

CRISINA REVERTE COMPORTAMENTO ANSIOSO INDUZIDO PELO HIPOTIREOIDISMO EM CAMUNDONGOS FÊMEAS

Maria Eduarda Judaber Zuchetto ¹

Márcia Rósula Poetini ²

Stéfani Machado Araujo ³

Franciane Cabral Pinheiro ⁴

Marina Prigol ⁵

Vandrezza Cardoso Bortolotto ⁶

Resumo:

O hipotireoidismo é caracterizado pela disfunção da tireoide e seu tratamento geralmente é a suplementação destes hormônios, mas como esta doença possui vários efeitos colaterais é imprescindível à pesquisa de novos fármacos. Objetivou-se investigar o efeito protetor da crisina em comportamento tipo ansioso, em um modelo de hipotireoidismo induzido por metimazol em camundongos fêmeas. A indução de hipotireoidismo foi realizada através da administração de metimazol por 31 dias na água de beber. Após iniciou-se o tratamento com crisina por 28 dias, via oral. Ao final deste período os animais passaram por testes comportamentais de campo aberto e teste de labirinto em cruz elevado. Os resultados demonstraram que o hipotireoidismo causou um efeito tipo ansioso nos animais, e o tratamento com crisina foi capaz de proteger exercendo um papel ansiolítico no teste comportamental de labirinto em cruz elevado, no qual os animais com hipotireoidismo permaneceram um maior tempo nos braços fechados, e o tratamento com crisina foi capaz de reverter esse efeito, no qual o grupo hipotireoidismo + crisina permaneceu maior tempo do teste nos braços abertos. Estes resultados comprovam que a crisina exerce efeito ansiolítico em camundongos fêmeas com hipotireoidismo.

Palavras-chave: Flavonóide; Metimazol; Comportamento tipo ansioso.

Modalidade de Participação: Iniciação Científica

CRISINA REVERTE COMPORTAMENTO ANSIOSO INDUZIDO PELO HIPOTIREOIDISMO EM CAMUNDONGOS FÊMEAS

¹ Aluno de graduação. judaber_zuchetto@hotmail.com. Autor principal

² Aluno de pós-graduação. marciapoetini@gmail.com. Co-autor

³ Aluno de pós-graduação. araujofani@gmail.com. Co-autor

⁴ Aluno de pós-graduação. fcabralpinheiro@gmail.com. Co-autor

⁵ Docente. marinaprigol@unipampa.edu.br. Orientador

⁶ Aluno de pós-graduação. vandrezza.bortolotto@gmail.com. Co-orientador



CRISINA REVERTE COMPORTAMENTO ANSIOSO INDUZIDO PELO HIPOTIREOIDISMO EM CAMUNDONGOS FÊMEAS

1. INTRODUÇÃO

O hipotireoidismo é uma doença caracterizada pela disfunção da tireoide, que tem importante papel na regulação de hormônios T3 (triiodotironina) e T4 (tiroxina), o tratamento do hipotireoidismo geralmente é a suplementação destes hormônios, contudo, como esta disfunção endócrina não possui cura e provoca diversos efeitos colaterais, tais como distúrbios neurológicos, é imprescindível a pesquisa por novos fármacos (Oppenheimer et al., 1997).

Os distúrbios da disfunção tireoidiana promovem distúrbios psiquiátricos, incluindo ansiedade, porém os mecanismos pelos quais os hormônios da tireoide aumentam o risco de desenvolvimento de doenças psiquiátricas ainda não foram totalmente elucidados (Dias et al., 2014). A proporção mundial de pessoas com transtornos de ansiedade em 2015 foi estimada em 2,6% (264 milhões), sendo mais comum no sexo feminino (WHO, 2017) e com um aumento de 14,9% desde 2005 (GBD, 2015). No Brasil mais de 1,71 milhões de pessoas estão diagnosticadas com transtornos de ansiedade, valor referente a 2,95% da população brasileira de ambos os sexos e todas as idades, no ano de 2015 (GHDX, 2017).

A crisina (5,7-Dihydroxyflavone) é um flavonóide encontrado na *Passiflora coerulea* e apresenta vários efeitos terapêuticos já relatados, tais como atividade antioxidante (Ciftci, 2012), antidepressiva (Filho et al., 2015), ansiolítica (Wolfman, et al., 1994), entre outros.

Baseado no exposto acima o objetivo deste estudo foi investigar o efeito protetor da crisina em testes comportamentais de ansiedade, em um modelo de hipotireoidismo induzido por metimazol em camundongos fêmeas.

2. METODOLOGIA

2.1 Reagentes e soluções

A crisina e o metimazol (MTZ) foram comprados da Sigma–Aldrich (St. Louis, MO, USA). O MTZ foi dissolvido em solução salina (pH 7.4) e a crisina foi dissolvida em PEG (Polietilenoglicol 20%) e solução salina (pH 7.4, 80%). A dose utilizada em nosso estudo de MTZ foi baseada em Li et al. (2012) e a dose de crisina foi baseada em Filho et al. (2015).

2.2 Animais

Foram utilizados camundongos C57BL/6 adultos, com 3 a 4 meses de idade e do sexo feminino, provenientes da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Os animais foram mantidos em uma sala com temperatura entre 22-25 °C, com ciclo claro-escuro (12 horas por ciclo), comida e bebida *ad libitum* antes do tratamento. O tratamento e os testes comportamentais foram realizados durante das 08:00 às 16:00. Este estudo experimental foi realizado de acordo com a aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA) registrado pelo número 027/2016.

2.3 Protocolo experimental

Primeiramente os animais foram divididos em dois grupos: controle e metimazol: 0,1% de metimazol + 0,475% de sacarose. O hipotireoidismo foi induzido pela exposição contínua ao fármaco antitireoideo metimazol na água, durante 31 dias (Li et al., 2012). O grupo controle recebeu somente 0,475% de sucralose na água, durante 31 dias.

Para avaliar o efeito da crisina neste modelo, os animais destes dois grupos (eutireoideo e hipotireoideo) foram subdivididos em quatro grupos: eutireoideo, eutireoideo + crisina, hipotireoideo, hipotireoideo + crisina. Crisina foi administrada na dose de 20mg/kg, durante 28 dias consecutivos (Filho et al., 2015) (Figure 2).

No final do tratamento, foram realizado os testes comportamentais de campo aberto (Walsh e Cummins, 1976) e labirinto em cruz elevado (Pellow, 1985), conforme demonstrado abaixo na Figura 1.

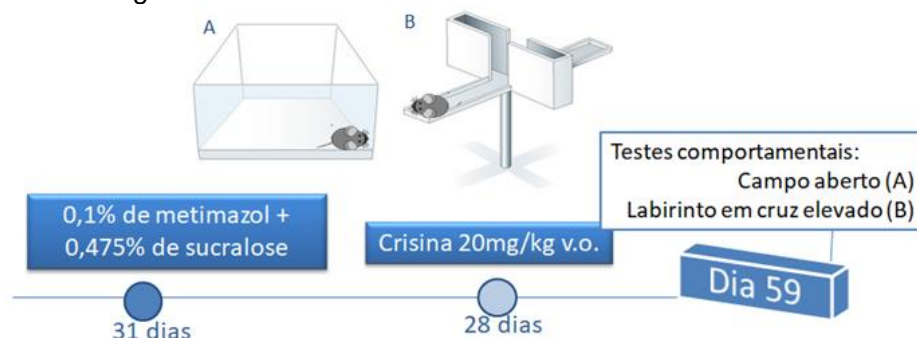


Figura 1: Protocolo experimental.

2.3.1 Campo aberto

O teste de campo aberto foi realizado com uma caixa de acrílico conectada ao computadores, com 45 cm². Os animais foram colocados no centro do equipamento, e foi constatada a atividade locomotora por 5 min, de acordo com o descrito por Walsh e Cummins (1976).

2.3.2 Labirinto em cruz elevado

Para realização deste teste, os animais eram colocados no centro do labirinto em cruz elevado, conectado a um computador (Pellow, 1985), no qual foi registrado o tempo nos braços fechados e nos braços abertos, durante 5 min.

2.4 Análise estatística

A análise estatística foi realizada através do programa GraphPad Prism, utilizando ANOVA de duas vias, seguido de post-hoc de Bonferroni, e valor de significância de $p < 0,05$.

3. RESULTADOS e DISCUSSÃO

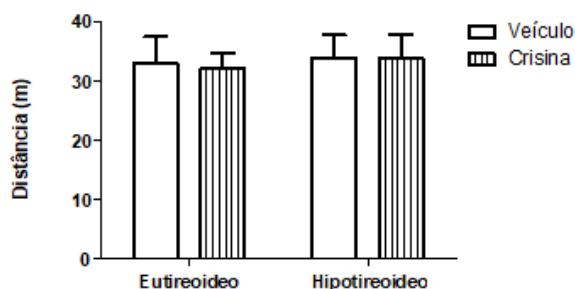


Figura 2: Efeito da crisina no tratamento do hipotireoidismo no teste de campo aberto.

Na figura 2 é demonstrado o teste de campo aberto, no qual não houve alteração na atividade locomotora em nenhum dos grupos testados.

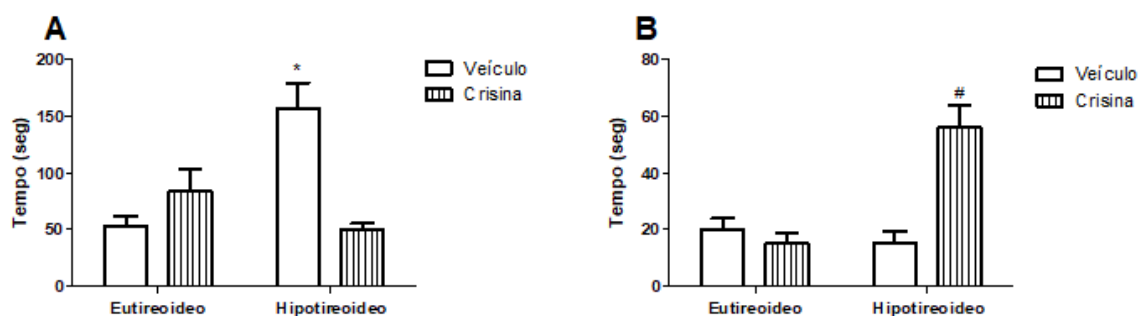


Figura 3: Efeito da crisina no tratamento do hipotireoidismo no teste labirinto em cruz elevado; (A) tempo nos braços fechados e (B) tempo nos braços abertos. Os valores são significativos quando $p < 0,05$. *Diferença significativa em relação ao grupo controle, crisina e hipotireoideo. #Diferença significativa em relação ao grupo controle, crisina e hipotireoideo.

Na figura 3 é possível observar o tempo nos braços fechados (A) em que obtivemos diferença significativa do grupo hipotireoidismo, no qual os animais demonstraram um aumento no tempo nos braços fechados em comparação com todos os grupos, e o tratamento com crisina foi capaz de reverter este efeito. No tempo nos braços abertos (B), o grupo hipotireoidismo tratado com crisina demonstrou um aumento no tempo dos braços abertos em comparação com todos os grupos, demonstrando mais uma vez a atividade ansiolítica da crisina.

O hipotireoidismo diminui a cognição e aumenta a ansiedade (Rivas e Naranjo, 2007), resultando em desordens psiquiátricas (Van Bostel et al., 2004). Nossos resultados demonstraram que o tratamento com crisina melhora o comportamento ansioso nos animais com hipotireoidismo no teste de labirinto em cruz elevado, onde os animais tratados com crisina ficaram um maior tempo nos braços abertos, diferente dos animais com hipotireoidismo, no qual tiveram uma tendência maior a ficar nos braços fechados, demonstrando um comportamento tipo ansioso. Os nossos resultados foram similares com os resultados encontrados por Buras et al. (2014), no qual os animais tratados ficaram maior tempo nos braços abertos, e o grupo hipotireoidismo ficou maior tempo nos braços fechados.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com este estudo foi possível observar, que os camundongos fêmeas com hipotireoidismo demonstraram um comportamento tipo ansioso no teste de labirinto em cruz elevado, e o tratamento com crisina foi capaz de reverter este comportamento mostrando uma atividade ansiolítica. Contudo, é necessário mais resultados a fim de demonstrar o mecanismo da crisina nas doenças psiquiátricas induzidas pelo hipotireoidismo.

5. REFERÊNCIAS

BURAS, A., BATTLE, L., LANDERS, E., NGUYEN, T., VASUDEVAN, N. Thyroid hormones regulate anxiety in the male mouse. *Hormones and Behavior* 65, 88–96, 2014.

CIFITCI, O.; OZDEMIR, I.; AYDIN, M.; BEYTUR, A. Beneficial effects of chrysin on the reproductive system of adult male rats. *Andrologia*. 44 (June (3), 181–186, 2012.

DIAS, G.R.M.; ALMEIDA, T.M.; SUDATI, J.H.; DOBRACHINSKI, F.; PAVIN, S.; SOARES, F.A.A.; NOGUEIRA, C.W.; BARBOSA, N.B.V. Diphenyl diselenide

supplementes diet reduces depressive-like behavior in hypothyroid female rats. *Physiology & Behavior*. 124,116-122, 2014.

FILHO, C.B.; JESSE, C.R.; DONATO, F.; GIACOMELI, R.; DEL FABBRO, L.; ANTUNES, M.S.; GOMES, M.G.; GOES, A.T.R.; BOEIRA, S.P.; PRIGOL, M.; SOUZA, L.C. Chronic unpredictable mild stress decreases BDNF and NGF levels and Na⁺,K⁺-ATPase activity in the hippocampus and prefrontal cortex of mice: Antidepressant effect of chrysin. *Neuroscience*. 289, 367–380, 2015.

GLOBAL BURDEN OF DISEASE (GBD). Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators, and others. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 310. Diseases and injuries, 1990–2015: a systematic analysis for the Study 2015. *The Lancet*, 388: 10053, 2015.

GLOBAL HEALTH DATA EXCHANGE (GHDX). Discover the World's Health Data - Institute for Health Metrics and Evaluation, 2301 Fifth Ave., Suite 600, Seattle, WA 98121, USA, University of Washington, 2017.

LI, J.; PAULSON, J.M.; YE, F.D.; SUNG, M.; HOLLENBERG, A.N.; RUTKOVE, S.B. Reducing systemic hypermetabolism by inducing hypothyroidism does not prolong survival in SOD1-G93A mouse. *Amyotrophic Lateral Sclerosis*. 13, 372-377, 2012.

OPPENHEIMER, J.H.; SCHWARTZ, H.L. Molecular basis of thyroid hormone-dependent brain development. *Endocrine Reviews*. 18, 462–475, 1997.

PELLOW, S., CHOPIN, S.E., FILE, S.E., BRILEY, M. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J. Neurosci. Methods*. 14, 140-167, 1985.

RIVAS, M., NARANJO, J.R. Thyroid hormones, learning and memory. *Genes Brain Behav*. 6(1), 40–44, 2007.

VAN BOXTEL, M.P., MENHEERE, P.P., BEKERS, O., HOGERVORST, E., JOLLES, J. Thyroid function, depressed mood, and cognitive performance in older individuals: the Maastricht aging study. *Psychoneuro endocrinology*. 29, 891–898, 2004.

WALSH, R.N., CUMMINS, R.A. The open-field test: a critical review. *Psychol Bull*. 415, 482–504, 1976.

WOLFMAN, C.; VIOLAH, P.A.; DAJAS, F.; MEDINA, J.H. Possible anxiolytic effects of chrysin, a central benzodiazepine receptor ligand isolated from *Passiflora coerulea*, *Pharmacol. Biochem. Behav*. 47, 1–4, 1994.