

FILHOTES NASCIDOS DE MÃES COM HIPOTIREOIDISMO SUBCLÍNICO NÃO APRESENTAM ALTERAÇÕES NO SEU DESENVOLVIMENTO E NA COGNIÇÃO

Victoria Pilat Zucato e Dra. Miriam Oliveira Ribeiro

Apoio: PIBIC Mackenzie

RESUMO

O hipotireoidismo subclínico é caracterizado pela presença de níveis normais de T3 e T4 e altos níveis de TSH. Filhos de mães diagnosticadas com hipotireoidismo clínico durante a gestação, principalmente no primeiro trimestre, podem ter o desenvolvimento do Sistema Nervoso Central prejudicado com consequências para memória, aprendizagem e ansiedade. O presente estudo teve como objetivo analisar o desenvolvimento e comportamento cognitivo de filhotes de 30 dias com hipotireoidismo subclínico gestacional. Foi realizada tireoidectomia nas fêmeas para indução do estado hipotireoideo e, após 15 dias, implantados pellets subcutâneos de T4 para estabelecer a condição subclínica. Foi avaliado o desenvolvimento dos filhotes nascidos de fêmeas com hipotireoidismo subclínico gestacional e das fêmeas controle submetidas à cirurgia sham por 30 dias. Após esse período, os filhotes machos foram conduzidos aos testes comportamentais de campo aberto, labirinto em cruz elevado, reconhecimento de objetos e preferência social para avaliação de comportamento exploratório, ansiedade, memória de curto e longo prazo e memória social. Os dados obtidos permitem concluir que filhotes de mães com hipotireoidismo subclínico não apresentam alterações no seu desenvolvimento e cognição aos 30 dias de idade.

Palavras-chave: Hipotireoidismo Subclínico Gestacional, desenvolvimento, cognição

ABSTRACT

The subclinical hypothyroidism is characterized by T3 and T4 normal levels and high level TSH. Offspring of diagnosed female rats with clinical hypothyroidism during pregnancy, specially during the first trimester, may have the CNS development prejudiced with memory, learning and anxiety consequences. The following study has the objective to analyse cognitive behavior and development of rat offsprings with 30 days old born from mothers with gestational subclinical hypotireoidism. It has been performed thyroidectomy In females rats to induce the hypothyroid state and after 15 days, they were implanted with T4 subcutaneous pellets to stabilish subclinical condition. It has been evaluated the development of the offsprings born of gestational HSC females, and control females, underwent to sham surgery . After that period, the male offsprings were conduced to behavioral tests such as open field, elevated cross labirinth, object recognizing and social preference which allowed to evaluate exploratory behavior, anxiety, short and long term memory and social memory. The data

attained allow to conclude that offsprings of subclinical hypothyroidism does not present changes in its development and cognition with 30 days of age.

Keywords: gestational subclinical hypothyroidism, cognition, development.

1. INTRODUÇÃO

Os hormônios tireoidianos (HT) são essenciais para o desenvolvimento do Sistema Nervoso Central (SNC) de mamíferos. O feto depende exclusivamente do hormônio tireoidiano de origem materna em seu estágio inicial de desenvolvimento. Caso seu aporte seja inadequado, o desenvolvimento do SNC do feto pode ser comprometido, impactando diretamente no desenvolvimento cognitivo.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

1.1. Hormônio Tireoidiano

Os hormônios tireoidianos (HT) tiroxina (T4) e triiodotironina (T3) produzidos pela tireoide, uma glândula localizada abaixo da laringe, são fundamentais para o crescimento e desenvolvimento de vários órgãos e tecidos dos vertebrados. O hormônio liberador de tireotrofina (TRH), que é responsável pela regulação da tireoide, é produzido no hipotálamo. Este segue até a adeno-hipofise por meio do sistema porta hipotálamo-hipofisário ligando-se a receptores específicos e levando à síntese e secreção do hormônio estimulante da tireoide (TSH). O TSH, por sua vez, estimula a tireoide a produzir T3 e T4 (GUYTON, 2000).

Em seres humanos, a tireoide produz 80% de T4 e 20% de T3. No entanto, a forma ativa do hormônio tireoidiano é o T3, por ser capaz de se ligar aos seus receptores nucleares (TRs) expressos nas células alvo. Assim, o T4 deve ser desiodado a T3 para se tornar ativo (OPAZO, 2008).

A desiodação do T4 é realizada pelas desiodases. As iodotironinas desiodases tipos I (D1), II (D2), III (D3) pertencem à uma família de selenoenzimas. A D1 é expressa no fígado, rins, hipófise e tireoide. É responsável por ativar o T4 a T3 e inativar o T4 a T3 reverso. A D2 é expressa no sistema nervoso central (SNC), hipófise, tecido adiposo marrom e placenta e é responsável por ativar T4 a T3. Já a D3, expressa no SNC de adultos e em tecidos fetais, placenta útero e vasos umbilicais, é responsável pela degradação do hormônio tireoidiano, inativando T4 a T3r e T3 a T2. (KUIPER, 2005). Enquanto o T4 é produzido inteiramente pela glândula da tireoide, a maioria do T3 circulante é derivada da desiodação do T4 (OPAZO *et al.*, 2008; SMITH *et al.*, 2002).

1.2. Hormônio Tireoidiano e o Sistema Nervoso Central

Os HTs são fundamentais para o desenvolvimento do SNC desde a vida intrauterina e ao longo do período pós-natal (LIU *et al.*, 2010).

Em ratos, a deficiência dos hormônios da tireoide causa diversas anomalias no SNC, entre às quais alteração na migração celular, diferenciação neuronal e desmielinização são as principais (BERNAL *et al.*, 2003).

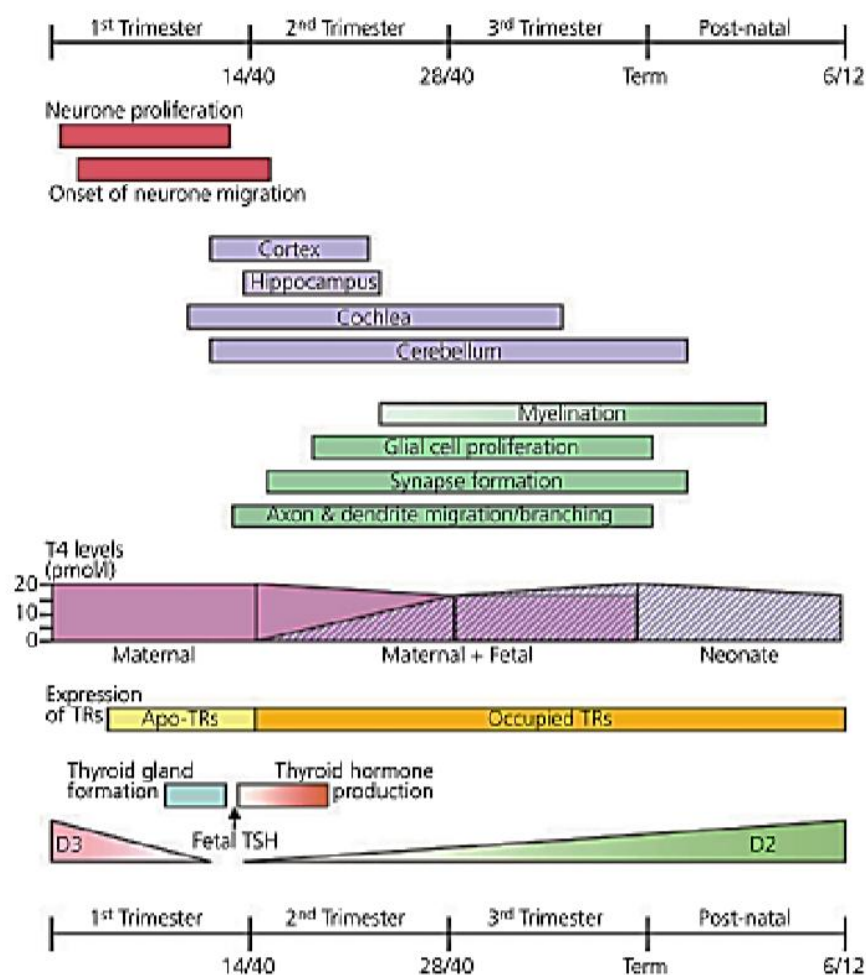
Neonatos expostos a níveis reduzidos de hormônio tireoidiano (T4) durante a vida intrauterina e neonatal apresentaram mais tarde deficiência no crescimento, problemas neurológicos e diversos problemas cognitivos (MORREALE DE ESCOBAR, 2004).

Experimentos realizados em ratos jovens com hipotireoidismo clínico mostraram déficit de memória e aprendizado (HASEGAWA, 2013). Em estudo com humanos ao estudarem memória de crianças com deficiência de hormônio tireoidiano que apresentaram perda de memória de longo prazo (WILLOUGHBY, 2012).

No primeiro trimestre da gestação em humanos o feto não possui uma tireoide plenamente funcionante. Em humanos a tireoide do feto começa a se desenvolver durante a décima semana de gestação e é totalmente funcional na vigésima sexta semana de gestação (MORREALE DE ESCOBAR, 2000).

No entanto, é possível detectar a expressão dos TRs nos seus tecidos na 9ª semana. Nesse trimestre, o T4 de origem materna induz o início da migração neural no córtex cerebral, hipocampo e eminência ganglionar medial. Ao final do 2º trimestre a tireoide já está totalmente formada, havendo liberação do hormônio estimulante da tireoide (TSH) e início da produção de hormônio tireoidiano pelo feto. No período observa-se o início da síntese de T4 e T3 pelo feto, ou seja, os níveis de hormônio tireoidiano da mãe e do feto se igualam ao longo do tempo. Durante esse período ocorrem processos de neurogênese, migração neuronal, crescimento axonal, arborização dendrítica, sinaptogênese, diferenciação das células da glia, início da mielinização e o início do desenvolvimento do córtex, hipocampo, cóclea e cerebelo. No terceiro trimestre, os processos de mielinização, migração de células glanulares no giro denteado do hipocampo, e cerebelo, de células piramidais no córtex e de células de Purkinje no cerebelo continuam (Figura 1) (WILLIAMS, 2008).

Figura 1- Níveis de T4 materno e fetal, expressão de receptores, expressão das desidases 2 e 3 e desenvolvimento do SNC ao longo do período gestacional em humanos.



Fonte: Williams (2008)

1.3. Hipotireoidismo Clínico e Subclínico Materno

O hipotireoidismo clínico (HC) é a doença mais comum da glândula tireoide durante a gravidez. É caracterizado pela redução dos níveis de T3 e T4 e aumento do nível de TSH. Apresenta uma prevalência de 4% na população e 2 a 3 % nas mulheres grávidas (NATHAN E SULLIVAN, 2014). A principal causa do HC é deficiência de iodo, gerando uma produção diminuída dos hormônios da tireoide. Nos países em que não há deficiência de iodo, a doença tireoidiana autoimune conhecida como Tireoidite de Hashimoto é a principal causa de hipotireoidismo.

O HC leva a manifestações clínicas como baixos índices metabólicos, intolerância ao frio, fraqueza muscular, fadiga, bradicardia, depressão e déficit cognitivo (FARWELL et al., 2006). Em mulheres grávidas, os sintomas mais comuns são cansaço e ganho de peso, apesar de apetite diminuído (MACIEL, 2008). A baixa função tireoidiana pode causar uma

série de problemas para a mãe e para o feto entre eles hipertensão gestacional e baixo peso fetal (SMALLRIDGE, 2002).

O HC não tratado durante a gravidez pode aumentar a incidência de hipertensão materna, pré eclampsia, anemia, hemorragia pós-parto, disfunção cardíaca ventricular, aborto espontâneo, morte fetal ou ao nascimento, baixo peso ao nascer e desenvolvimento neurológico anormal (SILVA e COSTA, 2013).

Pop et al. (2003) avaliaram o impacto do hipotireoidismo materno durante a gestação no desenvolvimento infantil e mostrou que crianças nascidas de mães diagnosticadas com hipotireoidismo clínico na 12 semana de gestação tiveram função mental e motora atrasadas. Korevaar et al (2004), mostraram uma diminuição no QI infantil de crianças nascidas de hipotireoideas.

O hipotireoidismo subclínico (HSC) é uma desordem comum na população em geral, caracterizado pelo aumento de TSH acompanhado de valores normais de T3 e T4 (COJIC, 2017; FARWELL et al., 2016). O HSC tem uma prevalência de 10% na população em geral (AL EIDAM, 2018) e de 2,5% em mulheres grávidas (ANDRADE, 2005).

O hipotireoidismo subclínico, muitas vezes acaba sendo assintomático ou apresenta sintomas que as vezes podem passar despercebidos por não ter tanta importância como por exemplo um leve cansaço, falta de vontade de realizar tarefas ou uma pequena intolerância ao frio (SILVA e COSTA, 2013).

Em mulheres não gravidas há muitas dúvidas se é realmente necessário o tratamento de hipotireoidismo subclínico, porém em gestantes é obrigatório seu tratamento tendo em vista as evidências no déficit de desenvolvimento neurológico do feto e a possibilidade de este evoluir para um hipotireoidismo clínico (ANDRADE, 2005).

Apesar dos prejuízos que o déficit de HT materno causa no desenvolvimento do feto serem conhecidos, ainda há controvérsias no que diz respeito ao HSC. Sendo assim, o presente estudo tem como objetivo avaliar a função cognitiva de ratos jovens nascidos de mães com HSC gestacional.

3. METODOLOGIA

O estudo foi realizado no Biotério e no Laboratório de Neurobiologia e Metabolismo Energético da Universidade Presbiteriana Mackenzie. O Projeto de Pesquisa foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética CEUA/UPM N° 164/11/2017. Foram utilizadas 17 fêmeas e 10 machos com 8 semanas de idade da linhagem Wistar para acasalamento. Os animais foram fornecidos pelo Centro de Desenvolvimento de Modelos Experimentais (CEDEME), localizado na Universidade Federal de São Paulo. Os animais foram alojados em caixa de

polipropileno, com assoalho recoberto de maravalha e receberam água e ração à vontade, com período de 12 horas no ciclo claro/escuro, à temperatura média de 25°C.

Os animais foram divididos nos seguintes grupos:

1. Controle (n=5): ratas submetidas à cirurgia *sham*.
2. Hipotireoidismo Subclínico (n=12): ratas hipotireoideas tratadas com pellets de T4 (1ug/100g PC)

Fêmeas com 8 semanas de idade foram submetidas a cirurgia de Tireoidectomia no Biotério da Universidade Presbiteriana Mackenzie. As ratas foram anestesiadas com quetamina (70 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg) e posicionadas sobre prancha de operação em decúbito dorsal. Com o auxílio de uma lâmina foi retirado o pelo na área onde foi feita a incisão na linha mediana do pescoço. A pele, fáscia e glândulas submaxilares foram afastadas para permitir a exposição dos músculos. Em seguida, os músculos também foram afastados para expor a traqueia e a glândula tireoide. Pequenas bolas de algodão foram usadas para afastar tecidos ao redor da glândula e para controlar o fluxo de sangue. Com o auxílio de pinças, foi dissecada a borda lateral de um dos lobos da glândula. A seguir, a borda foi levantada e com o auxílio de uma tesoura, foi cortado o tecido entre a glândula e a traqueia. O mesmo procedimento foi realizado no outro lobo. Para finalizar, o tecido muscular foi colocado em seu lugar novamente e a pele sobrejacente foi suturada. A fim de garantir os níveis adequados de cálcio, foi administrado Glicopan Pet® (1mL/100mL de água filtrada) 3 vezes por semana. Após 15 dias da cirurgia, foram implantados os pellets subcutâneos (1ug/100g de peso corporal) a fim de estabelecer o hipotireoidismo subclínico. Após 15 dias da implantação do pellet, os animais foram colocados para cruzar.

O primeiro dia da gestação (G0) foi identificado pela presença do tampão vaginal em todos os grupos. Após o parto (P1), as fêmeas foram acondicionadas individualmente com suas proles e foi avaliado a taxa de mortalidade dos filhotes, peso ao nascer, tempo para abertura total dos olhos, descolamento de orelha, aparecimento de penugem e de pêlo.

Após o período de 21 dias de lactação, os filhotes foram desmamados e separados por sexo. As mães foram decapitadas após serem profundamente anestesiadas com quetamina (70mg/kg) e xilasina (10 mg/kg) e sangue foi coletado para dosagem hormonal de TSH, T4 e T3 a partir do teste de Elisa.

2.2. Testes de Comportamento

Aos 30 dias de idade, os filhotes machos foram submetidos aos testes de comportamento. Todos os animais foram habituados a sala de testes por 1 hora antes do início dos testes comportamentais.

2.2.1. Campo Aberto: avalia a capacidade de locomoção e comportamento exploratório, podendo indicar também comportamento ansioso (EILAM, 2003). Foram avaliados os seguintes parâmetros: frequência de cruzamentos nos quadrantes periféricos e centrais, tempo de permanência na periferia e no centro da arena, frequência e tempo de levantamento, frequência e tempo de self-grooming e frequência de defecação. O aparato utilizado consiste em uma arena circular de 30 cm de diâmetro com fundo branco marcado com linhas pretas, dividindo a arena em 8 quadrantes periféricos e 4 quadrantes centrais. Essa arena é envolvida por uma parede também circular de papel pardo, para o animal não ter visão ou ser influenciado pelo ambiente externo. O teste teve duração total de 10 minutos e foram realizados durante 3 dias seguidos com um intervalo de 24 horas entre os testes.

2.2.2. Labirinto em Cruz Elevado: avalia ansiedade a partir da frequência e do tempo de permanência nos braços abertos, fechados e centro do labirinto; frequência e tempo de levantamento; frequência e tempo de self-grooming; frequência e tempo de mergulho e quantidade de defecação. O aparato tem formato de cruz e consiste em dois braços opostos sem paredes laterais e dois braços fechados com paredes laterais. O teste inicia com o animal no centro do labirinto com a cabeça virada para o braço fechado e tem duração de 5 minutos.

2.2.3. Reconhecimento de Objetos: avaliação de memória declarativa de curto e longo prazo em que são analisados a frequência e tempo de permanência do animal em cada objeto e a frequência e tempo de self-grooming. O teste foi dividido em 3 fases distintas sendo a primeira uma fase de treino em que cada animal ficava durante 10 minutos com dois objetos iguais (A e B). Na segunda fase, 3 horas depois, cada animal ficou novamente 10 minutos com dois objetos, sendo um deles diferente do anterior (A e C). E na última fase, 24 horas depois, cada animal ficou novamente 10 minutos na arena com o objeto familiar (A) um novo (D).

2.2.4. Preferência Social: avaliação da consolidação da memória social de curto prazo a partir do contato e interesse social do animal avaliado entre um rato já conhecido e um desconhecido. É avaliado o número de entradas e tempo de permanência em cada compartimento e a frequência e tempo de contato em cada gaiola. O teste foi realizado em um aparato de acrílico dividido em 3 compartimentos, 2 laterais e 1 central, separados por uma porta que era retirada durante o teste, permitindo a passagem do animal pelos compartimentos. Cada compartimento lateral continha uma gaiola. O teste foi dividido em 4 fases distintas de 10 minutos cada, sendo a primeira fase apenas para ambientação. Na segunda fase, as portas foram abertas, permitindo a circulação livre do animal nos 3

compartimentos, todos vazios. Na terceira fase, foi colocado um rato desconhecido em uma das gaiolas, enquanto que a outra permaneceu vazia. Na quarta fase, foi colocado um novo rato na gaiola anteriormente vazia enquanto a primeira continuava com o rato familiar.

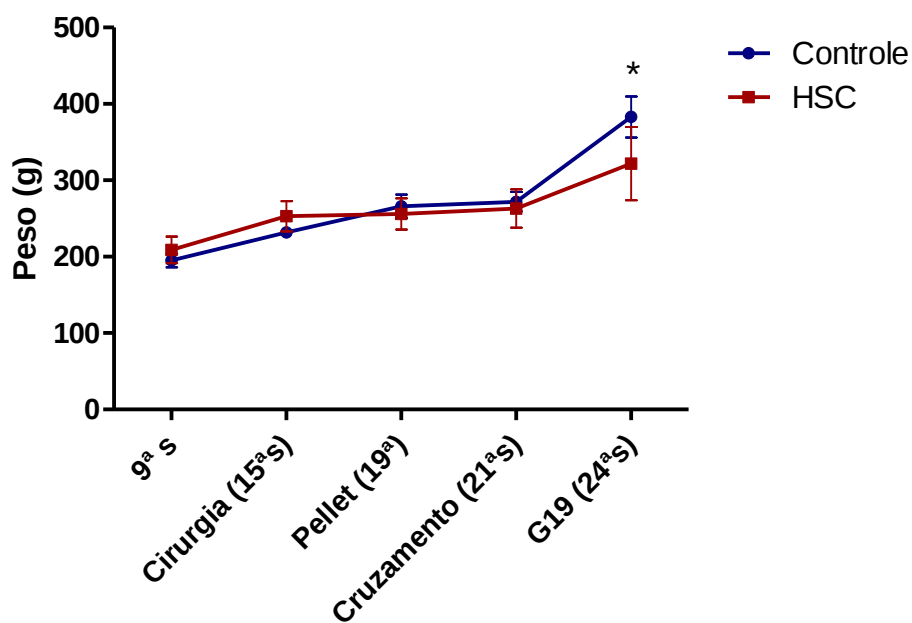
2.3. Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos a análise estatística. As diferenças entre os grupos foram analisadas por ANOVA de 1 via seguida por pós teste de Bonferroni, ANOVA de 2 vias seguidas seguida pelo pós teste de Bonferroni e teste T de Student. As análises foram realizadas através do programa Graphpad Prism 5.0. A significância considerada foi de $p < 0,05$.

4. RESULTADO E DISCUSSÃO

1.4. Peso corporal das mães

O peso das mães foi medido desde a 9ª semana de vida das ratas até o dia 19 de gestação. Como pode ser observado na Figura 2, não houve diferença entre os pesos da 9ª semana de idade até o cruzamento. Durante a gestação, o grupo controle apresentou ganho de peso significativamente maior que o grupo HSC (Figura 2).



$P < 0,01$

Figura 2. Peso corporal das fêmeas eutireoideas e com hipotireoidismo subclínico ao longo do experimento no período entre 9ª semana (9ªs) e o dia gestacional 19 (G19). Os valores estão expressos como média $\pm$ erro padrão. *vs. Controle com $p < 0,05$.

1.5. Níveis séricos de T3, T4 e TSH

A dosagem hormonal revelou valores dentro do esperado de TSH, T3 e T4 para o grupo controle, caracterizando um estado eutireoideo. Os animais do grupo experimental possuíram valores elevados de TSH e normais de T3 e T4, o que caracteriza um estado de hipotireoidismo subclínico (Tabela 1).

Tabela 1. Dosagem hormonal de TSH, T3 e T4 (ng/mL) das fêmeas do grupo controle e experimental (HSC). Valores expressos por média e desvio padrão.

	Controle	HSC
TSH	5,33 $\pm$ 5,00	22,15 $\pm$ 14,57
T3	1,09 $\pm$ 0,02	1,02
T4	58,31 $\pm$ 2,15	49,86 $\pm$ 0,2

1.6. Reprodução

As características reprodutivas avaliadas estão descritas na Tabela 2. Fêmeas com HSC não mostraram diferença de peso ao nascer entre os grupos.

Todas as 5 fêmeas eutireoideas engravidaram, porém 2 vieram a óbito sem causa conhecida no 20º dia de gestação (G20). Foi realizado necropsia e não detectada nenhuma anomalia. Todos os filhotes nascidos das 3 fêmeas restantes sobreviveram.

Das 12 fêmeas HSC, apenas 2 chegaram ao fim da gestação. Das duas ninhadas geradas, uma era composta por 14 filhotes e outra por 9. A ninhada de 9 filhotes veio a óbito no dia seguinte ao nascimento, bem como a mãe.

Tabela 2. Características reprodutivas das fêmeas com hipotireoidismo subclínico (HSC) e eutireoideas (controle).

Característica	Controle (n = 5)	HSC (n=11)
Engravidaram	5 (100%)	11 (91,6%)
Óbitos das mães	2 (40%)	7 (58,33%)
Abortos	0	3
Ninhadas	3 (60%)	2 (18,18%)

Filhotes por ninhada (média)	10,3	11
Machos		
Peso ao nascer	14 (46,6%)	7 (50%)
	4,8 ± 0,46	4,78 ± 0,89

1.7. Desenvolvimento dos filhotes

Não foi possível observar diferença significativa em relação ao desenvolvimento dos filhotes nos parâmetros avaliados (peso ao nascer e aos 30 dias, descolamento de orelha, abertura de olhos, aparecimento de penugem e aparecimento de pelos) (Tabela 3).

Tabela 3. Peso ao nascer (gramas) e tempo (dias) para aparecimento das características de desenvolvimento de filhotes de ratas eutireoideas (controle) e experimentais (HSC). Valores expressos como média e desvio padrão.

Característica	Controle	HSC
Peso médio ao nascer	4,8 ± 0,46	4,78 ± 0,89
Peso médio aos 30 dias	58,13 ± 4,45	53,93 ± 3,00
Descolamento de orelha	3,13 ± 0,34	3,21 ± 0,43
Abertura de olhos	10,66 ± 0,48	10,42 ± 0,75
Aparecimento de penugem	5,3 ± 0,47	5,93 ± 0,47
Aparecimento de pêlos	9,27 ± 0,52	9,64 ± 0,84

1.8. Campo Aberto

O comportamento exploratório e a locomoção foram avaliados por meio do teste de campo aberto. Não houve diferença significativa nos cruzamentos nos quadrantes centrais entre o grupo controle e experimental. Já em relação ao cruzamento entre os quadrantes da periferia, houve uma diferença significativa no terceiro dia, não mostrando diferença no primeiro e no segundo dia entre os grupos. Avaliando o tempo de permanência no centro e na periferia, levantar e limpar, não houve diferença significativa entre os grupos (Figura 3).

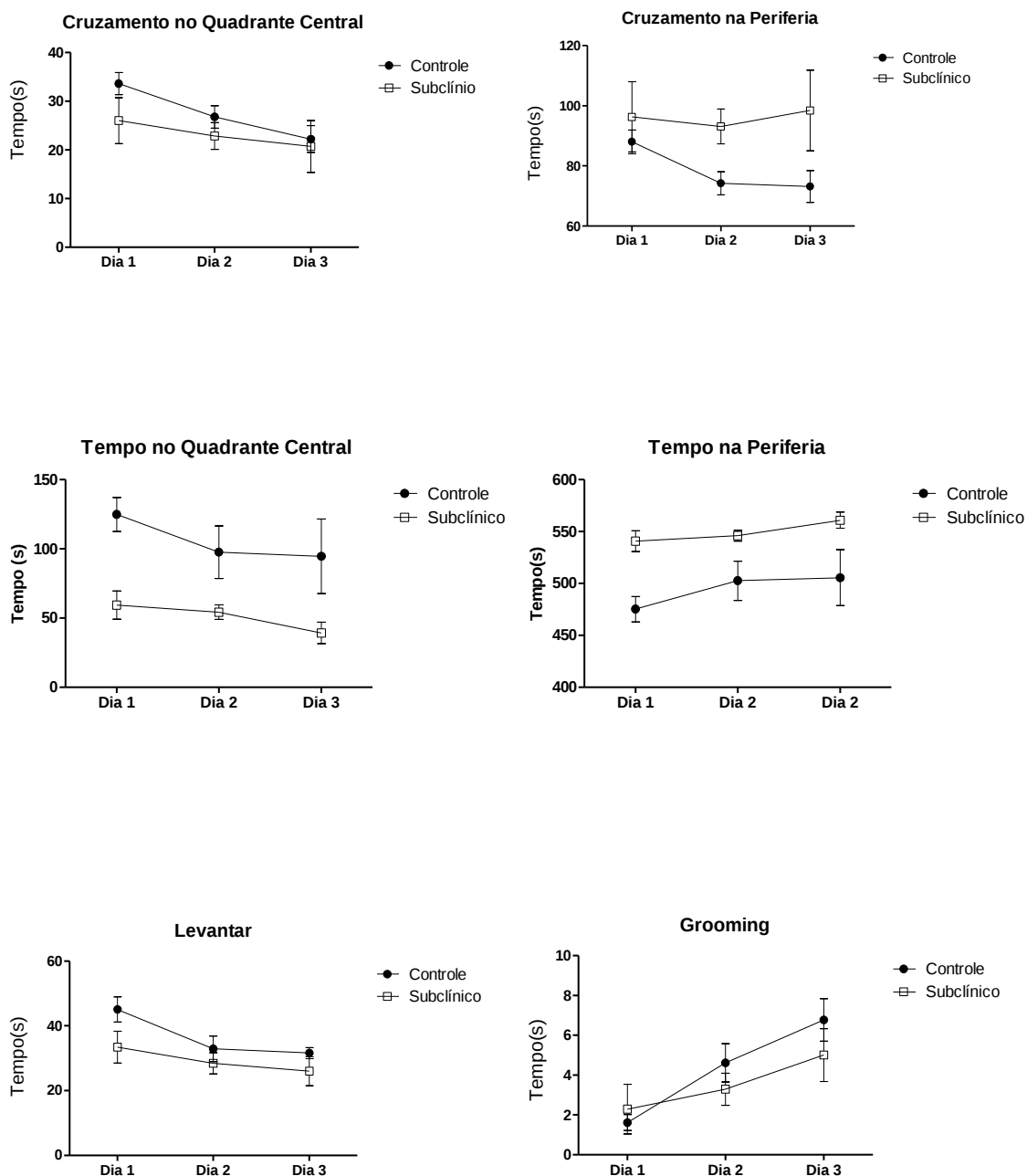


Figura 3- Hipotireoidismo subclínico não altera a atividade locomotora e exploratória dos ratos. 2A: Cruzamento no quadrante central, 2B: Cruzamento na periferia, 2C: Tempo no quadrante central, 2D: Tempo na periferia, 2E: Levantar, 2F: Grooming. Os valores estão expressos como média $\pm$ EP. *vs. Controle com $p < 0,05$.

1.9. Labirinto em Cruz Elevado

Para avaliar se os animais apresentam ansiedade, foi realizado o teste de labirinto em cruz elevado.

Não houve diferença significativa entre o tempo de permanência e a frequência nos braços aberto e fechado e no centro entre o grupo controle e o experimental (HSC). Também não houve diferença significativa nos parâmetros levantar e mergulhar entre os dois grupos.

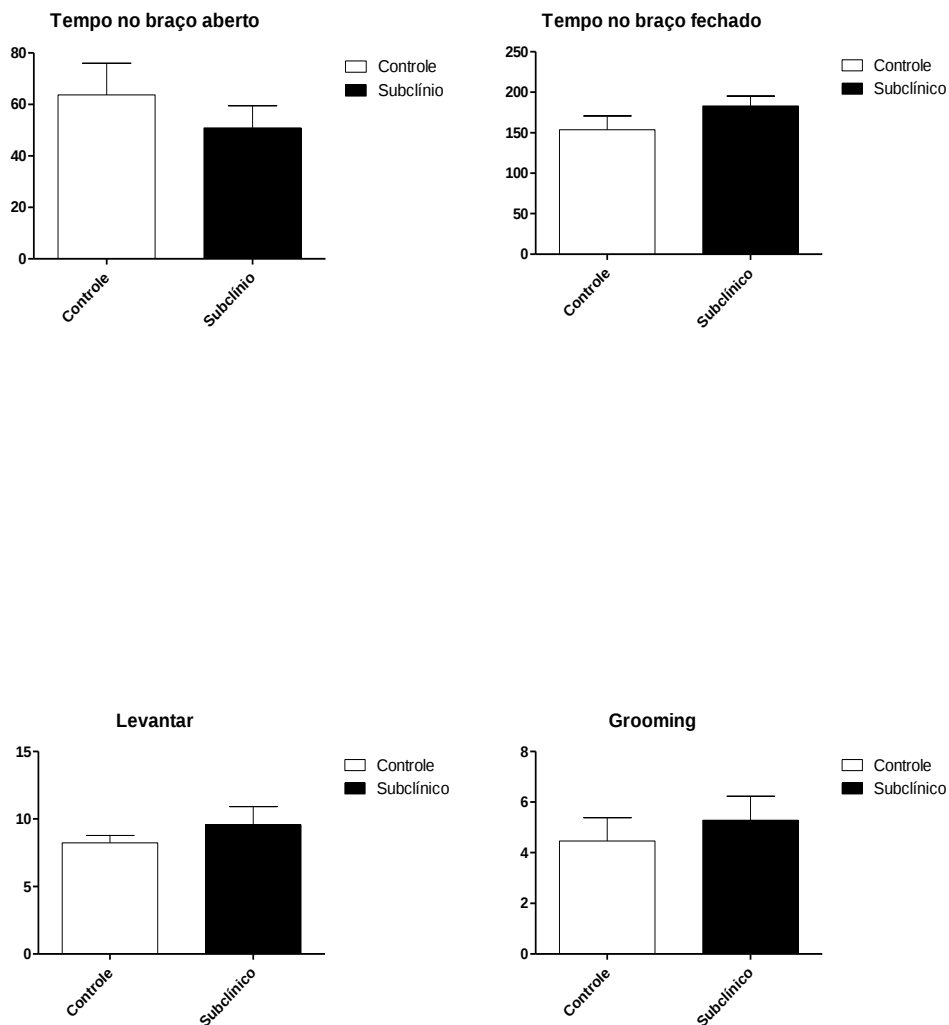


Figura 4: Os animais com hipotireoidismo subclínico não apresentaram ansiedade 3A: Tempo no braço aberto, 3B: Tempo no braço fechado, 3C: Frequência no braço aberto, 3D: Frequência no braço fechado, 3E: Levantar, 3F: Grooming. Os valores estão expressos como média $\pm$ EP. *vs. Controle com $p < 0,05$

1.10. Reconhecimento de Objetos

Para avaliar se os grupos hipotireoidismo subclínico e controle possuem diferença na formação de memória declarativa de curto e longo prazo, os animais foram submetidos ao teste de Reconhecimento de Objetos.

Na primeira fase (treino), os animais permaneceram o mesmo tempo com ambos objetos, demonstrando não haver preferência por nenhuma região do aparato. Na segunda fase, 3 horas após o treino, ambos os grupos permaneceram mais tempo com o objeto novo ($p < 0,0001$), indicando formação de memória de curto prazo, apesar do grupo experimental apresentar a mesma frequência de interação tanto com o objeto novo quanto com o familiar. 24 horas após o treino, ambos os grupos ficaram um tempo significativamente maior nos objetos novos, indicando que não houve prejuízo na formação de memória de longo prazo (Figura 5).

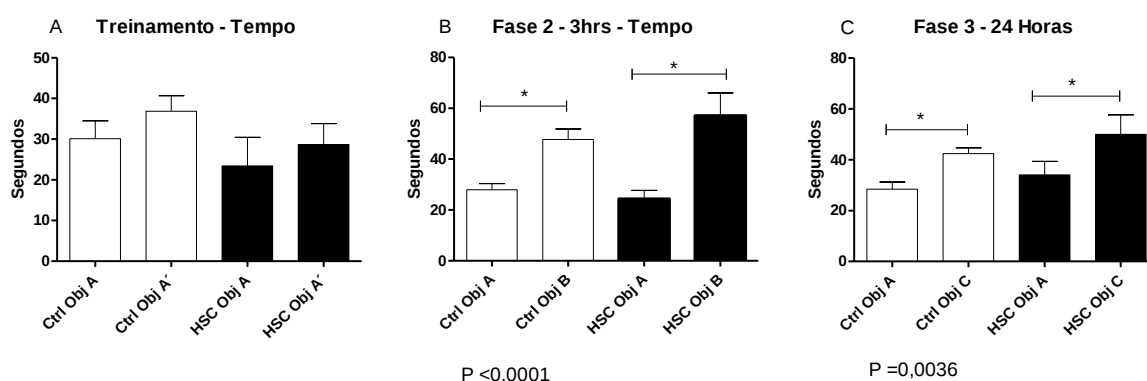


Figura 5- Hipotireoidismo subclínico não altera a memória a curto e longo prazo. 4A: Fase 1 (treinamento) tempo e frequência, 4B: Fase 2 (3 horas) tempo e frequência, 4C: Fase 3 (24 horas) tempo e frequência. Os valores estão expressos como média $\pm$ EP. *vs. Controle com $p < 0,05$

1.11. Preferência Social

Para avaliar se os grupos controle e subclínico apresentam prejuízo na consolidação da memória social de curto prazo foi analisado o contato e interesse social do animal

avaliado entre um rato já conhecido e um desconhecido a partir do número de entradas e tempo de permanência em cada compartimento e a frequência e tempo de contato em cada gaiola. Não houve diferença tanto no tempo quanto frequência na fase de ambientação, indicando não haver preferência por local.

Na segunda fase, o tempo e a frequência de interação com as gaiolas foi maior na que continha um animal desconhecido em comparação com a gaiola vazia ($p < 0,0001$). Na terceira fase 3, ambos os grupos permaneceram mais tempo em contato com o animal novo ($p < 0,0015$), apesar da frequência ter sido a mesma (Figura 6).

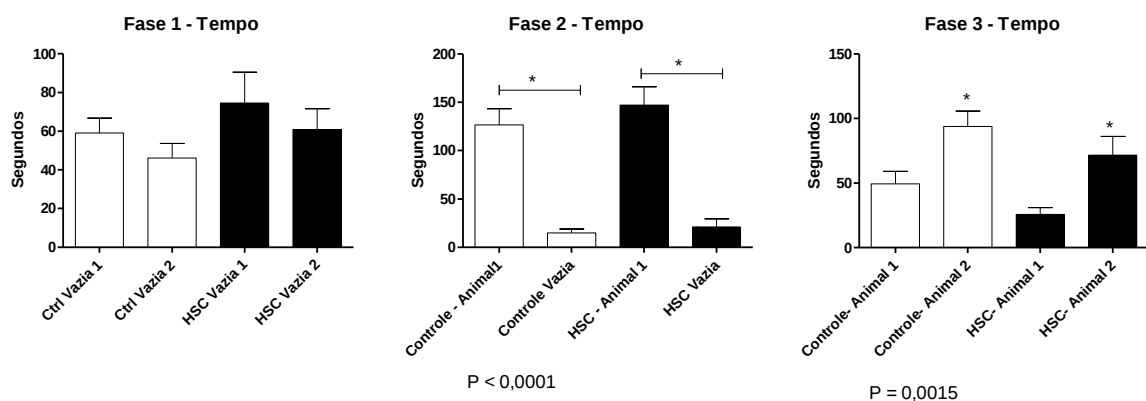


Figura 6- O hipotireoidismo subclínico não altera o funcionamento da amígdala na consolidação da memória social de curto prazo. 5A: Fase 1 tempo e frequência com as portas abertas, 5B: Fase 2 tempo e frequência com um animal novo, 5C: Fase 3 tempo e frequência com o animal familiar e um novo.

5. DISCUSSÃO

Tendo em vista a importância e a dependência dos hormônios tireoidianos para o desenvolvimento do feto, a sua essencial participação para o desenvolvimento e maturação do SNC do feto (LIU, et al., 2010) e que o hipotireoidismo clínico pode causar ansiedade e prejuízos cognitivos para a prole (MORREALE DE ESCOBAR, 2004), o presente estudo investigou se o hipotireoidismo subclínico também seria capaz de causar prejuízo na prole de ratas.

Os resultados da dosagem hormonal, mostraram níveis normais de TSH, T3 e T4 no grupo controle e níveis altos de TSH e normais de T3 e T4 no grupo subclínico. Zhang (2018) também mostrou o mesmo resultado quando estudou mães com hipotireoidismo subclínico. Isso mostra que os animais alcançaram um quadro de hipotireoidismo subclínico

e que a tireoidectomia e a implantação de pellet subcutâneo foram eficazes para indução de hipotireoidismo subclínico.

O peso corporal das ratas foi semelhante entre os dois grupos estudados durante o período compreendido entre a cirurgia e o dia do cruzamento. Porém, a partir do cruzamento, o grupo controle cresceu significativamente mais em relação ao grupo subclínico. É notável que apesar dos níveis de T3 e T4 estarem normais, mesmo assim houve um menor ganho de peso nas fêmeas submetidas ao HSC. Como os filhotes das mães HSC apresentaram peso corporal ao nascer semelhante aos nascidos de mães controles e o tamanho da ninhada foi semelhante, esses achados sugerem que houve alguma alteração na capacidade de lipogênese do tecido adiposo branco das mães com HSC.

Em nosso estudo, não houve diferença nos parâmetros de desenvolvimento de filhotes em relação ao grupo controle e subclínico. Os resultados de desenvolvimento dos filhotes foram comparados com o Manual de Procedimentos e Cuidados com os Animais de Laboratório da Universidade de São Paulo. Esses dados sugerem que no HSC não acarreta em prejuízo importante no desenvolvimento dos filhotes.

Os nossos resultados mostram que o HSC não apresenta diferença significativa em relação aos parâmetros de reprodução analisados na tabela. Apesar de ser descrito que em condições de hipotireoidismo subclínico gestação a prole pode nascer com baixo peso, esse dado não foi encontrado nesse estudo.

Os testes de comportamento realizados não mostraram diferença significativa na atividade locomotora e exploratória dos animais, ansiedade, formação de memória de curto e longo e na consolidação da memória social de curto prazo.

Ge et., (2012) estudaram os prejuízos na memória, exploração e aprendizagem em animais com hipotireoidismo subclínico e no teste de campo aberto assim como o nosso estudo, não mostrou diferença de exploração de quadrantes entre os grupos controle e hipotireoidismo subclínico porém, mostrou que os animais do grupo subclínico levantaram menos em comparação ao grupo controle afirmando que teve uma redução no comportamento exploratório.

Sait, (2004) foi o primeiro a estudar a ansiedade relacionada ao hipotireoidismo subclínico em humanos e mostrou que pessoas com hipotireoidismo subclínico apresentaram comportamento do tipo ansioso. No entanto, nosso estudo não encontrou comportamento ansioso nos ratos do grupo subclínico. Diversos estudos citam prejuízos na memória espacial em proles de mães com HC e HSC. No entanto, não encontramos prejuízos na memória declarativa e no reconhecimento social dos animais. No entanto, não avaliamos a memória viso-espacial dos animais. Assim, seria interessante submetermos os

animais ao labirinto aquático de Morris ou de Barnes que se propõem a avaliar memória viso-espacial.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir do nosso estudo podemos concluir que o hipotireoidismo subclínico gestacional não afeta o comportamento cognitivo e o desenvolvimento da prole aos 30 dias de idade. Porém, é importante avaliar o comportamento em outras idades, pois os prejuízos podem aparecer mais tardiamente.

7. REFERÊNCIAS

- AL EDAIN, E. Prevalence of Subclinical hyphotyroidism in adults visiting primary health-care setting Riyadh. **Journal of Community Hospital Internal Medicine Perspective**, v.8, issue 1, 2018.
- ANDRADE, L. Detecção do Hipotireoidismo Subclinico em gestantes com diferentes idades gestacionais. **Arq Bras Endocrinal Metab**, v. 49, n. 6, p. 923-929, 2005.
- BERNAL, J. Thyroid hormone regulated genes in cerebral cortex development. **Journal of Endocrinology**, v. 232, n. 2, p. R83–R97, 2016.
- BERNAL, J. Thyroid Hormones and Brain. **European Journal of Endocrinology**, n. 133, p.390-8, 1995.
- COJIC, M. Subclinical Hypothyroidism – Wheter and when to start tratament? **Maced J Med Sci**. V.5, n.7, p.1042-1046, 2017.
- FARWELL, A.P. Thyroid and antithyroid drugs. **Neuroscience**, 2006
- GUYTON, A. Fisiologia Humana e Mecanismos das Doenças. 6 ed. Mississipi: Editora Guanabara Koogan S.A, 2000.
- HASEGAWA, M. Developmental hypothyroidism disrupts visual signal detection performance in rats. Hokkaido University, v.212, p. 90-95, 2013.
- KOREVAAR, T. I. M. et al. Association of maternal thyroid function during early pregnancy with off spring IQ and brain morphology in childhood: a population-based prospective cohort study. **Articles Lancet Diabetes Endocrinol**, v. 4, n. 4, p. 35–43, 2016.
- Kuiper GG, Kester MH, Peeters RP, Visser TJ. Biochemical mechanisms of thyroid hormone deiodination. **Thyroid** ;15:787-98, 2005.
- LIU, D. et al. The effect of maternal subclinical hypothyroidism during pregnancy on brain development in rat offspring. **Thyroid**, v. 20, n. 8, p. 909–915, 2010.
- MACIEL, L. M. Z. Tireoide e Gravidez. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v.52, n.7, 2008.
- MORREALE DE ESCOBAR, G. et al. Role of thyroid hormone during early brain development. **European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies**, v. 151 Suppl, p. U25-37, 2004

NATHAN, N.; SULLIVAN, S. D. Thyroid disorders during pregnancy. **Endocrinol Metab Clin North Am**, v. 43, n. 2, p. 573-97, Jun 2014

NCBI. National Center for Biotechnology Information Disponível em:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/6469>. Acesso em: 2 de março de 2019.

OPAZO, M. C. et al. Maternal hypothyroxinemia impairs spatial learning and synaptic nature and function in the offspring. **Endocrinology**, v. 149, n. 10, p. 5097–5106, 2008.

POP, V. J. et al. Maternal hypothyroxinaemia during early pregnancy and subsequent child development: a 3-year follow-up study. **Clinical endocrinology**, v. 59, n. 3, p. 282-288, 2003.

SMITH, J.W et al. Thyroid hormones, brain function and cognition: a brief review. **Science and biohavior review**, v.1, p. 45-60, 2002.

WILLIAMS, G. R. Neurodevelopmental and neurophysiological actions of thyroid hormone. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 20, n. 6, p. 784–794, 2008.

Contatos: e-mail aluno e e-mail orientador