

## Estresse e ansiedade em ratos tratados com Propiltiouracil e Puran T4

### Stress and anxiety in rats treated with Propylthiouracil and Puran T4

Bruno Henrique Menegati Brito<sup>1</sup>, Juliano Caetano Albernaz<sup>2</sup>, Wataro Nelson Ogawa<sup>3</sup>

#### RESUMO

**Introdução:** Atualmente há relatos clínicos que sugerem uma relação entre distúrbios da tireóide e alterações psíquicas e comportamentais. No entanto, as evidências científicas tanto de ensaios clínicos quanto experimentais, em animais, associando a disfunção desta glândula com estresse e ansiedade são escassas na literatura. **Objetivo:** Correlacionar índices de estresse e de ansiedade em ratos tratados com Propiltiouracil (PTU) e Puran (T4). **Material e Método:** Ratos wistar, machos, foram tratados por gavagem de salina (n = 5), PTU (n = 5) e T4 (n = 5) no período de 19 dias. No 20º dia os animais foram filmados por cinco minutos no Labirinto em Cruz Elevado (LCE) o que possibilitou medições do tempo de permanência (Tp) nos braços fechado, centro e aberto. Sob anestesia, adrenais foram excisadas e ácido ascórbico da adrenal (AAA) mensurado por

espectrofotometria e as tireóides fotografadas. Para análise estatística usou-se ANOVA seguido de Tukey adotando-se nível de significância de 5%. **Resultados:** AAA dos grupos controle, PTU e Puran (em µg/100 mg) foram: 119 ± 19,1; 82,4 ± 25,4 e 124,7 ± 14,1, respectivamente, sendo significativo a depleção de AAA no grupo PTU comparado aos demais (p = 0,036) evidenciando estresse. Valores de Tp no braço aberto do LCE nos grupos controle, PTU e Puran, foram: 1,5 ± 3%; 21,7 ± 15,4% e 6,8 ± 7,2%, sendo significativa a exploração do espaço aberto no grupo PTU (p = 0,0007) evidenciando menor ansiedade. Tireóides foram volumosas no grupo PTU. **Conclusão:** No hipotireoidismo, em particular, há relação inversa entre índices de estresse e de ansiedade.

**Descritores:** Tireoide. Estresse. Ansiedade.

#### ABSTRACT

**Introduction:** Currently there are clinical reports suggesting a relationship between thyroid disorders and mental and behavioral changes. However, the scientific evidence of both clinical and experimental studies in animals, this gland dysfunction associated with stress and anxiety are scarce in the literature. **Objective:** To correlate stress indexes and anxiety in rats treated with propylthiouracil (PTU) and puran T4 (T4). **Methods:** Wistar male rats were treated by gavage with saline (n = 5), PTU (n = 5) and T4 (n = 5) over 19 days. On the 20th day the animals were videotaped for five minutes in the Elevated Plus Maze (EPM) which enabled measurements of the residence time (RT) in the closed center and open arms. Under anesthesia, adrenals were excised and adrenal ascorbic acid (AAA) measured by spectrophotometry and photographed thyroids. Statistical analysis using

ANOVA followed by Tukey adopting a significance level of 5%. **Results:** AAA control groups, PTU and T4 (in g/100 mg) were: 119 ± 19.1; 82.4 ± 25.4 and 124.7 ± 14.1, respectively, with significant depletion of AAA in the PTU group compared to the others (p = 0.036) indicating stress. Values of RT in the open arm of the EPM in the control groups, PTU and T4, were: 1.5 ± 3%; 21.7 ± 15.4% and 6.8 ± 7.2%, with significant exploration of open space in PTU (p = 0.0007) group showing lower anxiety. Thyroids were bulky in the PTU group. **Conclusion:** In hypothyroidism, in particular, there is an inverse relationship between stress indexes and anxiety.

**Descriptors:** Thyroid. Stress. Anxiety.

<sup>1</sup> Acadêmico do 8º período do curso de Medicina do Centro Universitário UnirG, Gurupi (TO), Brasil. E-mail: brunomenegati@hotmail.com

<sup>2</sup> Acadêmico do 8º período do curso de Medicina do Centro Universitário UnirG, Gurupi (TO), Brasil. E-mail: julianoalbernaz@gmail.com

<sup>3</sup> Bacharel em Ciências Biológicas, Modalidade Médica, FMRP-USP. Doutor em Ciências Biomédicas, FMRP-USP. Professor Titular II do Centro Universitário UnirG, Gurupi (TO), Brasil. E-mail: wspin7@gmail.com

#### ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

Bruno Henrique Menegati Brito. Av. Amazonas entre as ruas 10 e 19, nº1747, Centro, Gurupi-TO, CEP 77400-000 E-mail: brunomenegati@hotmail.com

## INTRODUÇÃO

Nas duas últimas décadas vem se acumulando dados que estabelecem associações entre desordens da tireóide e irregularidades reprodutivas, além da condição do hipotireoidismo afetar de modo significativo a função das glândulas adrenais.<sup>1-2</sup> As relações entre os três eixos fisiológicos principais, hipotálamo-hipófise-tireóide (HHT), hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) e hipotálamo-hipófise-gônadas (HHG), embora relativamente conhecidas em modelos animais, os efeitos específicos de hormônios tireoidianos e os mecanismos envolvidos nas respectivas interações, não estão ainda inteiramente esclarecidas, principalmente nos aspectos concernentes a estresse, depressão e transtornos de ansiedade.<sup>3</sup>

A maioria dos estudos direcionados para compreender os variados aspectos fisiopatológicos da regulação entre os eixos tratam-se de efeitos diretos do hipotireoidismo no eixo HHG, em variadas espécies de mamíferos fêmeas. Em alguns desses estudos, porém, foram constatadas secreções exacerbadas de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) no sangue periférico de ratos hipotireóides de ambos os gêneros.<sup>3</sup> Há evidências, embora dedutivas, de que a disfunção da adrenal, induzido pela condição de hipotireoidismo, seja um fator inibidor da secreção do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) hipotalâmico, mediado possivelmente por um excesso na taxa de secreção do hormônio liberador de corticotrofina (CRH), uma vez que, em animais hipotireóides, a liberação de CRH e de vasopressina (AVP) encontram-se elevados no sangue portal ao nível da eminência mediana, uma interface de comunicação sanguínea entre o hipotálamo e a hipófise.<sup>2</sup>

Persiste, portanto não só a hipótese de que o eixo HHA possua papel relevante na disfunção das gônadas de ratas hipotireóides, porém de uma variedade de aspectos e de lacunas ainda a serem desvendadas e/ou compreendidas, referentes, em particular, à interação entre as disfunções dos eixos da adrenal (HHA) e da tireóide (HHT). No plasma coletado de ratas hipotireóides, os níveis de corticosterona não acompanham o aumento de ACTH, ocorrendo, ao contrário, uma diminuição significativa deste hormônio, além de atrofia das adrenais.<sup>2</sup>

Relatos de interações entre tireóide e psiquismo são frequentes, e despertam a atenção de clínicos, psiquiatras e endocrinologistas. É antigo o interesse da

psiquiatria na concentração de hormônios tireoidianos (T4, tiroxina e T3, triiodotironina) no sangue de pacientes depressivos. Tanto a condição de hipotireoidismo quanto a de hipertireoidismo podem causar sintomas psiquiátricos, porém tais interações e os mecanismos subjacentes não são conhecidos. Em ratos, o hipotireoidismo evoluído pós tireoidectomia, afeta o sistema noradrenérgico, sendo aventada a hipótese de influência mútua entre a ocorrência de hipotireoidismo e alteração em funções neuropsíquicas associadas à neurotransmissão noradrenérgica, atreladas também à neurotransmissão serotoninérgica mediada por cortisol, uma vez que evidências apontam o hipocampo como local da interação entre estresse repetido, depressão e serotonina.<sup>4-6</sup>

Os relatos clínicos comumente denotam uma bidirecionalidade ou incerteza da relação causa-efeito entre doenças da tireóide e transtornos psiquiátricos. Há mais de 60 anos, a psiconeuroendocrinologia tem tomado conhecimento acerca de patologias de cunho endócrino e neurológico e, sabe-se que os hormônios tireoidianos (HT) são essenciais para o desenvolvimento normal do cérebro, sendo que a deficiência natural destes, durante a gestação, pode incitar atrasos no desenvolvimento neuropsicomotor da criança.<sup>7</sup>

Contudo, há indícios de associação entre transtornos de humor com alterações na concentração de HT e irregularidades no eixo HHT. Assim, a prevalência de sintomas depressivos na população de hipotireóides é de cerca de 50%, sendo de 28% nos hipertireóides.<sup>8</sup> A depressão parece tratar-se de uma desordem psiquiátrica que pode estar presente em diversos quadros clínicos e, que se caracteriza principalmente por sensações de tristeza, vazio e falência na capacidade geral de experimentar variadas atividades.<sup>9</sup>

Algumas pesquisas foram delineadas para averiguar a associação entre distúrbios psíquicos e de origem tireoidiana, porém nenhum resultado foi claramente conclusivo, pois se torna difícil explicar, afirmar ou concluir se a tireóide interfere no psiquismo ou se o psiquismo interfere na tireóide.<sup>10</sup> Indivíduos com depressão parecem apresentar um teor médio de T4 sanguíneo acima do considerado normal, porém este aumento pode ser transitório, por tratar-se de uma resposta de *feedback* negativo do eixo HHT à queda imediatamente anterior ao quadro depressivo e, portanto uma consequência de flutuações compensatórias casuais.<sup>11-12</sup>

O estresse, segundo o paradigma de Selye da Síndrome de Adaptação Geral, é uma resposta orgânica de mobilização de eventos fisiológicos para lidar e/ou combater ameaças à

integridade física ou psíquica na restauração da homeostasia do meio interno.<sup>13</sup> Os agentes estressores podem ser de origem física ou emocional, que ativam na região medular adrenal, a porção simpática do sistema nervoso autonômico com descargas adrenérgicas, além da liberação de glicocorticóides, cortisol, corticosterona e mineralocorticóides pelo córtex adrenal, estes desencadeados pela estimulação do eixo HHA.<sup>14-15</sup> Uma vez ativado o eixo HHA, postula-se que o cortisol liberado pela adrenal, possa atuar no hipotálamo estimulando a secreção do hormônio liberador da tireotrofina (TRH) e, portanto interferindo diretamente no eixo HHT.<sup>16</sup> Desse modo, a regulação dos hormônios HT aparenta não ser intrínseco, pois podem sofrer influências de outros mediadores, além do cortisol, como os esteróides sexuais, hormônio do crescimento (GH) e neurotransmissores monoaminérgicos (serotonina, norepinefrina e histamina).<sup>17</sup>

O transtorno de ansiedade, nesse contexto, pode surgir juntamente com o desequilíbrio endócrino de origem tireoidiana. Há relatos clínicos da presença de quadro depressivo, que evolui acompanhado de alto grau de ansiedade em pacientes hipertireoides, tendo como principais sintomas a fadiga e a insônia.<sup>10</sup> O conceito de ansiedade parece tratar-se de uma sensação tenebrosa, tensão de perigo associado a algo, eventos, objetos ou ambientes estranhos que se desconhece, caracterizada como antecipação emocional desta situação aversiva, de difícil controle, inevitável e/ou de provável ocorrência.<sup>15</sup> Em contrapartida, o medo pode ser interpretado como uma reação a uma situação perigosa real e bem definida, sendo por esta razão considerada uma entidade independente da ansiedade, não obstante ser difícil delimitar uma separação fulgente entre as duas sensações.<sup>18</sup> Com este enfoque, a sensação de ansiedade, assim definida, é uma seleção natural evolutiva benéfica até certo limite, pois impede a exposição imprudente do indivíduo frente aos constantes perigos, sejam estes de natureza física, social ou psicológica. No entanto, ressalta-se que, a ansiedade passa a ser reconhecida como um estado patológico, quando tais percepções não são reais ou exageradas e desproporcionais em relação à magnitude do estímulo.<sup>15,19</sup> Parece haver uma sobreposição parcial das manifestações clínicas do hipertireoidismo com a dos transtornos afetivos e de ansiedade, destacando-se queixas de nervosismo inespecífico, tremores, labilidade emocional, perda de peso e palpitações.<sup>20</sup>

Dentre os diversificados modelos experimentais desenvolvidos para o estudo de ansiedade em animais de laboratório, o aparato Labirinto em Cruz Elevado (LCE), tem sido

utilizado amplamente para se avaliar o perfil comportamental espontâneo manifestado por roedores.<sup>21-22</sup> O método de LCE permite mensurar variados aspectos relacionados à ansiedade. Há pouca menção na literatura com abordagem metodológica de LCE associado a estudos de interação mútua entre estados de ansiedade e patologias de origem tireoidiana.

O objetivo do presente trabalho foi mensurar o grau de estresse e de ansiedade em ratos eutireoides, hipotireoides e hipertireoides, buscando, nestas condições fisiopatológicas induzidas, compreender o sistema neuroendócrino estressor subjacente implicado no fenômeno de ansiedade correlacionando-o com os eixos HHA e HHT.

## MATERIAL E MÉTODO

O projeto foi desenvolvido no laboratório de Fisiologia e Biofísica, do Campus II do Centro Universitário UNIRG, em Gurupi-TO. Ratos wistar (*Rattus norvegicus*, 15 machos, 200-220 g) saudáveis fornecidos pelo biotério central do Centro Universitário UNIRG foram mantidos por pelo menos sete dias no novo ambiente, com finalidades de ambientação em condições controladas e higienizadas. Caixas de polipropileno com dimensões 41 x 34 x 16 cm, forradas com palha de arroz seca, acomodaram cinco indivíduos por caixa conservados sob temperatura constante 25-27 °C, foto período de 12/12 h para o ciclo hormonal circadiano, com período claro das 19 h às 7 h, alimentados com ração Nuvilab CR-1<sup>®</sup> e livre acesso à água. As distribuições dos ratos foram feitas de modo aleatório em: controle (cinco machos), PTU (cinco machos) e Puran (cinco machos). Protocolo aprovado pelo CEUA-UNIRG sob o número 004.

O propiltiouracil<sup>®</sup> (PTU) 100mg (BIOLAB) foi administrado por gavagem 0,8 mL/dia (2 mg/mL) diário por 19 dias, sendo o mesmo procedimento adotado com o Puran-T4<sup>®</sup> (levodoxina sódica-Sanofi aventis) na dosagem de 100 µg/mL e também para a salina no grupo controle. A ingestão hídrica e alimentar foi monitorada diariamente e o peso corporal semanalmente. No 20<sup>o</sup> dia, os animais foram colocados em caixas individuais e levados a uma sala separada do biotério, para ensaios de filmagem de cinco minutos no aparato LCE (procedimento descrito adiante). Em seguida, foram pesados (balança Toledo, modelo 9094 C/3) e anestesiados com tiopental 50 mg/Kg via intraperitoneal. Cada rato, uma vez ausentes os reflexos medular e pupilar, foi colocado em decúbito dorsal em prancheta de isopor e realizou-se a incisão na parede abdominal, tendo

como referência as cristas ilíacas ântero-superiores para localização do rim esquerdo e a respectiva glândula adrenal no pólo ântero-superior do órgão. Com pinça não serrilhada, o tecido adiposo peritoneal foi puxado e cortado abaixo entre a glândula e o rim. Após cervicotomia mediana, os músculos da região anterior-inferior do pescoço foram rebatidos, as tireóides expostas e fotografadas. Os ratos foram sacrificados por punção cardíaca e infusão de KCl concentrado. A adrenal foi depositada em uma placa de Petri sobre uma bolsa de gelo, em papel de filtro umidificado com salina NaCl 0,9%, dissecada com pinça de ponta fina e pesada em balança analítica (Bioprecisa modelo FA2104N). A adrenal foi macerada em recipiente de vidro com capacidade 15 mL, contendo 2mL de ácido metafosfórico 2,5%, sob gelo na temperatura de 4°C. A homogeneização foi completada com 8 mL de ácido metafosfórico 2,5%. A amostra foi filtrada com papel Wathman em Becker de 50 mL no interior da caixa de isopor contendo bolsa de gelo à temperatura de 4°C. Para as leituras no espectrofotômetro (Celm, E-225-D), foram misturados em tubos de ensaio 3,0 mL do filtrado da adrenal com 3,0 mL de solução corante/tampão e leituras de absorvância em comprimento de onda 520 nm, valor padronizado para estas condições.<sup>23</sup>

As concentrações de ácido ascórbico da adrenal (AAA) foram obtidas por interpolação na curva padrão de ácido ascórbico, conforme mostrado na Figura 1. Os padrões de ácido ascórbico foram preparadas a partir de misturas de volumes de solução de ácido metafosfórico 2,5% e volumes de solução de ácido ascórbico 1,0 mg/mL com concentrações finais dos padrões em µg/mL: 0; 2,0; 4,0; 6,0 e 8,0. A solução do corante foi preparada a partir de mistura de volumes iguais de solução tampão acetato de sódio/ácido acético 0,5 M e solução de 2,6-diclorofenol-indofenol. Para o "zero" do espectrofotômetro utilizou-se 6,0 mL de solução de ácido metafosfórico 2,5% e, para o "branco", uma mistura de 3,0 mL de ácido metafosfórico 2,5% com 3,0 mL da solução corante/tampão.

O índice de AAA foi calculado do produto do fator de diluição pela concentração de ácido ascórbico do filtrado da adrenal e dividido pelo peso da adrenal (em mg), sendo expresso em micrograma de ácido ascórbico/100 mg de adrenal. Os grupos foram representados como média ± desvio padrão e os dados individuais submetidos ao teste de normalidade e ao ANOVA como experimento inteiramente casualizado (ASSISTAT, 7.5 beta), seguido de Tukey para comparações múltiplas. Probabilidades menores que 0,05 foram consideradas significativas.

O Labirinto em Cruz Elevado (LCE) é composto de quatro braços, dois deles abertos e outros dois fechados, que se cruzam perpendicularmente em uma região central, considerada de conflito ou de tomada de decisão, ou seja, há a tendência de procurar abrigo e/ou proteção no labirinto fechado, ou então, de aventurar-se ao ambiente estranho e desconhecido no labirinto aberto. Além destas características, o aparato explora o medo natural demonstrado pelo roedor por alturas, sendo assim, os braços se posicionam a 50 cm do solo. O experimento é filmado durante 300 segundos e a sua reprodução na tela do computador permite registrar e analisar parâmetros comportamentais espontâneos relacionados à ansiedade, como a frequência de entradas nos labirintos e tempo de permanência nos mesmos. O período de permanência maior no braço aberto reflete efeito ansiolítico e, o inverso, ansiogênico.<sup>22</sup> O modelo metodológico do LCE é considerado uma abordagem excelente para mensurar o estado de ansiedade, pois além de não ser invasivo e condicionante, envolve fatores associados ao estado emocional na tomada de decisões, sendo vital para a sobrevivência sob a percepção do roedor.<sup>24-25</sup>

As sessões filmadas no LCE foram reproduzidas em tela de PC. Com o auxílio do programa PPlusMZ, desenvolvido especificamente para estudos comportamentais no departamento de Psicobiologia da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da USP-Ribeirão Preto, observadores diferentes (dois a três) fizeram a análise repetitiva (duas vezes) com o mesmo animal dos tempos de permanência mensurados nos braços, juntamente com as frequências de entrada nos labirintos. Os dados, em porcentagem, foram expressos como média ± desvio padrão e submetidos ao ANOVA de uma via, seguido de Tukey para comparações múltiplas e valores de probabilidade  $p < 0,05$  foram considerados significativos. Resultados das médias amostrais do peso corporal, peso da adrenal, ingestão hídrica e alimentar também foram analisados pelas mesmas técnicas estatísticas.

## RESULTADOS e DISCUSSÃO

Em pacientes hipotireóideos, a prevalência de episódios depressivos sugere ser maior do que o observado nos hipertireóideos. Há indícios também de deficiência de hormônios tireoidianos (HT) no cérebro de pacientes depressivos, sugerindo uma relação entre manutenção da "homeostase afetiva" e níveis de HT, além de relatos de interações entre os eixos neuroendócrinos reguladores de hormônios do

estresse e HT. Esse trabalho teve como enfoque um estudo experimental em modelo animal com o objetivo de correlacionar os níveis de estresse e de ansiedade em ratos tratados com PTU, indutor de hipotireoidismo e nos tratados com Puran-T4, indutor de hipertireoidismo. O ácido ascórbico é um dos compostos orgânicos envolvidos na produção de hormônios de estresse (glicocorticóides, mineralocorticóides e catecolaminas) do eixo HHA e, por estar armazenado nas células da região cortical da adrenal (AAA), pode ser utilizado como um biomarcador, sendo que a sua depleção é tida como um índice indireto associado ao grau de estresse do organismo. O tempo de permanência do animal no espaço aberto do LCE é um parâmetro comportamental fidedigno para se avaliar o índice de ansiedade. O mecanismo de ação primário do PTU é na redução da síntese dos hormônios tireoidianos T3 e T4 nas células foliculares da tireoide, além de uma ação adicional nos tecidos periféricos, inibindo a deiodinase tipo 1 que converte o T4 em T3.<sup>26</sup>

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk, cujo resultado mostrou seguir uma distribuição Gaussiana com

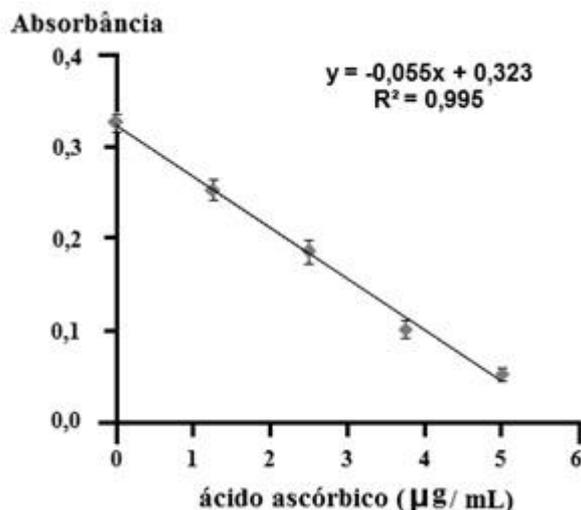
relativa homocedasticidade, o que permitiu aplicação do teste ANOVA para cada variável analisada. Os resultados de ingestão hídrica, alimentar, peso da adrenal, peso corporal e absorbância encontram-se na Tabela 1. Na ingestão alimentar não houve diferença significativa neste parâmetro entre os três grupos estudados. Quanto ao consumo hídrico, observa-se uma tendência maior no grupo Puran em relação ao controle, embora não significativo e, parece haver significância entre os grupos Puran e PTU ( $p = 0,052$ ), ou seja, uma maior ingestão hídrica no grupo Puran quando comparado ao valor observado no grupo PTU. Há diminuição percentual significativa ( $p = 0,002$ ) no peso corpóreo de animais tratados com Puran comparado ao valor de animais controle e um percentual de aumento menor nos tratados com PTU, porém não significativo ( $p = 0,11$ ) e há significância entre os grupos PTU e Puran ( $p = 0,01$ ). Quanto ao peso das adrenais mostrou-se aumentada no grupo Puran, porém não significativo e diminuída no PTU sendo significativo ( $p = 0,008$ ) em relação ao valor controle.

**Tabela 1:** Média  $\pm$  desvio padrão de: ingestão hídrica (IH), alimentar (IA), índice de aumento relativo do peso corpóreo (%), peso da adrenal e absorbância, em ratos tratados com salina, Propiltiouracil (PTU) e Puran

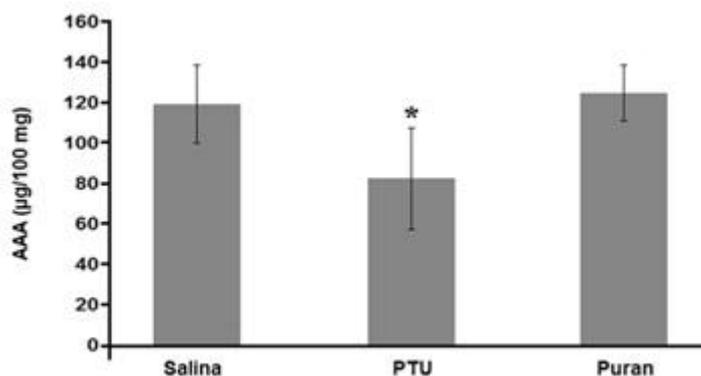
	Salina	PTU	Puran
<b>IH (mL)</b>	85,4 $\pm$ 14,8	69,9 $\pm$ 15,5	94,2 $\pm$ 29,9
<b>IA (g)</b>	20,9 $\pm$ 4,3	19,5 $\pm$ 5,3	21,0 $\pm$ 5,2
<b>Peso corporal (%)</b>	7,3 $\pm$ 2,7	4,4 $\pm$ 2,5	- 2,6 $\pm$ 4,2
<b>Peso Adrenal (mg)</b>	24,8 $\pm$ 7,5	19,2 $\pm$ 5,3	33,6 $\pm$ 4,8
<b>Absorbância</b>	0,104	0,163	0,050

As leituras de absorbância do filtrado das adrenais, foram feitas em espectrofotômetro ( $\lambda = 520 \text{ nm}$ ) e os valores de concentração de ácido ascórbico obtidas por interpolação na curva padrão de ácido ascórbico (Figura 1), tendo como resultado final os níveis de conteúdo de ácido ascórbico na adrenal (AAA, Figura 2). A magnitude de AAA no grupo Puran foi pouco elevado (124,7  $\pm$  14,1  $\mu\text{g}/100 \text{ mg}$  de adrenal) em relação ao controle (119,0  $\pm$  19,1  $\mu\text{g}/100 \text{ mg}$  de

adrenal), sendo não significativo ( $p = 0,441$ ), sugerindo mesmo nível de estresse. No grupo PTU, entretanto, houve diminuição significativa de AAA para 82,4  $\pm$  25,4  $\mu\text{g}/100 \text{ mg}$  de adrenal em relação ao grupo controle de valor 119,0  $\pm$  19,1  $\mu\text{g}/100 \text{ mg}$  de adrenal ( $p = 0,0357$ ), o que evidencia uma depleção de AAA no grupo tratado com PTU e sugere maior grau de estresse nestes animais.



**Figura 1:** Curva padrão de ácido ascórbico, com 99,5 % de ajuste dos pontos experimentais (média  $\pm$  desvio padrão de 6 ensaios). A inclinação da reta obtida por regressão linear e o valor do “branco” foram utilizados para determinar conteúdo de AAA

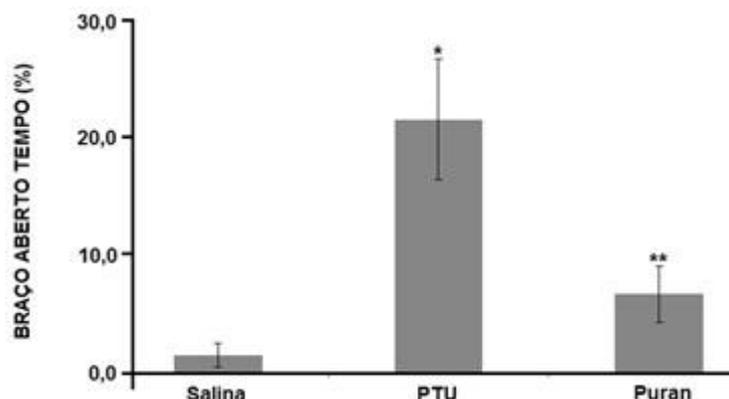


**Figura 2.** Valores médios e desvio padrão (barras) do conteúdo de ácido ascórbico da adrenal (AAA), padronizados para peso das adrenais, expressos em  $\mu\text{g}/100\text{ mg}$ , de ratos tratados com Salina, Propiltiouracil (PTU) e Puran-T4. \*Significativo,  $p = 0,0357$

Entre os grupos PTU e Puran, também foi detectado uma diferença significativa no conteúdo de AAA ( $p = 0,0091$ ). O AAA está envolvido na síntese de esteróides e é depletado nas adrenais, quando o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) endógeno produzido pela adenohipófise encontra-se em concentração aumentada no plasma, em resposta a estímulos estressores sob a regulação do hormônio liberador de corticotrofina (CRH) secretado a nível hipotalâmico.<sup>27</sup> Existe uma relação linear entre depleção de AAA/100 mg de adrenal e o logaritmo da concentração de ACTH, portanto infere-se que nos ratos do grupo PTU, o ACTH esteja aumentada a nível plasmático assim como os corticosteróides.<sup>28</sup>

No LCE, os parâmetros comportamentais mensurados foram a frequência de entradas e saídas dos braços abertos, além dos respectivos

tempos de permanência dos animais nos mesmos. O braço ou labirinto aberto constitui uma região de referência para se observar a emocionalidade dos ratos, devido ao fato de ser um ambiente novo e desconhecido, assim o comportamento espontâneo do animal de explorar os braços abertos é interpretado como um estado de menor ansiedade. Observa-se que o tempo médio de permanência no espaço aberto demonstrado pelos ratos tratados com Salina (Figura 3), de  $1,5 \pm 3\%$ , segundo Pellow et al<sup>21</sup>, considerado um índice de ansiedade basal, foi significativamente menor do que dos animais tratados com Puran ( $p = 0,0047$ ) e dos tratados com PTU ( $p = 0,0007$ ), evidenciando um menor índice de ansiedade nos tratados com PTU.



**Figura 3.** Valores de média  $\pm$  erro padrão da média dos tempos (em %) no labirinto aberto nos ensaios de LCE, em ratos tratados com Salina, PTU e Puran. \*Significativo,  $p = 0,0007$ ; \*\*Significativo,  $p = 0,0047$

O indivíduo sob uma determinada condição de estresse apresenta aumento sérico de cortisol (corticosterona nos ratos), que, no hipotálamo, irá dessensibilizar os receptores serotoninérgicos (5-HT), os quais estão intimamente associados à depressão e ansiedade.<sup>15</sup> Por outro lado, segundo Oliveira et al<sup>17</sup>, o hipotireoidismo está associado à diminuição da atividade da via 5-HT e, portanto, sob esse enfoque, os nossos resultados são contraditórios, pois os animais com maior índice de estresse (menor AAA no grupo PTU) teriam supostamente maior concentração de corticosterona e, aliado à condição de PTU, no entanto, mostraram um comportamento menos ansioso em relação aos demais, ou seja, os animais hipotireóides apresentaram um grau elevado de estresse comparado aos observados nos eutireóides e hipertireóides, porém com menor nível de ansiedade.

O conjunto destes resultados relacionando estresse e ansiedade e, em particular na condição de hipotireoidismo, mostra em primeira

instância uma relação complexa, além de uma associação negativa entre o eixo de estresse e vias neurais envolvidas no fenômeno comportamental de ansiedade, ou seja, entre o eixo neuroendócrino HHA e a ansiedade avaliada, respectivamente, por conteúdo de AAA e parâmetros do LCE, o que sugere vias neurais distintas correlacionadas negativamente para tais fenômenos. O desequilíbrio induzido por PTU alterando a homeostase dos hormônios tireoidianos no eixo HHT, pode promover distúrbios no eixo estressor HHA em alguma etapa dos mecanismos de secreção hormonal (CRH, ACTH e glicocorticóides) ou, então, no mecanismo de *feedback* negativo deste eixo, o que poderia afetar o nível de ansiedade diminuindo-o por algum mecanismo ainda desconhecido, com possível envolvimento da neurotransmissão serotoninérgica, dopaminérgica e noradrenérgica.

hypothyroidism and hyperthyroidism on the plasma adrenocorticotropin and corticosterone responses to ovine corticotropin-releasing hormone in rats. J endocrinol. 1991; 128: 2567-76.

2. Tohei A, Imai A, Watanabe G, Taya K. Influence of thiouracil-induced hypothyroidism on adrenal and gonadal functions in adult female rats. J vet med sci. 1998; 60(4): 439-46.

3. Tohei A, Akai M, Tomabechi T. Adrenal and gonadal function in hypothyroid adult male rats. J endocrinol. 1997; 152: 147-54.

4. Romaldini JH, Sgarbi JA, Farah CS. Disfunções mínimas da tireoide: hipotireoidismosubclínico e hipertireoidismosubclínico. Arq bras endocrinol metab. 2004; 48(1): 147-58.

## CONCLUSÃO

No hipotireoidismo, em particular, há relação inversa entre índices de estresse e de ansiedade.

## REFERÊNCIAS

1. Kamilaris TC, Debold RC, Johnson EO, Mamalaki E, Calogero AE, Kalogeras KT, Gold PW, Orth D. Effect of short and long duration

5. Deakin JFW, Graeff FG. 5-HT and mechanisms of defense. *J psychopharmacol.* 1991; 5: 305-15.
6. Chaouloff F. Physiopharmacological interactions between stress hormones and central serotonergic systems. *Brain res rev.* 1993; 18: 1-32.
7. Haddow JE, Palomaki GE, Allan WC. Maternal thyroid deficiency during pregnancy and subsequent neuropsychological development of the child. *N Engl j med.* 1999; 341: 549-55.
8. Boswell EB, Anfinson TH, Nemeroff CB. Depression associated with endocrine disorders. Retratation In: Robertson MM, Katona CLE. eds. *Depression and physical illness.* England: Wiley, Chichester; 1997. p. 256-92.
9. Lafer B, Almeida OP, Fráguas RJr, Miguel EC. Depressão no Ciclo da Vida. *Rev bras psiquiatr.* 2000; 22(3): 149-52.
10. Ballone GJ. Eixo Hipotálamo-Hipófise-Tireóide. Retratation In: *PsiquWeb Psiquiatria Geral.* 2003. [acesso 2004 jun 11]. Disponível em: <<http://www.virtualpsy.org/psicossomatica/tireoided.html>>
11. Bahls SC, Carvalho GAA. Relação entre a função tireoidiana e a depressão: uma revisão. *Rev bras psiquiatr.* 2004; 26(1): 41-9.
12. Bauer MS, Whybrow PC. Thyroid hormones and the central nervous system in affective illness: interactions that may have clinical significance. *Integr Psychiatry.* 1988; 6: 75-100.
13. Selye H. The general adaptation syndrome and the diseases of adaptation. *J clin endocrinol metab.* 1946; 6: 117-30.
14. Franci CR. Estresse: Processos adaptativos e não adaptativos. In: *Neuroendocrinologia básica e aplicada.* Antunes Rodrigues J, Moreira AC, Elias LLK, Castro M. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005. p. 210-23.
15. Graeff FG. Ansiedade, pânico e o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal. *Rev bras psiquiatr.* 2007; 29 (Suppl 1): 3-6.
16. Bruhn TO, Rondeel JMM, Bolduc TG, Luo LG, Jackson IMD. Induction of thyrotropin-releasing hormone gene expression in cultured fetal diencephalic neurons by differentiating agents. *Endocrinol.* 1996; 137: 572-9.
17. Oliveira MC, Pereira Filho AA, Schuch T, Mendonça WL. Sinais e sintomas sugestivos de depressão em adultos com hipotireoidismo primário. *Arq bras endocrinol metab.* 2000; 45(6): 570-75.
18. Ramos A, Berton O, Mormede P, Chaouloff F. Behavioural. A multiple-test study of anxiety-related behaviours in six inbred rat strains. *Brain res.* 1997; 85: 57-69.
19. Castillo ARGL, Recondo R, Asbahr FR, Manfro GC. Transtorno de ansiedade. *Rev bras psiquiatr.* 2000; 22: 20-3.
20. Del Porto JA, Lopes AC. Alterações da Tireoide. In: Fráguas JrR, Figueiró JAB. *Depressões em Medicina Interna e em outras condições médicas. Depressões Secundárias.* São Paulo: Atheneu; 2000.
21. Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M. Validation of open closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J neurosci methods.* 1985; 14: 149-67.
22. Pellow S, File SE. Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in elevated plus-maze: a novel test of anxiety in the rat. *Pharmacol Biochem Be.* 1986; 24: 525-29.
23. Mindlin RL, Butler AM. The Determination of ascorbic acid in plasma. A micromethod. *J biol chem.* 1938; 122: 673-86.
24. Rodgers RJ, Haller J, Holmes A, Halasz J, Walton TJ, Brain PF. Corticosterone response to the plus-maze: high correlation with risk assessment in rats and mice. *Physiol behav.* 1999 Dez; 68(1): 47-53.
25. Pestana MP. Avaliação comportamental e dos níveis séricos e metabolismo periférico dos hormônios tireoidianos em ratos submetidos ao estresse social seriado. [Dissertação]. Seropédica, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; 2010.
26. Cooper DS. Antithyroid drugs for the treatment of hyperthyroidism caused by Graves' disease. *Endocrinol metab clin north am.* 1998; 27: 225-47.
27. Cruz ITF, Barcellos Filho PCG, Barcellos MI, Ogawa WN. Estresse sonoro e suas implicações no eixo hipotálamo-hipófise-adrenal de ratos. *Rev Cereus.* 2009; 1(1): 1-12.
28. Sayers LA, Sayers G, Woodbury LA. The assay of ACTH by adrebal ascorbic acid depletion method. *J endocrinol.* 1948; 42: 379.