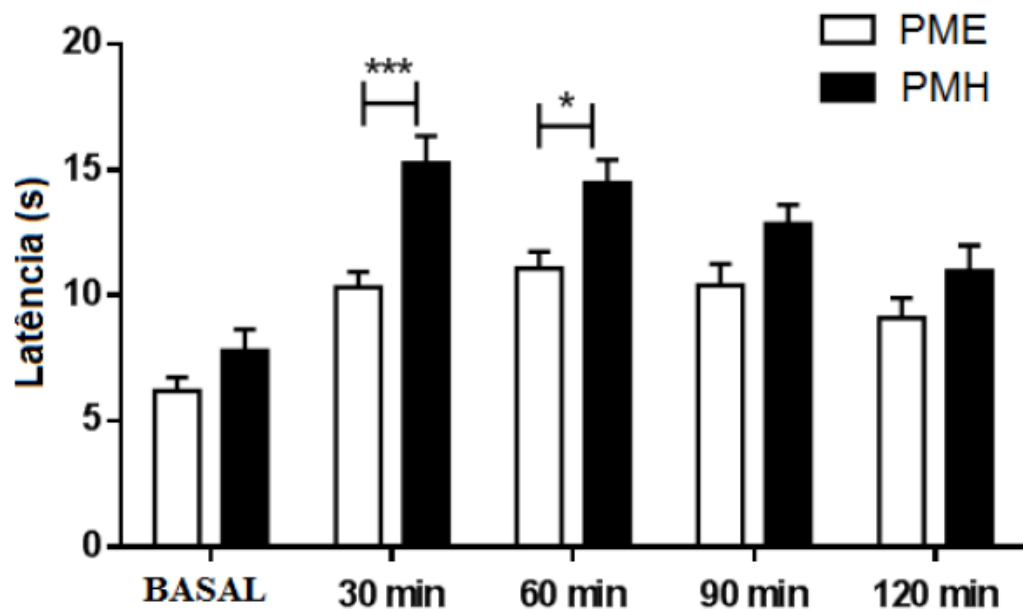


Figura 3. Efeito do HGE no limiar nociceptivo supraespinal da prole macho de ratas.

HGE: hipotireoidismo gestacional experimental; PME: prole de mães eutireoideas; PMH: prole de mães hipotireoideas. Análise estatística: ANOVA de duas vias seguida do pós-teste de Bonferroni. (\*)  $p < 0,05$  (\*\*\*)  $p < 0,001$ .

#### FONTE DE FINANCIAMENTO

PJT-IC, CAPES, FAPITEC/SE e CNPq

#### CONFLITO DE INTERESSES

Os autores deste trabalho declaram não haver conflito de interesses.

#### AGRADECIMENTOS

Ao laboratório de Neuroendocrinologia Básica e Comportamental (LANBAC) da UFS.

230

## 231 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 232 1. Barker, DJ, Osmond, C, Law, CM. The intrauterine and early postnatal origins of cardiovascular  
233 disease and chronic bronchitis. *J. Epidemiol. Community Health.* 1989; 43: 237–240.
- 234 2. Chan, S, Rovet, J. Thyroid hormones in fetal central nervous system development. *Fetal Matern.*  
235 *Med. Rev.* 2003; 14: 177–208.
- 236 3. Ong GSY, Hadlow NC, Brown SJ. *et al.* Does TSH measured concurrently with first trimester  
237 biochemical screening tests predict adverse pregnancy outcomes occurring after 20  
238 weeks gestation?. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014; 99 (12): E2668-72.
- 239 4. Blatt AJ, Nakamoto JM, Kaufman HW. National Status of Testing for Hypothyroidism during  
240 Pregnancy and Postpartum. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012; 97(3): 777-84.
- 241 5. Chan, S.Y., Vasilopoulou, E., Kilby, M.D., 2009. The role of the placenta in thyroid hormone  
242 delivery to the fetus. *Nat. Clin. Pract. Endocrinol. Metab.* 5, 45–54.
- 243 6. Turunen S, Väärasmäki M, Männistö T, Hartikainen AL, Lahesmaa-Korpinen, AM, Gissler M, *et*  
244 *al.* Pregnancy and Perinatal Outcome Among Hypothyroid Mothers: A Population-Based Cohort  
245 Study. *Thyroid.* 2018;
- 246 7. Markhus M, Dahl L, Moe V, Abel M, Brantsæter A, Øyen J, *et al.* Maternal iodine status is  
247 associated with offspring language skills in infancy and toddlerhood. *Nutrients.* 2018; 10(9): 1270.
- 248 8. Millan MJ. Descending control of pain. *Prog. Neurobiol.* 2002; 66(6): 355-474.
- 249 9. Melzack R, Wall PD. Pain mechanisms: a new theory. *Science.* 1965; 150(3699): 971-979.
- 250 10. (10)Teng CJ, Abbott FV. The formalin test: a dose-response analysis at three developmental  
251 stages. *Pain.* 1998; 76(3): 337-347.
- 252 11. Bruno AN, Pochmann D, Ricachenevsky FK, *et al.* Nociceptive response and adenine nucleotide  
253 hydrolysis in synaptosomes isolated from spinal cord of hypothyroid rats. *Neurochem. Res.* 2005;  
254 30(9): 1155-1161. 1977;197(1127):169-194.
- 255 12. Alves, IGN. Experimental hypothyroidism during pregnancy affects nociception and locomotor  
256 performance of offspring in rats. *European Journal of Pain.* 2013; 17: 1291–1298.
- 257 13. Sluka, KA. Systemic morphine in combination with TENS produces an increased antihyperalgesia  
258 in rats with acute inflammation. *J. Pain Off. J. Am. Pain Soc.* 2000; 1: 204–211.
- 259 14. Besson JM. The neurobiology of pain. *Lancet.* 1999; 353(9164): 1610-1615.

- 260 15. Lasley SM, Gilbert ME. Developmental thyroid hormone insufficiency reduces expression of  
261 brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in adults but not in neonates. *Neurotoxicology and*  
262 *Teratology*. 2011; 33(4): 464-472.
- 263 16. Rohani MH, Akbari Z, Behzadi G. Congenital hypothyroidism alters formalin-induced pain  
264 response in neonatal rats. *International Journal of Developmental Neuroscience: The Official*  
265 *Journal of the International Society for Developmental Neuroscience*. 2009; 27(1): 53-57.
- 266 17. Santos SO, Loureiro SMA, Alves IGN, Jesus CS Santos PR, Santos MR, et al. Experimental  
267 gestational hypothyroidism evokes hypertension in adult offspring rats. *Auton. Neurosci. Basic*  
268 *Clin*. 2012; 170: 36–41.