



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

DEMETRIUS SILVA DE SANTANA

**INFLUÊNCIA DE HIPOTIREOIDISMO GESTACIONAL NA NOCICEPÇÃO E
DESEMPENHO LOCOMOTOR DE PROLE DE RATAS**

Aracaju

NOVEMBRO DE 2013

DEMETRIUS SILVA DE SANTANA

**INFLUÊNCIA DE HIPOTIREOIDISMO GESTACIONAL NA NOCICEPÇÃO E
DESEMPENHO LOCOMOTOR DE PROLE DE RATAS**

Monografia apresentada ao
Colegiado de Medicina da
Universidade Federal de Sergipe
como exigência para a graduação
no curso de Medicina.

Orientador: Prof. Dr. Daniel Badaué Passos Jr.

Co-orientadora: Msc. Iura Gonzalez Nogueira Alves

Aracaju

NOVEMBRO DE 2013

DEMETRIUS SILVA DE SANTANA

**INFLUÊNCIA DE HIPOTIREOIDISMO GESTACIONAL NA NOCICEPÇÃO E
DESEMPENHO LOCOMOTOR DE PROLE DE RATAS**

Monografia apresentada ao
Colegiado de Medicina da
Universidade Federal de Sergipe
como exigência para a graduação
no curso de Medicina.

Demetrius Silva de Santana

Prof. Dr. Daniel Badauê Passos Jr.

Aprovada em: ____/____/____

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a todos aqueles envolvidos na elaboração deste trabalho.

Ao meu orientador Prof. Daniel Badauê, por me proporcionar a oportunidade de trabalhar com Ciência Experimental durante três anos de minha graduação, num ambiente em que as perguntas são tão preciosas quanto as respostas. A todos os meus colegas do LANBAC; dentre eles, agradeço em especial a Iura e a Danilo, que estiveram mais envolvidos com a execução do presente trabalho.

Ao Prof. Valter e à Prof. Josimari, pela colaboração teórica e material. Aos alunos do LAPENE, em especial a Kamilla e a Clarissa, muito empenhadas no trabalho de coleta dos dados obtidos.

Às instituições CNPq, CAPES e FAPITEC/SE, pelo apoio financeiro e viabilização dos trabalhos de pesquisa realizados por nosso grupo. À Universidade Federal de Sergipe, pela base e formação em Medicina, etapa de minha formação acadêmica que agora estou prestes a concluir. E, por fim, registro ainda a importância e a necessidade do uso de animais de pesquisa, que permitem o progresso das Ciências Biológicas e da Saúde.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Primeira página do artigo publicado na revista <i>European Journal of Pain</i> , possibilitando visualização da lista de autores, <i>Abstract</i> e parte da Introdução.....	31
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS

AchE – acetilcolinesterase

AMPC – monofosfato cíclico de adenosina

BDNF – fator neurotrófico derivado do cérebro

CpG – citosina-fosfato-guanina

DAG – diacilglicerol

DIT – diiodotirosina

DNA – ácido desoxirribonucleico

HT – hormônio tireoidiano

IP3 – trifosfato de inositol

MIT – moniodotirosina

MTZ – metimazol

NDN – necdina

SNC – sistema nervoso central

SNRPN – proteína N nuclear pequena associada a ribonucleoproteína

T3 – triiodotironina

T4 – tiroxina

TG – tireoglobulina

TPO - tireoperoxidase

TRE – elemento responsivo a HT

TR – receptor de HT

TRH – hormônio liberador de TSH

TSH – hormônio estimulador de tireoide

TSHR – receptor de TSH

UBE3A – ligase E3A de proteína ubiquitina

SUMÁRIO

Agradecimentos	iii
Lista de figuras	iv
Lista de abreviaturas	v
Sumário	vi
1. Introdução	7
2. Revisão de Literatura	8
2.1. A vida intrauterina influencia na saúde e na doença.....	8
2.1.1. Alterações epigenéticas e celulares	8
2.1.2. Alterações histológicas e anatômicas	10
2.2. Hormônios Tireoideanos	10
2.2.1. O desenvolvimento embriológico depende de hormônios tireoidianos	10
2.2.2. A fisiologia dos hormônios tireoidianos.....	11
2.2.3. Desenvolvimento da glândula tireoide em humanos.....	12
2.2.4. Desenvolvimento da glândula tireoide em ratos.....	13
2.2.5. Hipotireoidismo e gestação.....	13
2.3. Nocicepção e controle motor	14
2.3.1. Hipotireoidismo materno e nocicepção da prole	14
2.3.2. Hipotireoidismo e controle motor	15
2.4. Referências Bibliográficas.....	17
3. Normas para publicação	21
4. Artigo	30
4.1. Abstract.....	30

1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento intrauterino tem influência marcante no restante da vida de um organismo. O desenvolvimento fetal adequado depende de condições ideais que garantam suprimento de nutrientes, oxigênio e hormônios durante a gestação. Muitas patologias desenvolvidas na vida adulta têm seu surgimento atribuído a processos que ocorreram ainda na vida fetal (FOWDEN, GIUSSANI & FORHEAD, 2006; MCMILLEN & ROBINSON, 2005).

A disfunção tireoidiana é um problema de saúde comum, com prevalência variável a depender de alguns fatores, tais como localidade, sexo e faixa etária. Na população em geral, essa prevalência gira em torno de 4 a 10%, sendo a ocorrência maior no sexo feminino. Durante a gestação, de maneira geral, anormalidades na função tireoidiana podem acometer até 10% das gestantes (GHARIB *et al.*, 2005; LAZARUS & PREMAWARDHANA, 2005).

Durante a gestação, o feto apresenta forte dependência de hormônios tireoidianos (HTs) maternos para seu desenvolvimento adequado. Assim, episódios de hipotiroxinemia mesmo transitórios durante a gestação podem ter repercussões para o feto (HADDOW *et al.*, 1999).

Alguns relatos já demonstram o efeito do hipotireoidismo no desenvolvimento do sistema nervoso central (SNC) e em diversos órgãos e sistemas. Mais recentemente, alguns estudos experimentais têm sido desenvolvidos a fim de avaliar a resposta a estímulos nociceptivos térmicos, químicos e mecânicos em filhos de mães hipotireoideas (BRUNO, POCHMANN, *et al.*, 2005; TENG & ABBOTT, 1998). Porém, até o presente momento, a maioria dos estudos têm utilizado modelos de indução de hipotireoidismo nos períodos pré- e pós-natal, envolvendo gestação e lactação. Em nosso estudo, a indução do hipotireoidismo materno foi realizada exclusivamente durante o período gestacional.

Assim, este estudo se justifica pela prevalência considerável de hipotireoidismo gestacional, a carência de dados correlacionando hipotireoidismo gestacional, nocicepção e desempenho motor pós-natal e devido à reconhecida influência de HTs maternos sobre o desenvolvimento fetal, sobretudo do SNC.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A vida intrauterina influencia na saúde e na doença

Variações nas condições intrauterinas têm efeitos notáveis na vida adulta de um organismo. Essa influência é chamada de programação intrauterina. O peso ao nascer é um marcador clássico de exposição precoce a adversidades ambientais. Está relacionado ao surgimento de diversas doenças na vida adulta, como hipertensão arterial sistêmica, diabetes melitus tipo 2 e obesidade (CURHAN *et al.*, 1996). Entretanto, por si só, baixo peso ao nascer não é necessário para estabelecer se houve programação intrauterina (LAW, 2002). Os mecanismos pelos quais essa influência ocorre são diversos, e se dão em uma escala ampla, podendo envolver gene, célula, tecido e órgão, a depender do período, tipo e intensidade do agravo (FOWDEN, GIUSSANI & FORHEAD, 2006).

2.1.1. Alterações epigenéticas e celulares

Condições intrauterinas adversas são capazes de adicionar informação ao código genético através de mecanismos epigenéticos, informação essa que permanece guardada mesmo após sucessivas mitoses e até mesmo meioses. Essas alterações levam a expressão diferenciada de proteínas celulares, modificando a quantidade produzida de canais, receptores e enzimas celulares, dessa forma afetando a atividade celular (FOWDEN, GIUSSANI & FORHEAD, 2006).

2.1.1.1. Epigenética

A disciplina da epigenética estuda como a informação pode ser adicionada ao código genético sem que haja modificações diretas sobre a sequência de bases nitrogenadas. Suspeitou-se inicialmente que o padrão de metilação do DNA pudesse influenciar a expressão de genes, e que esse padrão fosse herdável. Mais tarde, uma grande quantidade de evidência surgiu corroborando essa hipótese. Hoje são conhecidos diversos mecanismos epigenéticos, como a metilação de bases de citosina, a presença de ilhas citosina-fosfato-guanina (CpG) em regiões promotoras de genes, e a acetilação e expressão diferencial de histonas, que influencia a compactação da cromatina. Essas alterações podem ser mantidas ao longo de mitoses sucessivas, bem como na linhagem germinativa, após meiose. Tais mecanismos influenciam a expressão proteica, por dificultar ou facilitar o acesso ao código genético e sua transcrição, e estão envolvidos em diversos fenômenos (HOLLIDAY, 2006).

Por exemplo, mutações em oncogenes ou genes supressores tumorais em células somáticas podem levar ao surgimento de câncer. Sabe-se agora também que metilação

excessiva de genes supressores tumorais ou hipometilação de oncogenes também são a causa de alguns cânceres, sendo encontrados em frequência igual ou superior ao mecanismo clássico (HERMAN & BAYLIN, 2003).

Imprinting genômico – também chamado de *imprinting* parental – é o fenômeno epigenético através do qual apenas um dos alelos de um gene, materno ou paterno, é expresso na célula. Genes que estão sujeitos a essa desativação seletiva são chamados de monoalélicos e fazem contraste com genes bialélicos. Uma das regiões que sofre *imprinting* genômico é a banda 11 do braço longo do cromossomo 15 (15q11-13). Essa região contém genes com expressão paterna (SNRPN e NDN) e expressão materna (UBE3A). Comumente, um dos cromossomos 15 sofrerá *imprinting* paterno e o outro, materno, fazendo com que os genes monoalélicos sejam suficientemente expressos. A consequência de uma deleção desta região vai depender da origem, paterna ou materna. Se a deleção ocorre no cromossomo paterno, ocorre a síndrome de Prader-Willi, caracterizada por obesidade, hipogonadismo e hipotonia. Se a deleção ocorre no cromossomo materno, ocorre a síndrome de Angelman, caracterizada por epilepsia, tremores e uma face continuamente sorridente (LALANDE, 1996).

Algumas linhagens fenotípicas celulares são estabelecidas durante a ontogenia e se seguem ao longo de sucessivas mitoses. Por exemplo, fibroblastos sofrem mitose e originam novos fibroblastos, linfócitos originam novos linfócitos. A determinação destas linhagens também se deve a mecanismos epigenéticos, com ativação de certos genes e inativação de outros, que se perpetuam na linhagem celular, através de mecanismos ainda não bem esclarecidos (LI, 2002).

Dessa forma, a informação carregada no núcleo não pode ser descrita apenas pelas sequências de bases nitrogenadas que formam as moléculas de DNA, mas também pelo padrão de metilação de citosinas, acetilação de histonas e compactação de cromatina.

2.1.1.2. A parcela intrauterina do epigenoma

A princípio, poderia haver uma causa genética comum que resultasse em baixo peso ao nascer e risco futuro de doença degenerativa, desde a concepção. Uma mutação no gene da glicoquinase pancreática leva a redução na secreção fetal de insulina, baixo peso ao nascer e intolerância à glicose no adulto. Entretanto, tais desordens monogênicas são raras e não explicam a variação de risco que ocorre na faixa normal de peso ao nascer. Estudos com genes monozigóticos mostram que pesos discordantes ao nascimento levam a riscos diferenciados na vida adulta, demonstrando que genótipos idênticos levam a fenótipos

diferenciados quando as condições intrauterinas são comprometidas (FOWDEN, GIUSSANI & FORHEAD, 2006).

Os principais fatores capazes de induzir alterações epigenéticas no ambiente intrauterino são nutrientes e hormônios. A administração de glicocorticóide é capaz de causar demetilação de DNA associada com expressão aumentada de genes para aminotransferases hepáticas durante o período perinatal (THOMASSIN *et al.*, 2001). Uma dieta com restrição de folato, vitamina B12 e metionina, participantes do metabolismo de grupos metil-, em ovelhas no período periconcepcional foi capaz de alterar o padrão de metilação do DNA dos filhotes com modificações do peso corporal, resistência à insulina e pressão arterial sistêmica na fase adulta (SINCLAIR *et al.*, 2007).

2.1.2. Alterações histológicas e anatômicas

Alterações diretas na plasia e trofia teciduais explicam parte da influência das condições intrauterinas. Por exemplo, existe correlação entre o peso ao nascer e o número de glomérulos renais de um indivíduo. Examinando secções coronais de rins de uma coorte de neonatos com óbito antes de duas semanas de vida, Mañalich e colaboradores (2000) encontraram forte correlação direta entre o peso ao nascer e o número de glomérulos renais, que por sua vez apresentou forte correlação inversa com o volume glomerular. Outro estudo com autópsias de adultos estimou um ganho médio de cerca de 25 mil glomérulos para cada cem gramas a mais de peso ao nascer (HUGHSON *et al.*, 2003). Reduções do número de unidades funcionais renais são compensadas, dentro de certo limite, com aumento do tamanho glomerular, mantendo assim a área total filtrante (BHATHENA *et al.*, 1985; LUYCKX & BRENNER, 2005). Apesar dessa compensação, demonstrou-se correlação entre hipertensão arterial sistêmica (HAS) na vida adulta e uma quantidade reduzida de glomérulos (KELLER *et al.*, 2003). Por fim, também foi notada maior incidência de HAS em indivíduos com baixo peso ao nascer (CURHAN *et al.*, 1996).

2.2. Hormônios Tireoideanos

2.2.1. O desenvolvimento embriológico depende de hormônios tireoidianos

É fato bem estabelecido que os HTs são essenciais ao desenvolvimento embriológico humano, em especial na embriologia do SNC. Neonatos expostos a níveis consideravelmente reduzidos de HTs durante a vida uterina apresentam posteriormente retardo no crescimento, defeitos neurológicos e desempenho reduzido em diversas habilidades cognitivas (RIVAS & NARANJO, 2007). As consequências específicas à deficiência

dependem do período e severidade da exposição. Ainda assim, mesmo níveis subclínicos de hipotireoidismo têm se mostrado capazes de afetar o desenvolvimento neurológico fetal (GOODMAN & GILBERT, 2007), afetando adversamente a função cognitiva de filhos nascidos de mães com distúrbios leves na função tireoidiana durante a gestação (HADDOW *et al.*, 1999).

Essa sensibilidade a déficits sutis de HTs é relevante, pois níveis leves ou subclínicos de hipotireoidismo são comuns em mulheres e se agravam com idades mais avançadas (WOEBER, 1997); há também tendência recente de a maternidade ser adiada até mais tarde devido a exigências da carreira profissional. Além do mais, um uso desajustado de tioamidas, inibidoras da tireoperoxidase, para o tratamento de tireotoxicose gestacional, pode levar a hipotireoidismo não detectado (DIAV-CITRIN & ORNOY, 2002). Soma-se a esses dois fatores um terceiro: alguns poluentes ambientais são conhecidos por sua capacidade de induzirem hipotireoidismo (SHIMIZU *et al.*, 2013). Estes fazem parte do grupo de compostos conhecidos como poluentes orgânicos persistentes, a exemplo de pesticidas e bifenis clorados, que permanecem por longo tempo no meio ambiente devido a sua grande estabilidade química e lipossolubilidade (ASPLUND *et al.*, 1994).

2.2.2. A fisiologia dos hormônios tireoidianos

Os HTs são reconhecidos por influenciar o crescimento e metabolismo celulares em todo o organismo. Estão presentes em duas formas: tiroxina (T4) e triiodotironina (T3). Ambos são secretados pela glândula tireoide por estímulo do hormônio hipofisário tireotropina (TSH). Este último é secretado em quantias que representam a estimativa central da demanda do organismo por atividade tireoidiana. A secreção do TSH segue as seguintes etapas. O hipotálamo, recebendo aferências de diversas regiões do sistema nervoso central (SNC), produz hormônio liberador de tireotropina (TRH). O TRH é lançado na primeira capilarização do sistema porta hipotálamo-hipofisário. Por esses vasos, o TRH chega à adeno-hipófise, onde residem células denominadas tireotropos. Quando em contato com TRH, os tireotropos são estimulados a secretar TSH, que é então lançado na corrente sanguínea. O TRH, e consequentemente o TSH, como já dito, representa a estimativa do SNC sobre o quanto o organismo necessita dos HTs. Para fazer este balanço, o hipotálamo leva em conta, por exemplo, a exposição do organismo ao frio e ao *stress* de forma geral e os níveis de HTs circulantes (COSTA-E-SOUSA & HOLLENBERG, 2012).

O TSH, pela corrente sanguínea, entra em contato com os tireócitos dos folículos tireoidiano. Na superfície dos tireócitos está exposto o receptor para TSH (TSHR), que,

quando ativado por ligante, desencadeia cascata intracelular de segundos mensageiros. As vias de monofosfato cíclico de adenosina (AMPC) e, em doses maiores de TSH, diacilglicerol (DAG) e trifosfato de inositol (IP3) estão envolvidos. O resultado é um estímulo tanto para o trofismo celular quanto para atividade de vias enzimáticas envolvidas na produção e liberação dos HTs (VAN SANDE *et al.*, 2006).

Os HTs são produzidos no colóide dos folículos tireoidiano. Os tireócitos sintetizam e exocitam, pela sua membrana apical, para esse colóide, tanto tireoglobulina (TG) quanto tireoperoxidase (TPO). Ao mesmo tempo, pela sua membrana basolateral, tireócitos capturam ativamente iodeto da corrente sanguínea por um simportador Na^+/I^- (NIS) num processo dependente de potássio intracelular. A TPO oxida o iodeto e esse é dessa forma ligado a alguns dos resíduos de tirosina da TG, sendo necessário H_2O_2 para que isto ocorra (YOSHIHARA *et al.*, 2012). Essa organificação do iodeto produz resíduos de moniodotirosina (MIT) e diiodotirosina (DIT). MIT e DIT se combinam no colóide tireoidiano, também através da TPO, para formar resíduos de T3 e T4 na TG. Sob influência de TSH, porções de colóide são endocitadas pelos tireócitos e fundidas a lisossomos, que digerem a TG e liberam, dentre outros fragmentos, T3 e T4 livres. A forma secretada pela tireoide é predominantemente o T4, apesar de o T3 ter uma afinidade maior pelos receptores de HT (TRs) (SANDLER *et al.*, 2004).

T4 e T3 são pequenas moléculas e atravessam a membrana celular livremente, podendo assim alcançar e ligar-se aos TRs nucleares. Elementos responsivos a HTs (TREs) estão presentes nos promotores de alguns genes e são ativados pelo complexo HT-TR; o complexo pode estar na forma monomerizada, homodimerizada ou, até mesmo, heterodimerizada com outros tipos de receptores nucleares. Uma das proteínas cuja produção é estimulada é a ubíqua Na^+/K^+ ATPase. Quando ligado a HTs, o TR também se junta a co-ativadores. Quando não ligado, ainda assim possui papel ativo, pois está ligado a co-repressores impedindo transcrição genética. Também há relatos de atividade não-genômica dos HTs independentemente de TR (BERNAL & MORTE, 2013).

2.2.3. Desenvolvimento da glândula tireoide em humanos

A glândula tireoide se desenvolve a partir da terceira semana em humanos. Para isso, forma-se uma evaginação na linha média do assoalho anterior da faringe por volta do décimo sexto dia de gestação. Haverá então migração em sentido caudal, mantendo sua ligação com o assoalho da faringe pelo ducto tireoglosso. Por volta da sétima semana de gestação, a glândula atingirá sua posição e definição finais. Os folículos tireoidianos passam

por três estágios: o estágio pré-coloidal, entre a sétima e décima terceira semanas; o estágio de início de coloide, entre a décima terceira e décima quarta semanas; e a fase folicular, a partir da décima quarta semana. A tireoglobulina, que serve de matriz na síntese HTs, é detectada na quinta semana de gestação (FISHER & KLEIN, 1981).

No estágio pré-coloidal, por volta da décima segunda semana gestacional, a captura de iodo pela tireoide é detectável. A produção de T4 é detectada duas semanas após, durante a fase final de formação da luz folicular. No hipotálamo, o TRH é detectado por volta da oitava semana de gestação e o TSH, na hipófise, por volta da décima primeira semana. As concentrações de TSH permanecem em nível baixo até a metade da gestação. Por volta da vigésima semana de gestação, tanto a captação pela tireoide fetal quanto as concentrações séricas de T4 começam a aumentar (FISHER *et al.*, 2000).

2.2.4. Desenvolvimento da glândula tireoide em ratos

Em ratos, a glândula tireoide já se encontra formada no décimo sétimo dia embrionário. Nesse período ela já é capaz de formar tireoglobulina e iodeto, apesar de em pequena quantidade. Demonstrou-se que a tireoide do rato encontra-se pronta para a produção hormonal por volta do vigésimo dia embrionário (FELDMAN, VAZQUEZ & KURTZ, 1961).

A fonte hormonal do embrião do rato é basicamente materna. Experimentos demonstraram que até mesmo pequenas deficiências de iodo maternas são capazes de reduzir as concentrações de tiroxina do feto, implicando que concentrações adequadas do hormônio no soro materno são fundamentais para que os níveis no embrião sejam mantidos. A detecção de hormônios tireoidiano no embrião do rato acontece já no nono dia embrionário, com concentrações de T3 mais elevadas que de T4 (WOODS, SINHA & EKINS, 1984).

As concentrações totais de T3 e T4 aumentam de forma significativa a partir do décimo oitavo dia embrionário até o nascimento, devido à maturação da glândula. Após o nascimento, os níveis plasmáticos de T4 continuam a subir, até atingir um pico no décimo sétimo dia pós-natal. Em paralelo, os níveis de T3 também aumentam, atingindo o pico no vigésimo oitavo dia pós-natal. Nessa espécie, os níveis adultos de HTs são alcançados no quadragésimo dia pós-natal (FISHER *et al.*, 1976).

2.2.5. Hipotireoidismo e gestação

Durante a gestação, cerca de 10% das mulheres podem passar por anormalidades na função tireoidiana. A prevalência de hipotireoidismo durante a gestação é estimada em 0,3% a 2,5% em diferentes países. O hipotireoidismo congênito é uma causa tratável das mais

comuns de deficiência mental no recém-nascido (LAZARUS, 2005; SMALLRIDGE *et al.*, 2005).

No período gestacional, é fundamental o diagnóstico precoce do hipotireoidismo, já que este, mesmo transitório, pode trazer consequências em longo prazo para o feto. Neste período, as mudanças na função tireoidiana são sutis quando a glândula e a ingestão de iodo são normais. Entretanto, doenças autoimunes e/ou deficiência de iodo são suficientes para deflagrar hipotireoidismo gestacional em algumas mulheres (LAZARUS, 2005; SMYTH *et al.*, 1999).

2.3. Nociceção e controle motor

Um dos componentes dos sistemas sensoriais é a nociceção. Esta serve como alarme cuja função é proteger o organismo. Tanto causa reações imediatas quanto aquisição de comportamentos de evitação (em inglês: *avoidance behavior*). Existem ao menos três funções para a nociceção: alertar ao indivíduo quanto à existência de dano tecidual real; alertar quanto à probabilidade de que lesão tecidual está prestes a ocorrer; alertar grupos sociais de perigo logo que houver algum para qualquer um de seus membros. Em humanos, a importância desse sistema pode ser vista na rara condição de insensibilidade congênita à dor (BARS, GOZARIU & CADDEN, 2001).

2.3.1. Hipotireoidismo materno e nociceção da prole

Uma hipótese corrente é de que o hipotireoidismo congênito possa alterar a maturação de vias somatossensoriais, modificando o processamento da dor e as respostas nociceptivas induzidas. Alguns estudos em animais vêm tentando estabelecer o papel do hormônio tireoidiano na nociceção. Bruno e colaboradores relataram que hipotireoidismo induzido no período pré- e pós-natal reduziu o limiar nociceptivo térmico, avaliado pelo tail-flick, em ratos recém-nascidos e idosos, mas aumentou a resposta nociceptiva em ratos adultos jovens (BRUNO, FONTELLA, *et al.*, 2005). Nesse contexto, Edmondson e colaboradores (1990) também constataram que ratos hipertireoideos apresentam maior sensibilidade à estimulação térmica.

Animais filhos de mães com hipotireoidismo, 7 a 15 dias após o nascimento, foram submetidos ao teste de injeção de formalina na pata direita. Neste estudo foi possível observar que os filhotes de mães hipotireoideas demonstraram maior sensibilidade a doses menores de formalina, quando comparados com o controle (ROHANI, AKBARI & BEHZADI, 2009).

Esses achados sugerem que os HTs desempenham papel fundamental na resposta a dor aguda a estímulos breves de caráter tanto mecânico quanto térmico. Vale ressaltar que, em todos os estudos supracitados, os autores induziram o hipotireoidismo através de adição de propiltiouracil na água de beber de ratas gestantes e mantiveram este tratamento ainda durante os primeiros dias de lactação.

2.3.2. Hipotireoidismo e controle motor

A falta de HTs no início da vida tem um efeito marcante sobre o desenvolvimento do cerebelo de ratos. Hasebe e colaboradores (2008) verificaram que o desempenho motor de filhos de mães hipotireoideas foi significativamente pior quando comparado ao grupo controle e que estes animais apresentam alterações morfológicas no cerebelo. Corroborando com esses achados, El-Bakry e colegas (2010) avaliaram os efeitos de hipo- ou hipertireoidismo maternos experimentalmente, identificando degeneração e retardo de crescimento grave em neurônios do córtex cerebelar e cerebral.

Nesse contexto, estudos em humanos também identificaram casos de atrofia cerebelar associado ao hipotireoidismo congênito (TAJIMA *et al.*, 2007). Fuggle e colaboradores avaliaram 57 crianças com hipotireoidismo congênito e identificaram déficit importante nas habilidades motoras destas crianças, particularmente em relação ao equilíbrio. Assim, os autores sugeriram que tal déficit foi encontrado em virtude de um comprometimento inicial do sistema vestibular, que pode ocorrer apesar do tratamento precoce com T4 (FUGGLE *et al.*, 1991).

Foi demonstrado que o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) promove a sobrevivência dos neurônios motores *in vitro* e resgata os neurônios motores da morte celular induzida por axotomia *in vivo* (IKEDA *et al.*, 1995). Neste estudo, objetivou-se examinar os efeitos da administração de BDNF exógeno sobre a progressão da doença de neurônio motor (DNM) em ratos. Identificou-se que tal tratamento foi capaz de aumentar a mielinização em neurônios motores na raiz cervical quando comparados ao grupo controle.

Tendo em vista a importância do BDNF para a sobrevivência e diferenciação de circuitos neuronais, bem como para a diferenciação neuronal, sinaptogênese e plasticidade neural, Sinha e colaboradores (2009) avaliaram o efeito do hipotireoidismo gestacional nos níveis de BDNF na prole. Dessa maneira, foi constatada redução dos níveis de BDNF no cerebelo da prole em diferentes fases do desenvolvimento pós-natal.

Além do BDNF, também tem sido sugerido que a acetilcolinesterase (AChE), independentemente de sua função catalítica, está envolvida na regulação da proliferação

celular e crescimento neurítico durante o desenvolvimento do sistema nervoso central de ratos e do embrião de galinhas (CARAGEORGIOU *et al.*, 2007; HABA *et al.*, 2011). Também foi relatado que em roedores, há uma relação entre HT e AchE e que ratos com hipotireoidismo apresentam um declínio da atividade da AchE no cerebelo (CARAGEORGIOU *et al.*, 2007) .

Estudo desenvolvido por Haba e colaboradores (2011) avaliou a consequência do hipotireoidismo durante a embriogênese do embrião da galinha, que é descrito como um modelo animal apropriado para investigar o efeito do hipotireoidismo na embriogênese. Após uso de metimazol (MTZ), identificou-se que a atividade da AchE cerebelar foi reduzida, tendo sido isso associado pelos autores ao déficit motor e cognitivo encontrado em indivíduos com hipotireoidismo congênito.

Diante do exposto, nota-se que aporte insuficiente de HTs é potencialmente capaz de induzir distúrbios motores durante o desenvolvimento do SNC. Sabendo dessa importância de HTs, justifica-se investigar os efeitos do hipotireoidismo materno sobre a atividade locomotora da prole.

2.4. Referências Bibliográficas

ASPLUND, L. *et al.* Polychlorinated biphenyls, 1,1,1-trichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethane (p,p'-DDT) and 1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)-ethylene (p,p'-DDE) in human plasma related to fish consumption. *Archives of environmental health*, PMID: 7818291, v. 49, n. 6, p. 477–486, dez. 1994.

BARS, D. L.; GOZARIU, M.; CADDEN, S. W. Animal Models of Nociception. *Pharmacological Reviews*, v. 53, n. 4, p. 597–652, 1 dez. 2001. Acesso em: 28 out. 2013.

BERNAL, J.; MORTE, B. Thyroid hormone receptor activity in the absence of ligand: physiological and developmental implications. *Biochimica et biophysica acta*, PMID: 22554916, v. 1830, n. 7, p. 3893–3899, jul. 2013.

BHATHENA, D. B. *et al.* Focal sclerosis of hypertrophied glomeruli in solitary functioning kidneys of humans. *American journal of kidney diseases: the official journal of the National Kidney Foundation*, PMID: 4003392, v. 5, n. 5, p. 226–232, maio 1985.

BRUNO, A. N.; FONTELLA, F. U.; *et al.* Hyperthyroidism changes nociceptive response and ecto-nucleotidase activities in synaptosomes from spinal cord of rats in different phases of development. *Comparative biochemistry and physiology. Part A, Molecular & integrative physiology*, PMID: 15664319, v. 140, n. 1, p. 111–116, jan. 2005.

BRUNO, A. N.; POCHMANN, D.; *et al.* Nociceptive response and adenine nucleotide hydrolysis in synaptosomes isolated from spinal cord of hypothyroid rats. *Neurochemical research*, PMID: 16292509, v. 30, n. 9, p. 1155–1161, set. 2005.

CARAGEORGIOU, H. *et al.* Effects of hyper- and hypothyroidism on acetylcholinesterase, (Na⁺), K⁺)- and Mg²⁺)-ATPase activities of adult rat hypothalamus and cerebellum. *Metabolic brain disease*, PMID: 17165152, v. 22, n. 1, p. 31–38, mar. 2007.

COSTA-E-SOUSA, R. H.; HOLLENBERG, A. N. Minireview: The neural regulation of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis. *Endocrinology*, PMID: 22759379, v. 153, n. 9, p. 4128–4135, set. 2012.

CURHAN, G. C. *et al.* Birth Weight and Adult Hypertension, Diabetes Mellitus, and Obesity in US Men. *Circulation*, PMID: 8989136, v. 94, n. 12, p. 3246–3250, 15 dez. 1996. Acesso em: 12 out. 2013.

DIAV-CITRIN, O.; ORNOY, A. Teratogen update: antithyroid drugs-methimazole, carbimazole, and propylthiouracil. *Teratology*, PMID: 11835230, v. 65, n. 1, p. 38–44, jan. 2002.

EDMONDSON, E. A.; BONNET, K. A.; FRIEDHOFF, A. J. The effect of hyperthyroidism on opiate receptor binding and pain sensitivity. *Life sciences*, PMID: 2176266, v. 47, n. 24, p. 2283–2289, 1990.

EL-BAKRY, A. M.; EL-GAREIB, A. W.; AHMED, R. G. Comparative study of the effects of experimentally induced hypothyroidism and hyperthyroidism in some brain regions in albino rats. *International journal of developmental neuroscience: the official journal of the International Society for Developmental Neuroscience*, PMID: 20412848, v. 28, n. 5, p. 371–389, ago. 2010.

FELDMAN, J. D.; VAZQUEZ, J. J.; KURTZ, S. M. Maturation of the rat fetal thyroid. *The Journal of biophysical and biochemical cytology*, PMID: 13892141, v. 11, p. 365–383, nov. 1961.

FISHER, D. A. *et al.* Maturation of human hypothalamic-pituitary-thyroid function and control. *Thyroid: official journal of the American Thyroid Association*, PMID: 10779137, v. 10, n. 3, p. 229–234, mar. 2000.

FISHER, D. A. *et al.* Ontogenesis of hypothalamic--pituitary--thyroid function and metabolism in man, sheep, and rat. *Recent progress in hormone research*, PMID: 829552, v. 33, p. 59–116, 1976.

FISHER, D. A.; KLEIN, A. H. Thyroid development and disorders of thyroid function in the newborn. *The New England journal of medicine*, PMID: 6258072, v. 304, n. 12, p. 702–712, 19 mar. 1981.

FOWDEN, A. L.; GIUSSANI, D. A.; FORHEAD, A. J. Intrauterine programming of physiological systems: causes and consequences. *Physiology (Bethesda, Md.)*, PMID: 16443820, v. 21, p. 29–37, fev. 2006.

FUGGLE, P. W. *et al.* Intelligence, motor skills and behaviour at 5 years in early-treated congenital hypothyroidism. *European journal of pediatrics*, PMID: 1954963, v. 150, n. 8, p. 570–574, jun. 1991.

GHARIB, H. *et al.* Consensus Statement #1: Subclinical thyroid dysfunction: a joint statement on management from the American Association of Clinical Endocrinologists, the American Thyroid Association, and The Endocrine Society. *Thyroid: official journal of the American Thyroid Association*, PMID: 15687817, v. 15, n. 1, p. 24–28; response 32–33, jan. 2005.

GOODMAN, J. H.; GILBERT, M. E. Modest thyroid hormone insufficiency during development induces a cellular malformation in the corpus callosum: a model of cortical dysplasia. *Endocrinology*, PMID: 17317780, v. 148, n. 6, p. 2593–2597, jun. 2007.

HABA, G. *et al.* Effect of antithyroid drug on chick embryos during the last week of development: delayed hatching and decreased cerebellar acetylcholinesterase activity. *The journal of obstetrics and gynaecology research*, PMID: 21676081, v. 37, n. 11, p. 1549–1556, nov. 2011.

HADDOW, J. E. *et al.* Maternal thyroid deficiency during pregnancy and subsequent neuropsychological development of the child. *The New England journal of medicine*, PMID: 10451459, v. 341, n. 8, p. 549–555, 19 ago. 1999.

HASEBE, M. *et al.* Effects of an anti-thyroid drug, methimazole, administration to rat dams on the cerebellar cortex development in their pups. *International journal of developmental neuroscience: the official journal of the International Society for Developmental Neuroscience*, PMID: 18456449, v. 26, n. 5, p. 409–414, ago. 2008.

HERMAN, J. G.; BAYLIN, S. B. Gene silencing in cancer in association with promoter hypermethylation. *The New England journal of medicine*, PMID: 14627790, v. 349, n. 21, p. 2042–2054, 20 nov. 2003.

HOLLIDAY, R. Epigenetics: a historical overview. *Epigenetics: official journal of the DNA Methylation Society*, PMID: 17998809, v. 1, n. 2, p. 76–80, jun. 2006.

HUGHSON, M. *et al.* Glomerular number and size in autopsy kidneys: the relationship to birth weight. *Kidney international*, PMID: 12753298, v. 63, n. 6, p. 2113–2122, jun. 2003.

IKEDA, K. *et al.* Effects of brain-derived neurotrophic factor on motor dysfunction in wobbler mouse motor neuron disease. *Annals of neurology*, PMID: 7717687, v. 37, n. 4, p. 505–511, abr. 1995.

KELLER, G. *et al.* Nephron number in patients with primary hypertension. *The New England journal of medicine*, PMID: 12519920, v. 348, n. 2, p. 101–108, 9 jan. 2003.

LALANDE, M. Parental imprinting and human disease. *Annual review of genetics*, PMID: 8982453, v. 30, p. 173–195, 1996.

LAW, C. M. Significance of birth weight for the future. *Archives of disease in childhood. Fetal and neonatal edition*, PMID: 11815540, v. 86, n. 1, p. F7–8, jan. 2002.

LAZARUS, J. H. Thyroid disease in pregnancy and childhood. *Minerva endocrinologica*, PMID: 15988403, v. 30, n. 2, p. 71–87, jun. 2005.

LAZARUS, J. H.; PREMAWARDHANA, L. D. K. E. Screening for thyroid disease in pregnancy. *Journal of clinical pathology*, PMID: 15858112, v. 58, n. 5, p. 449–452, maio 2005.

LI, E. Chromatin modification and epigenetic reprogramming in mammalian development. *Nature reviews. Genetics*, PMID: 12209141, v. 3, n. 9, p. 662–673, set. 2002.

LUYCKX, V. A.; BRENNER, B. M. Low birth weight, nephron number, and kidney disease. *Kidney international. Supplement*, PMID: 16014104, n. 97, p. S68–77, ago. 2005.

MAÑALICH, R. *et al.* Relationship between weight at birth and the number and size of renal glomeruli in humans: a histomorphometric study. *Kidney international*, PMID: 10916101, v. 58, n. 2, p. 770–773, ago. 2000.

MCMILLEN, I. C.; ROBINSON, J. S. Developmental origins of the metabolic syndrome: prediction, plasticity, and programming. *Physiological reviews*, PMID: 15788706, v. 85, n. 2, p. 571–633, abr. 2005.

RIVAS, M.; NARANJO, J. R. Thyroid hormones, learning and memory. *Genes, brain, and behavior*, PMID: 17543038, v. 6 Suppl 1, p. 40–44, jun. 2007.

ROHANI, M. H.; AKBARI, Z.; BEHZADI, G. Congenital hypothyroidism alters formalin-induced pain response in neonatal rats. *International journal of developmental neuroscience: the official journal of the International Society for Developmental Neuroscience*, PMID: 18992317, v. 27, n. 1, p. 53–57, fev. 2009.

SANDLER, B. *et al.* Thyroxine-thyroid hormone receptor interactions. *The Journal of biological chemistry*, PMID: 15466465, v. 279, n. 53, p. 55801–55808, 31 dez. 2004.

SHIMIZU, R. *et al.* Structure-activity relationships of 44 halogenated compounds for iodotyrosine deiodinase-inhibitory activity. *Toxicology*, PMID: 24012475, v. 314, n. 1, p. 22–29, 3 set. 2013.

SINCLAIR, K. D. *et al.* DNA methylation, insulin resistance, and blood pressure in offspring determined by maternal periconceptional B vitamin and methionine status. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, PMID: 18042717, v. 104, n. 49, p. 19351–19356, 4 dez. 2007.

SINHA, R. A. *et al.* Enhanced neuronal loss under perinatal hypothyroidism involves impaired neurotrophic signaling and increased proteolysis of p75(NTR). *Molecular and cellular neurosciences*, PMID: 19138744, v. 40, n. 3, p. 354–364, mar. 2009.

SMALLRIDGE, R. C. *et al.* Thyroid function inside and outside of pregnancy: what do we know and what don't we know? *Thyroid: official journal of the American Thyroid Association*, PMID: 15687824, v. 15, n. 1, p. 54–59, jan. 2005.

SMYTH, P. P. *et al.* Assessment of goiter in an area of endemic iodine deficiency. *Thyroid: official journal of the American Thyroid Association*, PMID: 10524568, v. 9, n. 9, p. 895–901, set. 1999.

TAJIMA, T. *et al.* A Japanese patient of congenital hypothyroidism with cerebellar atrophy. *Endocrine journal*, PMID: 18000345, v. 54, n. 6, p. 941–944, dez. 2007.

TENG, C. J.; ABBOTT, F. V. The formalin test: a dose-response analysis at three developmental stages. *Pain*, PMID: 9718252, v. 76, n. 3, p. 337–347, jun. 1998.

THOMASSIN, H. *et al.* Glucocorticoid-induced DNA demethylation and gene memory during development. *The EMBO journal*, PMID: 11296230, v. 20, n. 8, p. 1974–1983, 17 abr. 2001.

VAN SANDE, J. *et al.* Thyrotropin stimulates the generation of inositol 1,4,5-trisphosphate in human thyroid cells. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, PMID: 16384841, v. 91, n. 3, p. 1099–1107, mar. 2006.

WOEBER, K. A. Subclinical thyroid dysfunction. *Archives of internal medicine*, PMID: 9164371, v. 157, n. 10, p. 1065–1068, 26 maio 1997.

WOODS, R. J.; SINHA, A. K.; EKINS, R. P. Uptake and metabolism of thyroid hormones by the rat foetus in early pregnancy. *Clinical science (London, England: 1979)*, PMID: 6467839, v. 67, n. 3, p. 359–363, set. 1984.

YOSHIHARA, A. *et al.* Regulation of dual oxidase expression and H₂O₂ production by thyroglobulin. *Thyroid: official journal of the American Thyroid Association*, PMID: 22874065, v. 22, n. 10, p. 1054–1062, out. 2012.

3. NORMAS PARA PUBLICAÇÃO

Seguem abaixo as normas para publicação na revista *European Journal of Pain*, na qual o artigo foi publicado.

OVERVIEW

Prior to submission, please ensure that your manuscript is in accordance with the author guidelines below.

Articles must be submitted online via the *European Journal of Pain* (EJP) Editorial Manager Site -<http://www.editorialmanager.com/eurjpain> (see Section 3).

Any queries regarding the scope of the journal, the preparation of manuscripts or the submission of manuscripts may be sent to the Editorial Office at ejp@meditos.de

ARTICLE TYPES AND CONTENT

EJP invites the following types of submission:

Original Articles

Original Articles are the journal's primary mode of communication. For purposes of presentation only, accepted Original Articles are divided into the following sections:

Neurobiology

Experimental & Clinical Neurology

Experimental & Clinical Pharmacology

Therapeutic Studies and Psychology

Epidemiology

Original articles must include a structured abstract and bulleted statements in answer to the following questions: 'what's already known about this topic?' and 'what does this study add?' (see Section 4).

Manuscripts reporting randomised controlled trials [RCTs] must follow the **CONSORT** statement. RCTs will not be considered by *EJP* without submission of a completed **CONSORT checklist**. In addition, authors should consider describing the outcome measures following the IMMPACT recommendations (Dworkin et al., *Pain* 2005;**113**:9–19).

Review Articles

The journal aims to publish concise, topical, high-quality Review Articles of recent advances in laboratory or clinical research. Review Articles may be solicited by the Editor-in-Chief or may be submitted by authors. Any topic will be considered, but priority will be given to those addressing a major current problem and those with up-to-date literature reviews. All Review Articles are subject to peer-review.

Review articles must include a structured abstract and bulleted statements in answer to the following questions 'database?' and 'what does this review add?' (see Section 4).

Submission of a completed PRISMA checklist is required for all systematic reviews/meta-analyses.

Short Communications

Short Communications typically describe completed laboratory or clinical work. The guidelines for the preparation of Short Communications are the same as those for Original Articles, as far as applicable. The abstract is limited to 250 words and the body of the article

should not exceed three printed pages. Full length articles are preferred and Short Communications will only be accepted if they are of broad interest. Generally, no pilot studies or preliminary results will be accepted.

Commentaries

Commentaries may provide opinion on published findings or on topics pertinent to the community of pain practitioners and researchers. Commentaries are typically commissioned by the Editors. However, suggestions for such articles are welcomed and should be directed to the Editorial Office. A commentary on a paper accepted or already published by *EJP* must cite the primary article.

Letters to the Editor

Letters to the Editor may be in response to issues arising from recently published articles, or as an exception, short, free-standing pieces expressing an opinion. Letters to the Editor should be formatted in one continuous section and should not exceed one printed page (800 words and 10 references). All letters are subject to peer-review.

Letters in response to a previously published article must cite the original article. At the Editors' discretion, a letter may be sent to authors of the original paper for comment, and both letter and reply may be published together.

Randomized Controlled (Clinical) Trials

Submission of a completed CONSORT checklist is required for RCTs in patients

Qualitative Studies

While *EJP* has a strong focus on quantitative research, qualitative studies are also published. However, qualitative reports will only be considered for publication if they address research questions which are new or have not been extensively addressed in the empirical-quantitative literature. The findings must provide new insights.

Open Label Studies

Open label studies are occasionally considered if the topic is particularly interesting and a controlled study was impracticable.

Translations of Questionnaires

Translations of questionnaires into another language will not be considered for publication except if the study provides information and insights that go beyond the issue of translation and are of interest for international readers. Such data include for example comprehensive validity analyses including factorial validity, divergent and convergent validity or findings with regard to the clinical usefulness of a particular questionnaire.

Studies on Health Economics

Generally this journal does not publish papers on economical aspects of particular forms of pain treatments.

SUBMISSION OF MANUSCRIPTS

All submissions should be made online at the *EJP* Editorial Manager site - <http://www.editorialmanager.com/eurjpain>. New users will be required to register and create an account. Once a user is logged onto the site, submissions should be made via the Author Centre.

PREPARATION OF MANUSCRIPTS

Manuscripts must be written in English.

Manuscript text must be saved in Word (.doc) or Rich Text Format (.rtf). Please do not submit text in PDF format (.pdf).

Due to space restrictions in the printed version of the journal, papers generally should not exceed ten typeset pages (including references, figures and tables). *EJP* can publish additional material online-only. Authors are encouraged to take advantage of the online-only publication option.

Suggestions for the cover inset are invited. The illustration may be from a manuscript accepted for publication in the European Journal of Pain.

Manuscript Structure and Word Count

1) Manuscript

- Title page (see further details below)
- Abstract (should not exceed 250 words, see further details below)
- Text
 - o Introduction (no subheadings, should not exceed 500 words)
 - o Methods (or Literature Search Methods for Review Articles)
 - o Results
 - o Discussion and conclusions (should not exceed 1500 words)
- Acknowledgements
- Author contributions (see Section 6)
- References (limited to 80 for original manuscripts)
- Legends for illustrations and tables

2) Tables (to be uploaded as separate files)

3) Figures (to be uploaded as separate files)

4) Supporting material (additional material that will be published online-only, to be uploaded separately, see further details below)

Title Page

The title page should give:

- 1) The title of the article. Titles should be short and should not contain acronyms
- 2) A running head not exceeding 50 characters
- 3) The authors' names (initial(s) of first name(s) and last name of each author)
- 4) The names of the institutions at which the research was conducted, clearly linked to respective authors
- 5) The name, address, telephone and fax numbers, and e-mail address of the author responsible for correspondence
- 6) The category for which the manuscript is being submitted (original article, review, short communication)
- 7) A statement of all funding sources that supported the work
- 8) Any conflicts of interest disclosures (see Section 6).
- 9) Answers to each of the following questions in 2 or 3 bulleted statements (not exceeding 70 words): 'what's already known about this topic?' and 'what does this study add?'. For reviews only: 'database?' and 'what does this review add?'.

Abstract

The abstract should not exceed 250 words and should describe the background, the aims, the

methods, the results and the conclusions reached. It should contain only standard abbreviations and no references. For Original Manuscripts the following subheadings are required:

- Background
- Methods
- Results
- Conclusions

For Reviews the following subheadings are required:

- Background and Objective
- Databases and Data Treatment
- Results
- Conclusions

Acknowledgements

The acknowledgements section should specify acknowledgement of technical help, but no sources of financial and material support. These should be given in the "Funding Sources" on the Title page.

Author Contributions

Authors are required to include a statement of responsibility in their manuscript that specifies the contribution of every author (see Section 6). Please state that all authors discussed the results and commented on the manuscript.

References

If you use, e.g., Reference Manager, please note that *EJP* has adapted its reference style to the reference style of the journal *Eur J Neuroscience*.

In the text: references should be cited in parantheses at the appropriate point in the text by author(s) and year in chronological order, e.g., (Mustola, 1996; Baer, 1997; Mustola and Baer, 1998; Mustola et al., 1999). If two or more references with the same first author and year are cited, use lower-case letters a, b, etc., after the year both in the text and in the reference list.

In the reference list: references to cited materials should be listed in alphabetical order at the end of the article. Please use Index Medicus abbreviations for journal titles. Include all authors. Do not use "et al." in the reference list.

Example for an article in a periodical:

De Peuter, S., Van Diest, I., Vansteenwegen, D. (2011). Understanding fear of pain in chronic pain: Interoceptive fear conditioning as a novel approach. *Eur J Pain* 15,889–894.

Example for a chapter in a book:

Janes, R., Saarto, T. (2010). Oncologic therapy in cancer pain. In *Evidence-Based Chronic Pain Management*, C. Stannard, E. Kalso, J. Ballantyne, eds. (Oxford: Wiley-Blackwell) pp. 311–326.

Example for a book:

Van Zundert, J., Patijn, J., Hartrick, C. (2011). *Evidence-based Interventional Pain Practice*(Oxford: Wiley-Blackwell).

Citing and listing of Web references:

As a minimum, the full URL should be given. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web

references should be listed separately (e.g., after the reference list) under the heading "Web references".

Personal communications, manuscripts in preparation and other unpublished data should not be cited in the reference list but may be mentioned in the text in parentheses.

Figures

All colour illustrations will be published free of charge.

All figures must be uploaded as separate files. Figure legends should be listed **on a separate page** in numerical order and should contain brief but comprehensible explanations.

Figures should be referred to in the text in numerical sequence as follows: Fig. 1, Figs 2–4. The place at which a figure is to be inserted in the printed text should be indicated clearly on a manuscript. Where a figure has more than one panel, each panel should be labeled in the top left-hand corner using lower case letters in parentheses i.e. '(a)', '(b)' etc., and a brief description of each panel given in the figure legend.

Authors are themselves responsible for obtaining permission to reproduce previously published figures or tables. When an individual is identifiable in a photograph written consent must be obtained. This permission must include the right to publish in electronic media.

Print publication requires high quality, EPS (lineart) or TIFF/PDF (halftone/photographs) files are preferable (though GIF, JPEG, PICT or Bitmap files are acceptable for submission). MS PowerPoint and Word Graphics are unsuitable for printed pictures. Scans (TIFF only) should have a resolution of 300 dpi (halftone) or 600 to 1200 dpi (line drawings) in relation to the reproduction size (see below). EPS files should be saved with fonts embedded (and with a TIFF preview if possible). For scanned images, the scanning resolution (at final image size) should be as follows to ensure good reproduction: lineart: >600 dpi; half-tones: >300 dpi; figures containing both halftone and line images: >600 dpi.

Detailed instructions for electronic artwork preparation may be found at <http://authorservices.wiley.com/bauthor/illustration.asp>.

Tables

Tables should be referred to in the text in numerical sequence as follows: Table 1, Table 2. Each table, with an appropriate brief legend, comprehensible without reference to the text, should be typed on a separate page. For footnotes, use superscripts 'a', 'b', 'c', etc., not asterisks or other symbols.

Supplementary Materials to be published online-only

EJP encourages the submission of underlying data sets, appendices, additional figures or tables, movie files, animations, etc. as online-only supporting information. Supporting information should be uploaded during manuscript submission (see Section 3). Supporting information should be important ancillary information that is relevant to the parent article but which does not or cannot appear in the printed edition of the journal.

To submit any material to be published online only please do the following:

- choose the item "table" or "figure" as usual when uploading the files of tables or figures
- choose the item "manuscript" if you want to publish certain parts of the manuscript online only and upload the related word file
- scroll down the page and enter in the "description"-box the kind of material you want to submit online only.

Please use the following terms:

- for tables: "tableS1", "tableS2" etc.
- for figures: "figureS1", "figureS2" etc. The figure legends should be included in the figure's file.
- for parts of the manuscript's text: "methodsS1", "resultsS1", "discussionS1" or "AppendixS1" (please note that it is not possible to publish additional material for the introduction)
- please indicate and cite clearly in your manuscript the online only material using the terms given above.

Units & Abbreviations

Measurements of length, height and volume should be reported in metric units (metre, kilogram, litre). Temperatures should be given in degrees Celsius and blood pressures in millimetres of mercury or kPa with the alternative units in parentheses. All other measurements including laboratory measurements should be reported in the metric system in terms of the International System of Units (SI).

Abbreviations should be limited and defined after the first use of the term.

Drug Names

Generic names of drugs should be used where possible. When quoting from specific materials on proprietary drugs, authors must state in parentheses the name and address of the manufacturer.

5. ADDITIONAL INFORMATION ON ACCEPTANCE

Copyright

If your paper is accepted, the author identified as the formal corresponding author for the paper will receive an email prompting them to login into Author Services; where via the Wiley Author Licensing Service (WALS) they will be able to complete the license agreement on behalf of all authors on the paper.

For Authors Signing the Copyright Transfer Agreement

If the OnlineOpen option is not selected the corresponding author will be presented with the copyright transfer agreement (CTA) to sign. The terms and conditions of the CTA can be previewed in the samples associated with the Copyright FAQs below:

CTA Terms and Conditions http://authorservices.wiley.com/bauthor/faqs_copyright.asp

For Authors Choosing OnlineOpen

If the OnlineOpen option is selected the corresponding author will have a choice of the following Creative Commons License Open Access Agreements (OAA):

Creative Commons Attribution License OAA

Creative Commons Attribution Non-Commercial License OAA

Creative Commons Attribution Non-Commercial -NoDerivs License OAA

To preview the terms and conditions of these open access agreements please visit the Copyright FAQs hosted on Wiley Author

Services http://authorservices.wiley.com/bauthor/faqs_copyright.asp and

visit <http://www.wileyopenaccess.com/details/content/12f25db4c87/Copyright--License.html>.

If you select the OnlineOpen option and your research is funded by The Wellcome Trust and members of the Research Councils UK (RCUK) you will be given the opportunity to publish your article under a CC-BY license supporting you in complying with Wellcome Trust and

Research Councils UK requirements. For more information on this policy and the Journal's compliant self-archiving policy please visit: <http://www.wiley.com/go/funderstatement>.

Proofs

Page proofs will be sent electronically to the corresponding author and should be returned within 3 days of receipt to the Production Editor. Significant textual alterations are unacceptable at proof stage without the written approval of the Editor, and they are likely to result in the delay of publication.

The corresponding author will receive an e-mail alert containing a link to a secure web site. A working e-mail address must therefore be provided for the corresponding author. In the absence of the corresponding author, please arrange for a colleague to access the e-mail to retrieve the proofs.

Please note that you have final responsibility for what is stated in the proofs of your manuscript. However, the proofs are checked thoroughly by the *EJP* editorial team and if we do not receive corrections after several automated reminders to the email address supplied for the corresponding author then we will assume that we have your approval for publication.

Early View

EJP is covered by the publisher's Early View service. Early View articles are complete and final. They have been fully reviewed, revised and edited for publication, and the authors' final corrections have been incorporated. Because they are in final form, no changes can be made subsequent to Early View publication. Early View articles can be cited and tracked by DOI.

Author Services

Author Services enables authors to track their article - once it has been accepted - through the production process to publication online and in print. Authors can check the status of their articles online and choose to receive automated e-mails at key stages of production. The author will receive an e-mail with a unique link that enables them to register and have their article automatically added to the system. Please ensure that a complete e-mail address is provided when submitting the manuscript.

Visit <http://authorservices.wiley.com/bauthor> for more details on online production tracking and for a wealth of resources including FAQs and tips on article preparation, submission and more.

Offprints

Free access to the final PDF offprint of your article will be available via Author Services only. Please therefore sign up for Author Services if you would like to access your PDF offprint and enjoy the many other benefits the service offers.

Note to NIH Grantees

Pursuant to NIH mandate, Wiley-Blackwell will post the accepted version of contributions authored by NIH grant-holders to PubMed Central upon acceptance. This accepted version will be made publicly available 12 months after publication. For further information, see www.wiley.com/go/nihmandate.

DECLARATIONS

Original Publication

Submission of a manuscript will be held to imply that it contains original unpublished work and is not being submitted for publication elsewhere at the same time. The author must supply

a full statement to the Editor-in-Chief about all submissions and previous reports that might be regarded as redundant or duplicate publication of the same or very similar work.

Conflicts of Interest

Authors are responsible for disclosing all financial and personal relationships between themselves and others that might be perceived by others as biasing their work. To prevent ambiguity, authors must state explicitly whether potential conflicts do or do not exist.

Ethics

When reporting experiments on human subjects, indicate whether the procedures followed were in accordance with the ethical standards of the responsible committee on human experimentation (institutional or regional) and with the Helsinki Declaration of 1975, as revised in 1983. Do not use patients' names, initials or hospital numbers, especially in illustrative material. When reporting experiments on animals, indicate whether the institution's or a national research council's guide for, or any national law on, the care and use of laboratory animals was followed. A statement describing explicitly the ethical background to the studies being reported should be included in all manuscripts in the Methods section. Ethics committee or institutional review board approval should be stated.

Patients have a right to privacy that should not be infringed without informed consent. Identifying information should not be published in written descriptions, photographs and pedigrees unless the information is essential for scientific purposes and the patient (or parent or guardian) gives written informed consent for publication. Identifying details should be omitted if they are not essential but patient data should never be altered or falsified in an attempt to attain anonymity. Complete anonymity is difficult to achieve and informed consent should be obtained if there is any doubt. For example, masking the eye region in photographs of patients is inadequate protection of anonymity.

Authorship

All persons designated as authors should qualify for authorship and all those who qualify should be listed. Each author should have participated sufficiently in the work to take public responsibility for appropriate portions of the content. One or more authors should take responsibility for the integrity of the work as a whole, from inception to published article. Authorship credit should be based only on 1) substantial contributions to conception and design, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data; 2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content; 3) final approval of the version to be published. Conditions 1, 2 and 3 must all be met. Acquisition of funding, the collection of data or general supervision of the research group, by themselves, do not justify authorship. All others who contributed to the work who are not authors should be named in the Acknowledgements section.

Committee on Publication Ethics (COPE)

As a member of the Committee on Publication Ethics (COPE), adherence to these submission criteria is considered essential for publication in *EJP*; mandatory fields are included in the online submission process to ensure this. If, at a later stage in the submission process or even after publication, a manuscript or authors are found to have disregarded these criteria, it is the duty of the Editor-in-Chief to report this to COPE. COPE may recommend that action be taken, including but not exclusive to, informing the authors' professional regulatory body and/or institution of such a dereliction.

The website for COPE may be accessed at: <http://www.publicationethics.org.uk>

FURTHER EDITORIAL NOTES & POLICIES

Faculty of 1000

An overly extensive overlap of a submitted paper with a publication in the database of the “Faculty of 1000” might lead to rejection of the paper.

Changes of Authorship

This policy concerns the addition, deletion, or rearrangement of author names in the authorship of accepted manuscripts.

Before the accepted manuscript is published online: requests to add or remove an author, or to rearrange the author names, must be sent to the Editorial Manager or the Production Editor by the corresponding author of the accepted manuscript and must include: (a) the reason the name should be added or removed, or the author names rearranged and (b) written confirmation (e-mail, fax, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed. Requests that are not sent by the corresponding author will be forwarded by the Editorial Manager or the Production Editor to the corresponding author, who must follow the procedure as described above. Note that: (1) the Editorial Manager or Production Editor will inform the Editors of any such requests and (2) publication of the accepted manuscript online will be suspended until authorship has been agreed.

After the accepted manuscript is published online: any requests to add, delete, or rearrange author names in an article published in an online issue will follow the same policies as noted above and result in a corrigendum.

4. ARTIGO

ALVES, I. G. N. *et al.* Experimental hypothyroidism during pregnancy affects nociception and locomotor performance of offspring in rats. **European journal of pain (London, England)**, v. 17, n. 9, p. 1291–1298, out 2013.

O artigo encontra-se publicado e com direitos de cópia em posse da editora *John Wiley & Sons*. Dessa forma, impossibilita-se a reprodução neste documento do manuscrito original submetido para a revista, vide endereço eletrônico da *International Digital Object Identifier Foundation* [<http://dx.doi.org/10.1002/j.1532-2149.2013.00306.x>].

O artigo encontra-se indexado no portal *PubMed*, através do endereço eletrônico [<http://www.pubmed.com/23536325>]. Para lista de autores, veja *Figura 1*, na próxima página.

4.1. Abstract

BACKGROUND: Thyroid hormones (THs) play a crucial role in the development of several organic systems. An adequate support of maternal THs may be required to ensure a normal nociceptive function of offspring into adulthood. We investigated the impact of experimental gestational hypothyroidism (EGH) on nociceptive threshold and motor performance in the offspring at different post-natal days (PND) in both male and female rats.

METHODS: EGH was induced by the administration of 0.02% methimazole (MMI) in the drinking water from the ninth day of gestation until birth. The offspring from MMI-treated dams (OMTDs) or from water-treated dams (OWTDs) were assessed for thermal and mechanical nociception using the tail-flick test and von Frey filaments, respectively. Both rota-rod and grip strength were used to assess motor function.

RESULTS: OMTD had reduced thermal ($p < 0.05$) but not mechanical threshold at all studied ages (60 and 120 PND). Sixty-day-old OMTD presented reduced latency to the tail-flick test ($p = 0.01$). Grip strength in 120-day-old OMTD was reduced ($p < 0.01$). However, only male OMTD presented a lower locomotor performance on the rota-rod test when analysed on the 60th PND ($p < 0.01$).

CONCLUSIONS: EGH promotes hypersensitivity to noxious thermal but not mechanical stimulus. Moreover, motor force is similarly reduced in male and female OMTDs, whereas motor performance is reduced only in mature male OMTD, suggesting the presence of a protective factor in females.

ORIGINAL ARTICLE

Experimental hypothyroidism during pregnancy affects nociception and locomotor performance of offspring in rats

I.G.N. Alves¹, K.M.L. da Cruz², C.M.D. Mota², D.S. de Santana¹, D.P. Gaujac¹, V.C.B. de Carvalho¹, L.C. Reis³, K.A. Sluka⁴, L.J. Quintans-Junior¹, A.R. Antoniolli¹, J.M. DeSantana², D. Badauê-Passos Jr¹, V.J. de Santana-Filho²

¹ Departamento de Fisiologia, Universidade Federal de Sergipe, Aracaju, Brazil

² Departamento de Fisioterapia, Universidade Federal de Sergipe, Aracaju, Brazil

³ Departamento de Ciências Fisiológicas, Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brazil

⁴ Department of Physical Therapy and Rehabilitation Science, University of Iowa, USA

Correspondence

Daniel Badauê-Passos Jr

E-mail: badauejr@ufs.br

Funding sources

None.

Conflicts of interest

None declared.

Accepted for publication

27 February 2013

doi:10.1002/j.1532-2149.2013.00306.x

Abstract

Background: Thyroid hormones (THs) play a crucial role in the development of several organic systems. An adequate support of maternal THs may be required to ensure a normal nociceptive function of offspring into adulthood. We investigated the impact of experimental gestational hypothyroidism (EGH) on nociceptive threshold and motor performance in the offspring at different post-natal days (PND) in both male and female rats.

Methods: EGH was induced by the administration of 0.02% methimazole (MMI) in the drinking water from the ninth day of gestation until birth. The offspring from MMI-treated dams (OMTDs) or from water-treated dams (OWTDs) were assessed for thermal and mechanical nociception using the tail-flick test and von Frey filaments, respectively. Both rota-rod and grip strength were used to assess motor function.

Results: OMTD had reduced thermal ($p < 0.05$) but not mechanical threshold at all studied ages (60 and 120 PND). Sixty-day-old OMTD presented reduced latency to the tail-flick test ($p = 0.01$). Grip strength in 120-day-old OMTD was reduced ($p < 0.01$). However, only male OMTD presented a lower locomotor performance on the rota-rod test when analysed on the 60th PND ($p < 0.01$).

Conclusions: EGH promotes hypersensitivity to noxious thermal but not mechanical stimulus. Moreover, motor force is similarly reduced in male and female OMTDs, whereas motor performance is reduced only in mature male OMTD, suggesting the presence of a protective factor in females.

1. Introduction

Thyroid hormones (THs) are essential to normal body development, especially to structural and functional formation of the central nervous system (CNS) (Joffe and Sokolov, 1994; Calzà et al., 1997; Bauer and Whybrow, 2001; Koibuchi et al., 2001; Bernal, 2005; Koromilas et al., 2010). The lack of THs during a critical period of development has been associated with

irreversible neurological disorders (Smith et al., 2002). A high prevalence of hypothyroidism has been reported in pregnant women (Glinioer, 1998; Nambiar et al., 2011; Stagnaro-Green et al., 2011).

The role of THs in mammalian brain development has been extensively studied (Porterfield and Hendrich, 1993). However, it is not clear how thyroid dysfunction during intrauterine life can affect these organisms later in life. It is known that THs act on

Figura 1. Primeira página do artigo publicado na revista *European Journal of Pain*, possibilitando visualização da lista de autores, *Abstract* e parte da Introdução.