

**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA**

VANDREZA CARDOSO BORTOLOTTO

**CRISINA REVERTE O COMPORTAMENTO TIPO DEPRESSIVO E AS
ALTERAÇÕES MONOAMINÉRGICAS INDUZIDAS PELO HIPOTIREOIDISMO
EM CAMUNDONGOS FÊMEAS**

Uruguaiana, RS, Brasil

2017

VANDREZA CARDOSO BORTOLOTTO

**CRISINA REVERTE O COMPORTAMENTO TIPO DEPRESSIVO E AS
ALTERAÇÕES MONOAMINÉRGICAS INDUZIDAS PELO HIPOTIREOIDISMO
EM CAMUNDONGOS FÊMEAS**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Bioquímica da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do título de **Mestra em Bioquímica**.

Orientadora: **Prof^a. Dr^a. Marina Prigol**

Coorientador: **Prof. Dr. Cristiano Ricardo Jesse**

Uruguaiana, RS, Brasil

2017

Ficha catalográfica elaborada automaticamente com os dados fornecidos
pelo(a) autor(a) através do Módulo de Biblioteca do
Sistema GURI (Gestão Unificada de Recursos Institucionais) .

B739 Bortolotto, Vandreza Cardoso
CRISINA REVERTE O COMPORTAMENTO TIPO DEPRESSIVO E AS
ALTERAÇÕES MONOAMINÉRGICAS INDUZIDAS PELO HIPOTIREOIDISMO EM
CAMUNDONGOS FÊMEAS / Vandreza Cardoso Bortolotto.
80 p.
Dissertação (Mestrado)-- Universidade Federal do Pampa,
MESTRADO EM BIOQUÍMICA, 2017.
"Orientação: Marina Prigol".
1. Flavonoide. 2. Metimazol. 3. Serotonina. 4. Dopamina. 5.
Estado tipo depressivo. I. Título.

VANDREZA CARDOSO BORTOLOTTO

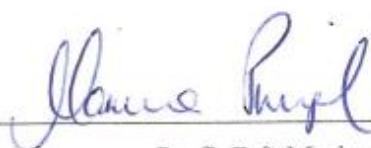
**CRISINA REVERTE O COMPORTAMENTO TIPO DEPRESSIVO E AS
ALTERAÇÕES MONOAMINÉRGICAS INDUZIDAS PELO HIPOTIREOIDISMO
EM CAMUNDONGOS FÊMEAS**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação Stricto Sensu em Bioquímica da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestra em Bioquímica**.

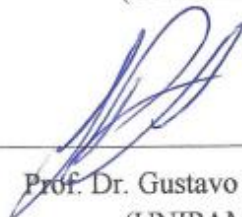
Área de concentração: Bioprospecção molecular

Dissertação defendida e aprovada em: 17 de julho de 2017.

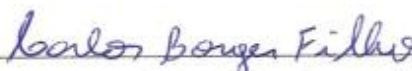
Banca examinadora:



Prof.^a. Dr.^a. Marina Prigol
Orientadora
(UNIPAMPA)



Prof. Dr. Gustavo Petri Guerra
(UNIPAMPA)



Prof. Dr. Carlos Borges Filho
(UNIPAMPA)

Dedico este trabalho a minha família,
principalmente os meus pais Vanderson e Denise,
pelo amor incondicional e pelo apoio
de vocês ao meu lado me incentivando sempre.
E a minha irmã por nos trazer um anjinho especial em nossas vidas,
o nosso bem maior, nossa pequena Briana.
Amo muito, todos vocês!!

Dedico este trabalho ao meu namorado amado Christian,
por entender os meus momentos de ausência e
nervosismo, sempre me apoiando, com amor, carinho,
amizade e muita paciência. Muito obrigada.

Te amo meu amor!!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, que permitiu que tudo isto fosse possível e que sempre está presente iluminando meu caminho.

À minha querida orientadora Prof^a Dr^a Marina Prigol, com seus ensinamentos e paciência incansáveis, por ser esta pessoa incrível, que além de orientadora se tornou amiga e exemplo a ser seguido. Muito obrigada!

Ao co-orientador Prof^o Dr^o Cristiano Ricardo Jesse, pelos ensinamentos em muitas etapas deste trabalho. Obrigada!

Ao LaftamBio Pampa, por me acolher tão bem em todos estes anos de estudo. Principalmente as Marinetes que além de amigas nos tornamos uma grande família, sempre sorrindo, e tornando tudo muito mais fácil, obrigada meninas: Franciane, Stéfani, Márcia, Mari, Bianca, Luana, Francielli e Shanda. Obrigada minhas gatas!

À minha família, meus pais Vanderson, Denise, minha irmã Valérie, minhas avós Terezinha e Ilza pelo apoio e amor absoluto de vocês, e as minhas afilhadas pela alegria e diversão Alyce e Briana. Obrigada família!

Ao meu namorado Christian por sempre me apoiar em todas as minhas decisões, ser meu companheiro em todos os momentos e ainda por incentivar e me amar todos esses anos, obrigada amor!

E agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram deste estudo. Ao PPG-Bioquímica e UNIPAMPA pela oportunidade na realização deste trabalho, e a CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

Muito Obrigada!

“Não se deve ir atrás de objetivos fáceis,
É preciso buscar o que só pode ser
Alcançado por meio dos maiores esforços”

Albert Einstein

RESUMO

A glândula tireoide é uma das maiores glândulas do corpo, responsável pela produção de triiodotironina (T3) e tiroxina (T4), hormônios responsáveis pela homeostase do organismo. A redução na produção destes hormônios leva a um quadro de hipotireoidismo. O hipotireoidismo é uma desordem endócrina, mais prevalente no sexo feminino, e que pode causar uma série de alterações comportamentais e neurológicas, dentre elas a depressão. O flavonoide crisina, presente no maracujá do mato, própolis e mel de abelha, vem sendo estudado a alguns anos, sendo relatados seus efeitos antioxidantes, anticancerígenos, antihiperlipidêmicos, ansiolíticos, e atualmente tem-se demonstrado sua atividade antidepressiva. O objetivo deste estudo foi investigar a ação terapêutica da crisina em modelo tipo depressivo induzido pelo hipotireoidismo em camundongos fêmeas C57BL/6 adultas. Primeiramente os animais foram divididos em dois grandes grupos (n=20): controle e hipotireoidismo. O hipotireoidismo foi induzido por exposição contínua ao fármaco antitireoideo metimazol (MTZ) 0,1% + 0,475% de sucralose, durante 31 dias na água. No 31º dia foi retirado sangue da veia caudal e determinado os níveis de T3 e T4. Após os animais foram separados em quatro grupos (n=10): controle, hipotireoidismo, crisina, hipotireoidismo + crisina. A crisina (20mg/kg) foi administrada diariamente por 28 dias, via oral. Ao final do tratamento, os animais passaram por testes comportamentais de campo aberto (TCA), nado forçado (TNF) e suspensão de cauda (TSC), após realizou-se eutanásia nos animais, e coletou-se o sangue por punção cardíaca para análise bioquímica de T3 e T4, e retirou-se as estruturas cerebrais hipocampo e córtex pré frontal, para análises neuroquímicas de serotonina (5-HT), dopamina (DA), norepinefrina (NA). Nossos resultados demonstraram que os animais com hipotireoidismo apresentaram um aumento no tempo de imobilidade nos testes de TNF e TSC e a crisina foi capaz de reverter este tempo em ambos os testes. Demonstrou-se também que a crisina foi capaz de restaurar os níveis de neurotransmissores: 5-HT em ambas estruturas cerebrais e DA no hipocampo dos animais com hipotireoidismo, corroborando com os resultados dos testes comportamentais, nos quais o TNF está relacionado com o sistema serotoninérgico e o TSC com o sistema dopaminérgico. Em conclusão, nossos resultados demonstram pela primeira vez que a crisina é capaz de reverter o estado tipo depressivo induzido pelo hipotireoidismo, possivelmente por normalizar os níveis de 5-HT e DA.

Palavras-chave: Flavonoide. Metimazol. Serotonina. Dopamina. Estado tipo depressivo.

ABSTRACT

The thyroid gland is one of the largest glands in the body, it produces triiodothyronine (T3) and thyroxine (T4), these hormones are responsible for body homeostasis. The reduction in the production of these hormones leads to hypothyroidism. The hypothyroidism is an endocrine disorder, more prevalent in females, which can cause a number of behavioral and neurological changes, including depression. The chrysin flavonoid present in the passion fruit of the bush, propolis and bee honey, has been studied for some years, being reported your antioxidant effect, anticancer, antihyperglycemic, anxiolytic, and currently your antidepressant activity was demonstrated. The objective of this study was to investigate the therapeutic action of chrysin in a model of like-depression induced by hypothyroidism in adult C57BL/6 female mice. First, the animals were divided into two groups (n=20): control and hypothyroidism. Hypothyroidism was induced by continuous exposure to the antithyroid drug methimazole (MTZ) 0.1% + 0.475% sucralose for 31 days on water. On the 31st day blood was drawn from the caudal vein and T3 and T4 levels were determined. After the animals were separated into four groups (n=10): control, hypothyroidism, chrysin, hypothyroidism + chrysin. The treatment of chrysin (20mg/kg) was administered daily for 28 days, orally. At the end of treatment the animals they passed for behavioral tests of open field test (OFT), forced swimming test (FST) and tail suspension test (TST), performed euthanasia in the animals, and collected the blood by cardiac puncture for biochemical analyze of T3 and T4, and the hippocampus and prefrontal cortex brain structures were removed for neurochemical analyzes of serotonin (5-HT), dopamine (DA), norepinephrine (NA). Our results demonstrated that animals with hypothyroidism showed an increase in the time of immobility in the tests of FST and TST and the chrysin was able to reverse this time in both tests. It was also demonstrated that the chrysin was able to restore the levels of neurotransmitters: 5-HT in both structures cerebral and DA in the hippocampus of animals with hypothyroidism, corroborating with the results of behavioral tests, in which FST is related to the serotonergic system and the TST with the dopaminergic system. In conclusion, our results demonstrate for the first time that chrysin is able of reversing the depressive-induced state induced by hypothyroidism, possibly by normalizing 5-HT and DA levels.

Keywords: Flavonoid. Methimazole. Serotonin. Dopamine. Depressive-like behavior.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Lista de figuras

| | |
|---|----|
| Figura 1 – Estrutura química da crisina..... | 17 |
| Figura 2 – Ilustração esquemática da anatomia da glândula tireoide..... | 18 |
| Figura 3 – Regulação da secreção dos hormônios da tireoide..... | 19 |
| Figura 4 – Biossíntese dos hormônios tireoidianos..... | 20 |
| Figura 5 – Atuação de tioureileno (MTZ e PTU) na glândula tireoide..... | 24 |
| Figura 6 – Prevalência da depressão nas regiões mundiais..... | 26 |
| Figura 7 – Teoria monoaminérgica da depressão..... | 28 |
| Figura 8 – Biossíntese dos flavonoides..... | 31 |
| Figura 9 –Estrutura química básica dos flavonoides..... | 32 |

Lista de Tabelas

| | |
|--|----|
| Tabela 1 – Sintomas mais frequentes do hipotireoidismo | 23 |
| Tabela 2 – Efeitos colaterais mais frequentes com o uso de antidepressivos | 27 |

LISTA DE ABREVIATURAS

- 5-HT – serotonina
- ATC - antidepressivos tricíclicos
- BDNF – fator neurotrófico derivado do cérebro (do inglês *Brain-derived neurotrophic factor*)
- ChAT – acetil colina transferase (do inglês *Choline-acetyl transferase*)
- CUMS – estresse crônico moderado e imprevisível (do inglês *Chronic unpredictable mild stress*)
- DA – dopamina
- ER – receptor de estrogênio (do inglês *Estrogen receptor*)
- FST - forced swimming test
- HT – hormônios tireoidianos
- IL-1 β – Interleucina-1 β
- iNOS – óxido nítrico sintase induzível (do inglês *Inducible nitric oxide synthase*)
- IMAO - monoamino-oxidase
- ISRS – inibidores seletivos da receptação de serotonina
- Kp – via da quinurenina (do inglês *Kinurenine pathway*)
- KYN – quinurenina
- MAPK – proteína quinase ativada por mitogênio (do inglês *Mitogen-activated protein kinase*)
- MMP – metaloproteinase de matriz (do inglês *Matrix metalloproteinase*)
- MS – septo medial (do inglês *Medial septum*)
- MTZ – metimazol ou 1-metil-2-mercaptoimidazol
- NA – norepinefrina
- NF- κ B – fator nuclear- κ B (do inglês *Nuclear fator- κ B*)
- NGF – fator de crescimento do nervo (do inglês *Nerve growth factor*)
- OB – bulbectomia olfatória (do inglês *Olfactory bulbectomy*)
- OFT – open field test
- PTU – propiltiouracil ou 6-propil-2-tiouracil
- SAK3 – espiroimidazopiridina
- SNC – sistema nervoso central
- T3 – triiodotironina
- T4 – tiroxina
- TNF – teste de nado forçado
- TNF- α – fator de necrose tumoral- α

TRAIL – ligante indutor de apoptose relacionado ao fator de necrose tumoral (do inglês *Tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand*)

TRH – hormônio liberador de tirotrófina (do inglês *Thyrotropin releasing hormone*)

TSC – teste de suspensão de cauda

TSH – hormônio estimulador da tireoide (do inglês *Thyroid stimulating hormone*)

TST - tail suspension test

UCS – estresse crônico e imprevisível (do inglês *Unpredictable and chronic stress*)

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO | 16 |
| 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 18 |
| 2.1 Glândula tireoide | 18 |
| 2.2 Disfunção da glândula tireoide | 20 |
| 2.2.1 Hipotireoidismo | 21 |
| 2.3 Drogas que interferem na glândula tireoide | 23 |
| 2.4 Hipotireoidismo e Distúrbios Neuropsiquiátricos | 24 |
| 2.5 Depressão..... | 25 |
| 2.5.1 Tratamentos e efeitos colaterais..... | 27 |
| 2.5.2 Depressão e Neurotransmissores..... | 27 |
| 2.6 Hipotireoidismo e Depressão | 29 |
| 2.7 Flavonoides..... | 30 |
| 2.7.1 Crisina..... | 32 |
| 2.8 Crisina e Depressão | 34 |
| 3 JUSTIFICATIVA..... | 36 |
| 4 OBJETIVOS | 37 |
| 4.1 Objetivo geral..... | 37 |
| 4.2 Objetivos específicos..... | 37 |
| 5 MANUSCRITO CIENTÍFICO | 38 |
| 6 CONCLUSÕES..... | 67 |
| 7 PERSPECTIVAS..... | 68 |
| 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 69 |
| 9 ANEXO..... | 80 |

APRESENTAÇÃO

No item **INTRODUÇÃO** está descrita uma breve revisão de literatura sobre os temas abordados nesta dissertação seguida pelo item **OBJETIVOS**.

Os resultados que fazem parte desta dissertação estão apresentados sob a forma de artigo científico, os quais são apresentados no item **MANUSCRITO CIENTÍFICO**. As seções: *Introdução, Materiais e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusão e Referências Bibliográficas*, encontra-se no próprio artigo e representa a íntegra deste estudo. O manuscrito está estruturado de acordo com as normas da revista científica “*European Journal of Pharmacology*” para a qual foi submetido.

Os itens **CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS** encontram-se no final desta dissertação e apresentam interpretações e comentários gerais sobre o artigo contido neste trabalho.

As **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS** referem-se somente às citações que aparecem nos itens introdução e revisão bibliográfica.

1 INTRODUÇÃO

Os hormônios tireoideanos (HT), triiodotironina (T3) e tiroxina (T4) são essenciais para o processo de desenvolvimento e de homeostase do organismo, quando há um desequilíbrio nos níveis destes hormônios, pode acarretar patologias como hipertireoidismo (aumento exacerbado nos níveis dos HT) e hipotireoidismo (diminuição na síntese dos HT).

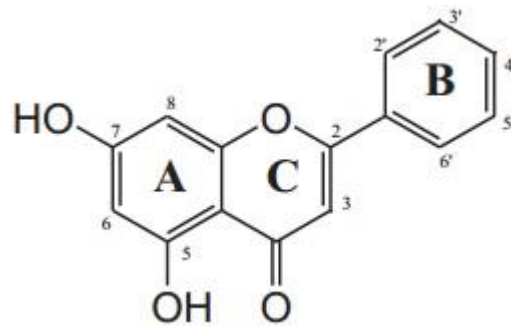
O hipotireoidismo é uma disfunção hormonal complexa e não somente uma disfunção endócrina simples (ONCU et al., 2004), manifestado em grande parte por uma lenta desaceleração reversível de todas as funções corporais (GREEN SPAN; DONG, 2004). Além do distúrbio metabólico geral, o comprometimento da produção dos HT pode ocasionar anormalidades intelectuais e comportamentais que podem afetar o funcionamento diário do paciente e resultar em doenças neurológicas como o estresse e a depressão (HAYAT et al., 2010).

A depressão é uma patologia que afeta mais de 300 milhões de indivíduos da população mundial (WHO, 2017), sendo esta uma das doenças neuropsiquiátricas mais prevalentes, bastante recorrente e incapacitante, com elevadas taxas de suicídio (HOLTZHEIMER; NUMEROFF, 2006; DUMAN, 2010), possuindo ainda dificuldade em aceitabilidade no tratamento, devido aos efeitos colaterais frequentes relatados pela população acometida por esta doença (AMITAI et al., 2016). Atualmente há uma crescente busca por medidas terapêuticas em torno de produtos naturais, por haver menor toxicidade e efeitos colaterais em comparação com medicamentos sintéticos.

A origem desta neuropatologia ainda não foi totalmente explicada, mas sabe-se que resulta de um desequilíbrio da atividade monoaminérgica cerebral (ELHWUEGI, 2004), principalmente os sistemas noradrenérgicos (WONG; LICINIO, 2001; TAYLOR et al., 2005), dopaminérgicos (D'AQUILA et al., 2000; DAILLY et al., 2004) e serotoninérgicos (KIM, 2008), estes neurotransmissores exercem efeitos de modulação e integração sobre atividades corticais e subcorticais, envolvidas na regulação de atividades psicomotoras, apetite, sono e humor (LAFER; VALLADA FILHO, 1999).

Baseado nisto, há diversos compostos naturais que estão sendo estudados para fins terapêuticos como os flavonoides, dentre este grande grupo está a Crisina (5,7-Dihidroxi-flavona – Fig. 1).

Figura 1 - Estrutura química da crisina.



Fonte: arquivo próprio (2017).

A Crisina foi extraída pela primeira vez por Pearce et al., (1984) do maracujá do mato (*Passiflora caerulea*), neste mesmo estudo foi identificado sua atividade antialérgica, e ficou conhecida principalmente por sua atividade antioxidante (PUSHPAVALLI et al., 2010; CIFTCI et al., 2012), pela inibição da enzima aromatase (KAO et al., 1998) na qual atua no processo de conversão da testosterona aumentando a massa muscular em praticantes de exercício físico, pela atividade anti-inflamatória (AHAD et al., 2014; FENG et al., 2014; XIAO et al., 2014), atualmente foi identificado o seu efeito antidepressivo em diferentes modelos de indução de estado tipo depressivo (FILHO et al., 2015; 2016a; 2016b).

Desta forma, este estudo teve como objetivo investigar o possível efeito neuroprotetor do flavonoide crisina sobre mudanças comportamentais e nos níveis de monoaminas causadas na depressão induzida pelo hipotireoidismo.

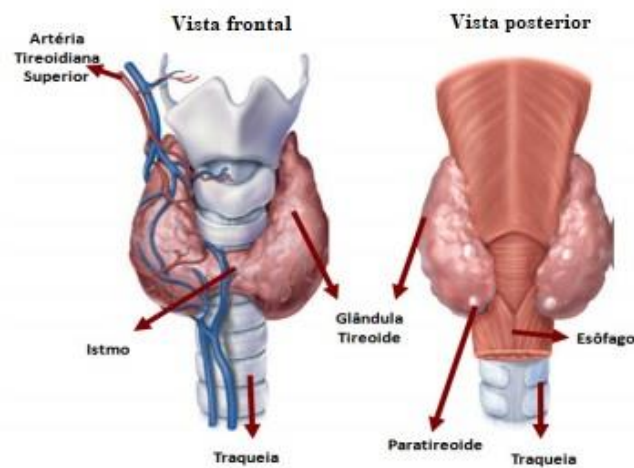
A hipótese estabelecida para a presente dissertação é que, com o crescente aumento de pessoas com hipotireoidismo, e as consequências causada por esta disfunção endócrina, como doenças neurológicas – neste caso a depressão - é essencial a busca por novos fármacos, principalmente de origem natural, com menores efeitos colaterais, para o tratamento destas patologias causadas pelo hipotireoidismo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Glândula Tireoide

A tireoide é uma das maiores glândulas do organismo, sendo esta responsável por diversos processos como manter a homeostase do corpo. A tireoide possui o formato de “borboleta”, situa-se aderida na parte anterior e lateral da laringe e da traqueia (Fig. 2), a glândula possui dois lobos, o esquerdo e direito unidos por um istmo de parênquima glandular.

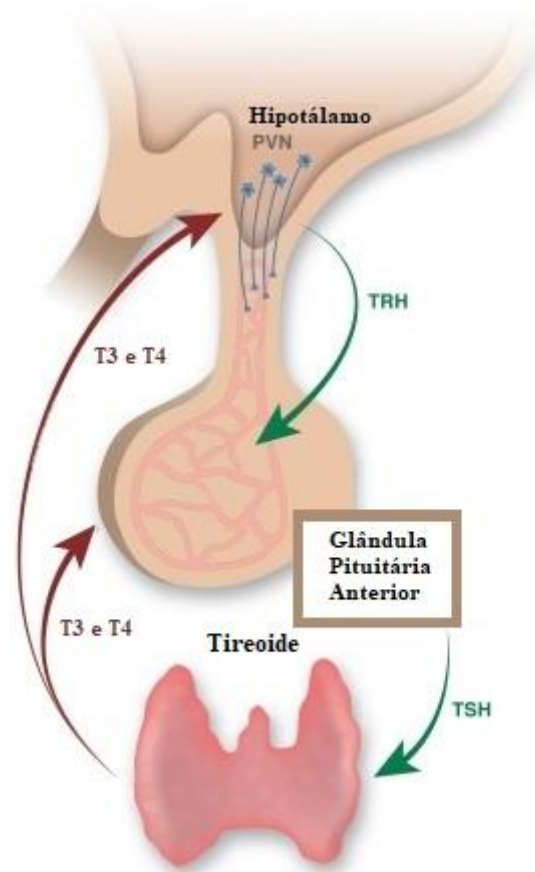
Figura 2 - Ilustração esquemática da anatomia da glândula tireoide.



Fonte: arquivo próprio (2017) adaptado de Saladin (2003).

A tireoide sintetiza os hormônios T3 e T4, através da sinalização do hormônio liberador de tirotrófina (TRH – do inglês *Thyrotropin releasing hormone*) pelo hipotálamo para a glândula pituiária anterior que irá sintetizar a produção do hormônio estimulador da tireoide (TSH – do inglês *Thyroid stimulating hormone*), este por sua vez, vai sinalizar à glândula tireoide para então produzir T3 e T4 (Fig. 3), esta síntese também pode acontecer por retroalimentação negativa dos hormônios tireóideos (BIANCO, 2002; CAMPBELL, 2008; STATHATOS, 2012).

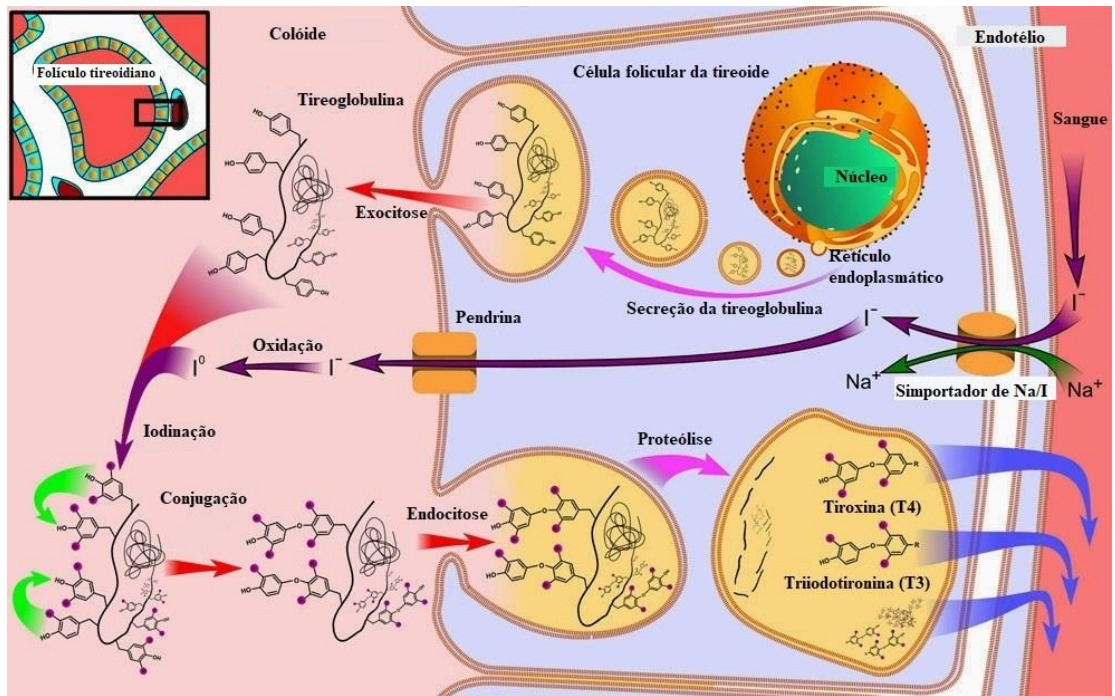
Figura 3 - Regulação da secreção dos hormônios da tireoide.



Fonte: arquivo próprio (2017) adaptado de Ortiga Carvalho (2016).

A biossíntese de T3 e T4 é feita a partir do iodeto proveniente da dieta, o iodo (I^-) que é concentrado na tireoide, passa a ser oxidado com resíduos de tireoglobulina (várias moléculas de tirosina) que são sintetizados pelo retículo endoplasmático. As tireoglobulinas passam para o colóide a partir de exocitose, o I^- passa para o colóide pela transportadora pendrina, e sofre oxidação e transforma-se em I^0 , a junção destes (tireoglobulina e I^0) chama-se iodinação, a iodinação pode ser com um ou dois resíduos de I^0 . Após, acontece a conjugação ou condensação, que é a ligação de duas moléculas tireoglobulina, estas podem ter três ou quatro I^0 (para formar T3 e T4, respectivamente). Após esta etapa, acontece a endocitose para dentro da célula folicular, posteriormente acontece a proteólise para produzir T3 e T4 livres, que serão liberados na circulação sanguínea (Fig. 4).

Figura 4 - Biossíntese dos hormônios tireoidianos.



Fonte: arquivo próprio (2017) adaptado de Boron (2003).

2.2 Disfunção da Glândula Tireoide

Os hormônios tireoidianos, são conhecidos como hormônios metabólicos do organismo, sendo o T4 mais abundante e precursor do T3 que é a forma hormonal funcionalmente mais ativa (STOICA et al., 2007). São importante no crescimento, desenvolvimento e homeostase do organismo (WHITE, 2010), e ainda possuem efeitos sistêmicos, e vias metabólicas, como regulação da temperatura, desenvolvimento, diferenciação e funcionamento de tecidos como o do sistema nervoso central (SNC) (NUNES, 2003). Quando há uma descompensação nestes hormônios, o indivíduo pode ser acometido por hipertireoidismo (aumento dos níveis de T3 e T4), ou hipotireoidismo (diminuição nos níveis de T3 e T4).

Em síntese, no hipertireoidismo a doença de Graves é a causa mais comum e ocorre quando há uma desordem autoimune, e o sistema de defesa do corpo ataca as próprias células: atacando a glândula tireoide, geralmente é uma doença genética. A glândula tireoide fica hiperativa, produzindo em excesso os hormônios T3 e T4, acelerando o metabolismo corporal, entrando em um estado metabólico aumentado, com muitos sistemas corporais desenvolvendo função anormal. Em casos mais graves envolve vários órgãos, como por exemplo o coração:

os batimentos cardíacos ficam acelerados e irregulares, podendo causar insuficiência cardíaca congestiva; e também envolvendo o sistema ósseo causando osteoporose (ATA, 2013).

2.2.1 Hipotireoidismo

O hipotireoidismo é uma condição na qual a glândula tireoide não produz a quantidade suficiente de hormônios responsáveis pela homeostase do corpo. Esta desordem é amplamente reconhecida por seus efeitos sobre os diferentes sistemas orgânicos, afetando vários aspectos, como a frequência cardíaca, a temperatura corporal, efeitos neurológicos, levando ao hipometabolismo. Há diversas causas para o desenvolvimento do hipotireoidismo dentre elas está a doença de Hashimoto (autoimune), remoção cirúrgica da tireoide, tratamento com radiação, hipotireoidismo congênito, tireoidite, quantidade de iodo, dano na glândula pituitária e via medicamentosa.

Na doença autoimune, conhecida por ser a doença de Hashimoto, as células do corpo atacam os próprios órgãos, atacando a glândula tireoide, inflamando e danificando as próprias células, interferindo na síntese dos hormônios T3 e T4. Esta desenvolve-se lentamente ao longo dos anos, podendo iniciar em qualquer fase da vida, mas a incidência aumenta com a idade, e também pode ocorrer na gestação, após o parto ou na menopausa (ATA, 2013).

A remoção cirúrgica de toda glândula tireoide ou quando o tecido da tireoide remanescente não funciona mais corretamente, resulta em hipotireoidismo. Esta remoção é feita quando há nódulos ou câncer na tireoide, e na doença de Graves (ATA, 2013).

Há doenças que são tratados com radiação, como a doença de Hodgkin, linfoma ou câncer de cabeça ou pescoço, e também o iodo radioativo é uma opção de tratamento na doença de Graves, bócio nodular e câncer na tireoide, estes tipos de radiação destroem permanentemente a tireoide, ocasionando o hipotireoidismo (ATA, 2013).

O hipotireoidismo congênito acontece quando os bebês nascem sem ou com a tireoide parcialmente formada, devido a tireoide ectópica, ou por medicamentos tomados pela mãe na gestação, a prevalência é de 1 em 4000 bebês (ATA, 2013).

Quando ocorre uma inflamação na tireoide é chamado de tireoidite, esta acontece geralmente por uma infecção viral ou um ataque autoimune (como doença de Hashimoto, tireoidite pós-parto ou tireoidite silenciosa). Se viral as pessoas podem retornar ao funcionamento normal da tireoide, porém se autoimune um quarto das pessoas ficam com

hipotireoidismo permanente. O hipotireoidismo nestes casos ocorre devido a tireoidite liberar todo estoque de hormônios armazenados ao mesmo tempo, ocorrendo um hipertireoidismo passageiro, após este período a tireoide se torne subativa (ATA, 2013).

O hipotireoidismo causado pela deficiência de iodo, ocorre pois para a síntese dos hormônios tireoidianos, é necessário ter iodo no sangue, este é provindo de alimentos, como frutos do mar, produtos lácteos, etc. A deficiência deste mineral é a causa mais comum do hipotireoidismo, mas o excesso, geralmente por suplementos dietéticos de algas marinhas, pode piorar ou causar o hipotireoidismo (ATA, 2013).

A glândula pituitária possui um papel essencial para a homeostase do organismo, se esta possui uma lesão, tumor, sofre radiação ou cirurgia, pode não ser mais capaz de sinalizar a tireoide para sintetizar os hormônios T3 e T4, causando hipotireoidismo (ATA, 2013).

Por fim, alguns medicamentos podem interferir na capacidade da glândula tireoide de sintetizar os hormônios, levando ao hipotireoidismo, como as tionamidas, e os inibidores iônicos que interferem na concentração de iodo pela tireoide

No hipotireoidismo a prevalência é maior no sexo feminino, e a incidência aumenta com o passar da idade (MORGANTI et al., 2005; CASTRO; GHARIB, 2008).

O hipotireoidismo é a alteração mais frequente da tireoide, sua prevalência em mulheres ocorre em torno de 10%, e aumenta no período da menopausa (ficando em torno de 12 a 15% nesta fase), em homens a prevalência, bem menos frequente, é em torno de 3%. Em 2008, a incidência variava de 0,3% a 4,6% da população geral, sendo cinco a oito vezes mais prevalente em mulheres que em homens (SOARES; CASTRO, 2008). Com o aparecimento do hipotireoidismo, o metabolismo fica desacelerado, produzindo uma quantidade inferior de hormônios tireoidianos ao necessário para o organismo, causando uma variedade de sintomas (Tabela 1):

Tabela 1: Sintomas mais frequentes do hipotireoidismo (ATA, 2013):

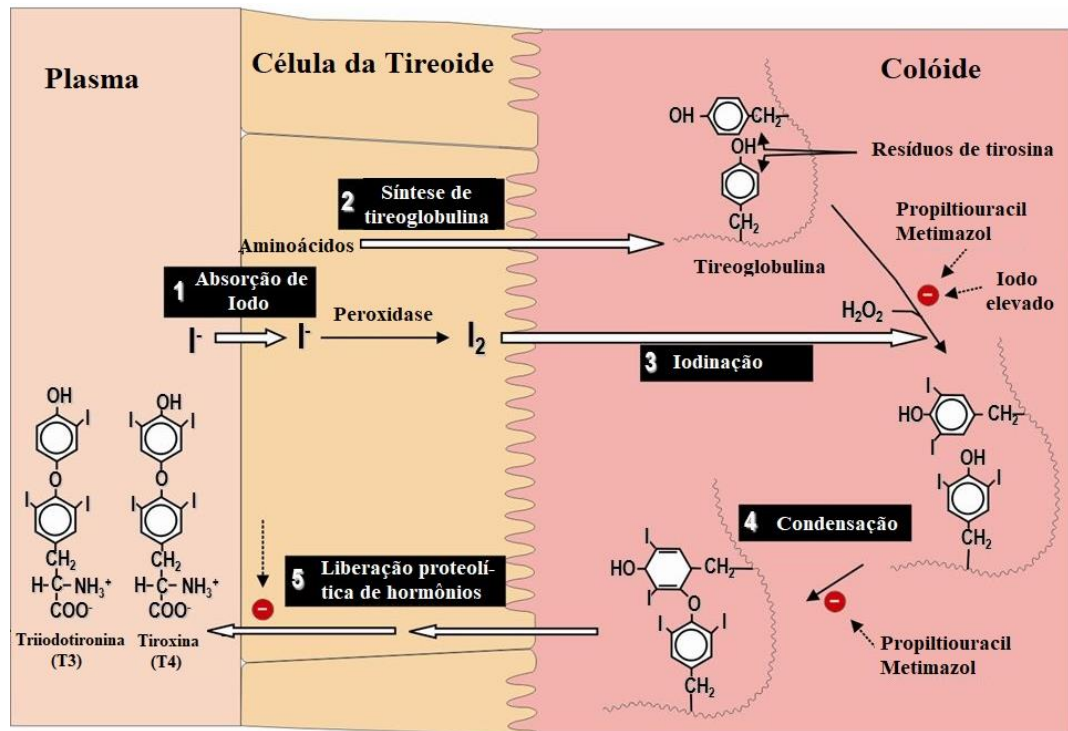
| | |
|--|-------------------------------------|
| Pele seca e ressecada | Baixa energia |
| Cabelo seco, quebradiço, e maior queda | Diminuição do suor |
| Constipação | Perda de apetite |
| Sensibilidade ao frio | Ganho de peso leve ± 5 kg |
| Cansaço excessivo | Dificuldade em perder peso |
| Síndrome do túnel do carpo | Dores musculares e nas articulações |
| Irritação | Parestesia |
| Desaceleração da frequência cardíaca | Acumulação de líquido corporal |
| Pressão sanguínea aumentada | Aumento dos níveis de colesterol |
| Esquecimento | Crescimento retardado em crianças |
| Depressão | Bócio |
| Ansiedade | Rouquidão vocal |

2.3 Drogas que interferem na glândula tireoide

Existem drogas que interferem a glândula tireoide em produzir T3 e T4, estas são ânions hidratados, monovalentes e com tamanho similar ao iodo, por exemplo o fluoborato (BF_4^-) e perclorato (ClO_4^-) são classificados como inibidores iônicos, sendo este último amplamente utilizado como “descarga” para iodo inorgânico no teste diagnóstico de organificação. Outros íons, como o lítio, inibem a liberação dos hormônios tireóideos, mas o mecanismo de ação ainda não está elucidado (LAZARUS, 1998).

Clinicamente, as drogas antitireóideas mais utilizadas são as tioureilenois, utilizadas no tratamento do hipertireoidismo: 6-propil-2tiouracil (propiltiouracil - PTU) e 1-metil-2-mercaptoimidazol (metimazol - MTZ), são utilizadas principalmente na doença de Graves, uma vez que, ambas interferem com a incorporação de iodo nos resíduos tirosil e também inibem a formação das iodotironinas, ou seja, inibem a síntese de hormônios tireoidinos por bloquearem a atividade da tireoperoxidase (TAUROG, 2000). Há evidências de que inibem a iodetação dos resíduos de tirosil na tireoglobulina, sendo assim, estes fármacos interrompem as reações de oxidação catalisadas pela tireoperoxidase por atuarem como substratos para o suposto complexo iodo-peroxidase, inibindo competitivamente a interação com a tirosina (RANG et al., 2012), ou seja a reação de acoplamento seja mais sensível a drogas tireóideas do que a reação de iodatação (TAUROG, 2000)(Fig. 5).

Figura 5 – Atuação de tioureilenos (MTZ e PTU) na glândula tireoide.



Fonte: arquivo próprio (2017) adaptado de Harvey et al. (2006)

Quando há a ação dos tioureilenos, eles podem agir em dois locais na glândula tireoide, ambos na síntese dos hormônios. Eles podem agir na condensação dos resíduos de tireoglobulina ligados aos I^0 , como demonstrado no item 4 (Fig. 5), ou inibem a enzima tireoperoxidase como demonstrado no item 3 (Fig. 5), inibindo a ligação de iodo aos resíduos de tirosina, sendo esta a maior ação dos tioureilenos, principalmente o MTZ.

2.4 Hipotireoidismo e Distúrbios Neuropsiquiátricos

Como a glândula tireoide é essencial para o funcionamento normal do organismo, já está evidenciado uma associação entre o hipotireoidismo e a distúrbios neuropsiquiátricos, principalmente depressão, ansiedade e deficiência da memória e dificuldade em aprendizagem (OSTERWEIL, et al., 1992; PLACIDI et al., 1998; DEMET et al., 2002; VAN BOXTEL et al., 2004; GUIMARÃES et al., 2009).

Esta associação também é demonstrada em tratamentos com animais de experimentação, por indução do hipotireoidismo, por exemplo: com drogas antitireoideas; tireoidectomia, indução de hipotireoidismo congênito, entre outras (WILCOXON et al.,

2007). Há mecanismos que tentam explicar a esta associação: alterações morfológicas nos neurônios do hipocampo nas regiões CA1 e CA3 (SALA-ROCA et al., 2008) e modulação de rotas apoptóticas (SINHÁ et al., 2009; ZHANG et al., 2009).

2.5 Depressão

Dentre os transtornos de humor, a depressão destaca-se por ser uma das doenças neuropsiquiátricas mais prevalentes, altamente recorrente e incapacitante, com altas taxas de suicídio, elevado uso de tratamentos com altos custos para sociedade e que ameaça a qualidade de vida do indivíduo (HOLTZHEIMER; NUMEROFF, 2006; DUMAN, 2010).

A depressão é uma doença mental caracterizada por (WHO, 2017):

- Tristeza;
- Perda de interesse ou prazer;
- Sentimentos de culpa;
- Auto-estima baixa;
- Sono perturbado;
- Apetite aumentado;
- Sentimentos de cansaço;
- Baixa concentração;
- Em casos mais graves, o suicídio.

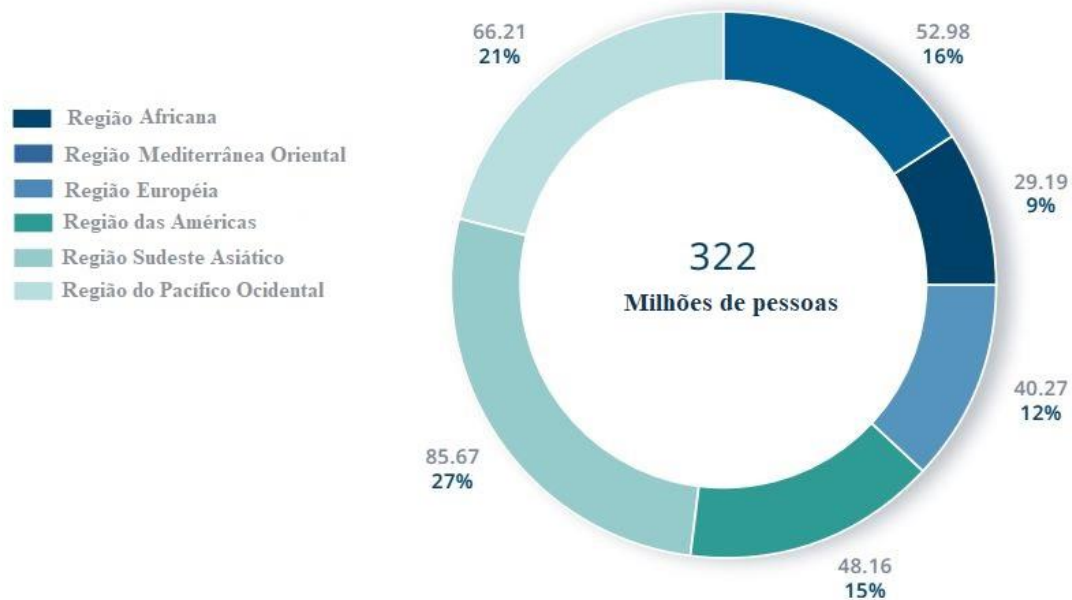
Os distúrbios depressivos podem ser longos ou recorrentes, prejudicando as pessoas acometidas com essa patologia de lidar com situações do cotidiano, como por exemplo: estudar e trabalhar (WHO, 2017).

Os transtornos depressivos incluem duas subcategorias principais (WHO, 2017):

- Transtorno depressivo maior ou episódio depressivo: envolve sintomas como o humor deprimido; perda de interesse e prazer; e diminuição da energia. Este pode ser categorizado como leve, moderado ou grave, dependendo do número e gravidade dos sintomas.
- Distímia, uma forma persistente ou crônica de depressão leve: os sintomas da distímia são semelhantes ao episódio depressivo, mas tendem a ser menos intensos e durar mais tempo.

O número total de pessoas que vivem com depressão no mundo é de 322 milhões. Cerca de metade dessas pessoas vivem na região Sudeste da Ásia e na região do Pacífico, refletindo as populações relativamente maiores dessas duas Regiões (que incluem a Índia e a China, por exemplo) como demonstrado na Fig. 6 (WHO, 2017).

Figura 6 - Prevalência da depressão nas regiões mundiais.



Fonte: arquivo próprio (2017) adaptado de WHO (2017).

O número estimado total de pessoas com depressão aumentou 18,4% entre 2005 e 2015 (GBD, 2016), isso reflete o crescimento da população global, bem como um aumento proporcional de idosos no qual a depressão é mais prevalente (WHO, 2017).

Estudos de imagens cerebrais em pacientes deprimidos mostram que ocorre atrofia e perda neuronal, indicando uma redução do volume do hipocampo comparado com indivíduos saudáveis, ainda mostram que o estresse na depressão pode causar atrofia e morte de neurônios nas áreas piramidais CA3 do hipocampo (SAPOLSKY, 1996).

Uma das principais dificuldades desta patologia é o tratamento, este alcança somente uma porção da população e está bastante relacionado a susceptibilidade efeitos colaterais (PEROVIĆ et al., 2010). Reforçando os estudos a fim de investigar novos agentes terapêuticos para o tratamento da depressão (CROOM et al., 2009).

2.5.1 Tratamentos e efeitos colaterais

Há várias classes de antidepressivos utilizados na indústria farmacêutica, estes são classificados em razão da sua estrutura química ou do seu mecanismo de ação: os ISRS, inibidores da monoamino-oxidase (IMAO), os antidepressivos tricíclicos (ATC), dentre outros (CORDIOLI, 2014).

Estes mesmos medicamentos, em sua maioria são utilizados também para tratamentos de outras neuropatologias, com transtornos do pânico, obsessivo-compulsivo, de ansiedade generalizada, de estresse pós-traumático, entre outros (CORDIOLI, 2014).

Tabela 2: Efeitos colaterais mais frequentes com o uso de antidepressivos (CORDIOLI, 2014):

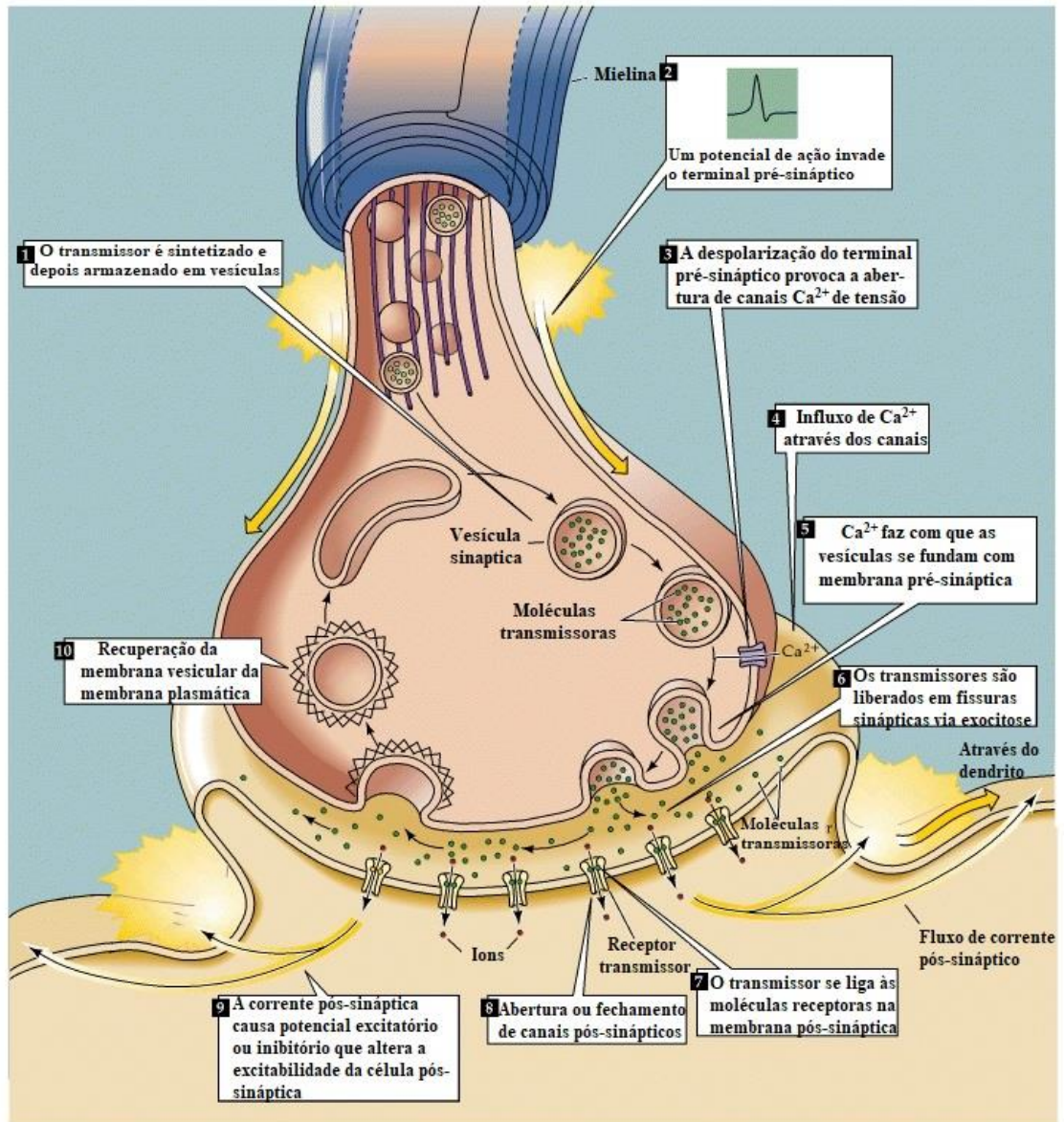
| | |
|------------------------|----------------------|
| Boca seca | Visão embaçada |
| Constipação intestinal | Retenção urinária |
| Taquicardia | Queda de pressão |
| Tonturas | Sudorese |
| Sedação | Ganho de peso |
| Tremores | Desconforto gástrico |
| Ansiedade | Cefaléia |
| Diminuição do apetite | Disfunção sexual |
| Inquietude | Nervosismo |
| Insônia | Tremores |

2.5.2 Depressão e Neurotransmissores

A etiologia deste distúrbio psiquiátrico ainda não foi totalmente esclarecida, apesar de saber que esta resulta de um desequilíbrio da atividade monoaminérgica cerebral (ELHWUEGI, 2004).

A teoria monoaminérgica na depressão surgiu em 1965, demonstrando que o maior processo neuroquímico deste distúrbio é a disfunção da neurotransmissão monoaminérgica junto com a diminuição da quantidade das monoaminas na fenda sináptica: norepinefrina (NA), dopamina (DA) e serotonina (5-HT) (SCHILDKRAUT, 1965) (Fig.7).

Figura 7 - Teoria monoaminérgica da depressão.



Fonte: arquivo próprio (2017) adaptado de Purves et al. (2001)

A teoria monoaminérgica da depressão pode ser explicada através da perturbação na síntese, armazenamento ou liberação, de monoaminas, mas estes podem estar inalterados, e as atividades dos receptores e/ou mensageiros intracelulares podem estar alteradas.

Os sistemas monoaminérgicos originam-se em pequenos núcleos no tronco cerebral e mesencefálico, projetando-se pelo cérebro, estes neurotransmissores exercem efeitos de modulação e integração sobre atividades corticais e subcorticais, envolvidas na regulação de atividades psicomotoras, apetite, sono e humor (LAFER; VALLADA FILHO, 1999).

- O sistema noradrenérgico na depressão têm sido relatado na literatura (WONG; LICINIO, 2001; TAYLOR et al., 2005), apesar desta monoamina estar mais relacionado com a fisiologia do estresse. Algumas evidências demonstram a participação de α -adrenoceptores e β -adrenoceptores na ação de fármacos antidepressivos (MILLAN, 2004).
- O sistema dopaminérgico também é um importante alvo implicado nas desordens envolvendo os transtornos de humor, devido ao fato de que a função dopaminérgica reduzida também está implicada na fisiopatologia da depressão (D'AQUILA et al., 2000; DAILLY et al., 2004). O efeito de antidepressivos sobre a transmissão dopaminérgica é um importante fator que contribui para a eficácia da terapia antidepressiva, uma vez que a hipofunção da via dopaminérgica mesolímbica pode estar relacionada com a anedonia. (SHANKMAN et al., 2010).
- O sistema serotoninérgico não participa só na neurobiologia da depressão, mas também em alterações comportamentais (KIM, 2008). Participando na maturação dos sistemas cerebrais envolvidos na regulação emocional no adulto, sendo que alterações serotoninérgicas numa fase precoce do desenvolvimento predisõem para o desenvolvimento de depressão (FROKJAER et al., 2009).

As principais argumentações sugerem que os níveis de NA, 5-HT e DA estão diminuídos no cérebro de pacientes deprimidos (SAPOLSKY, 2004), os fármacos para o tratamento da depressão sustentam esta hipótese, pois estes atuam na inibição da recaptação dos neurotransmissores monoaminérgicos, principalmente 5-HT, os chamados inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS), ou seja aumentam os níveis de monoaminas cerebrais. Ainda há fármacos que agem como inibidores da enzima monoamina oxidase, enzima que biotransforma as monoaminas (NEMEROFF, 2007).

Desta forma, a modulação dos três sistemas, principalmente serotoninérgico, dopaminérgico, tem demonstrado participação nos efeitos comportamentais em testes animais preditivos de agentes antidepressivos como, o teste de nado forçado (TNF) e o teste de suspensão de cauda (TSC) (CRYAN et al., 2005; O'LEARY et al., 2007).

2.6 Hipotireoidismo e Depressão

Já está relatado que a depressão possui comorbidades com outras patologias, por exemplo o hipotireoidismo (DIAS et al., 2014) e também doenças psiquiátricas e neurológicas

(GOTLIB; JOORMANN, 2010). Sendo que os pacientes deprimidos são mais propensos a desenvolverem outras doenças, como por exemplo cardiovasculares, osteoporose, diabetes mellitus tipo 2 e atrofia reversível do hipocampo (KORNHUBER et al., 2009; VAN DER FELTZ-CORNELIS et al., 2010).

Há estudos que tratam o hipotireoidismo com compostos, sejam eles sintéticos ou naturais, como por exemplo:

Noreen et al., (2017), relata que o hipotireoidismo aumenta o risco de doenças neuropsiquiátricas e comprometimento cognitivo. Então testou um derivado de espiroimidazopiridina (SAK3), sintetizado por seu grupo, como potenciador cognitivo em animais com hipotireoidismo, induzido por MTZ. O tratamento com MTZ sozinho interrompe a estrutura glomerular de bulbo olfatório, reduz o número de neurônios imunorreativos de acetil colina transferase (ChAT) no septo medial (MS) e resulta na cognição significativamente prejudicada. A administração de SAK3 (0,5 e 1 mg/kg, p.o.) restaura significativamente o número de neurônios de MS colinérgicos nos camundongos tratados com MTZ, e o tratamento com SAK3 a uma dose mais elevada melhora significativamente os déficits cognitivos observados em camundongos controle tratados com MTZ.

Sthon et al., (2016) constata uma relação entre a ação dos hormônios tireoidianos cerebrais e hiperatividade e ansiedade e comportamentos semelhantes a depressão em camundongos knockout da 3-deiodinase.

Dias et al., (2014), demonstra que o disseleneto de difenila é eficaz no tratamento da depressão induzida pelo hipotireoidismo em ratas fêmeas.

Portanto, é cada vez mais necessário demonstrar os efeitos de patologias que levam a alterações em todo organismo, como o hipotireoidismo, e possíveis compostos que aumentem o interesse pelo seu uso como possível adjuvante terapêutico no tratamento dessas doenças.

2.7 Flavonoides

Os flavonoides (ou bioflavonoides) são metabólitos secundários das plantas, encontrados em diversos alimentos, como frutas e hortaliças e também em algumas bebidas, possuem imensa atividades biológicas para a saúde humana, pois atuam através de

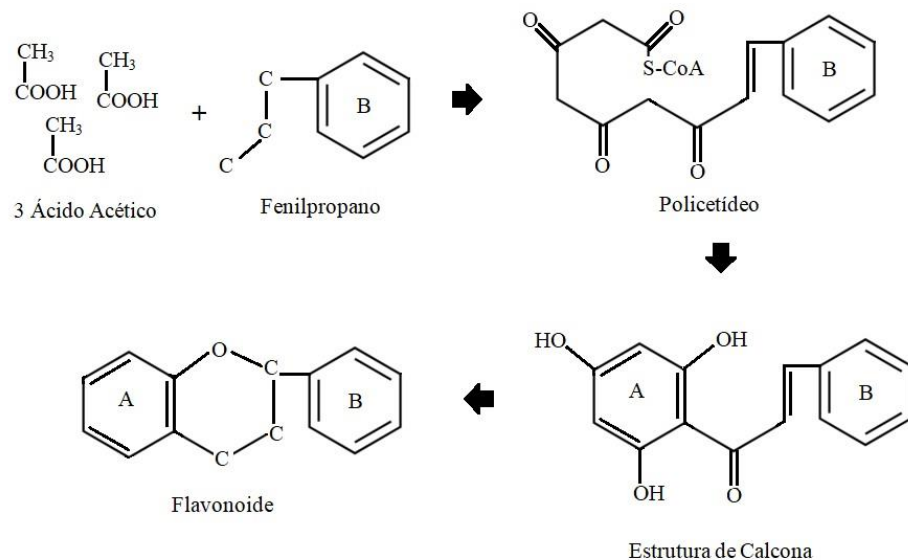
mecanismos fisiológicos e uma grande quantidade de caminhos de sinalização envolvidos em muitas doenças (NABAVI, 2015).

Os flavonoides podem ser encontrados em duas formas: ligados a açúcares (forma glicosilada) e livres (forma agliconada – como a maioria dos flavonoides). Estes possuem propriedades químicas e podem ser consideradas como: substâncias lipossolúveis e hidrossolúveis. A absorção da forma glicosilada, acontece após a hidrólise da molécula no trato digestivo, transformando-se na forma agliconada (livre), esta inclui reações de glucuronidação e sulfatação, que podem ser seguidas de efluxo, culminando na eliminação via sistema excretor e dióxido de carbono (mediada por bactérias do trato intestinal), ou absorção e distribuição para os tecidos via sistema circulatório (YAO et al., 2004).

Já é demonstrado que os flavonóides são capazes de modular a atividade de enzimas e afetam o comportamento de muitos sistemas celulares, sugerindo possuir atividade antihepatotóxica, antialérgicos, anti-inflamatório, antitetosoplóides e até mesmo antitumorais (DI CARLO et al., 1999).

A biossíntese dos flavonoides (Fig. 8) inicia-se através de duas vias: ácido chiquímico (sintetiza fenilpropano, derivado de ácido cinâmico) e acil polimeanato. O fenilpropano atua como ponto de partida para que com a adição de 3 moléculas de ácido acético, forme o policetídeo. Através de hidroxilações e reduções, há o encerramento do anel aromático, para que após formar Calcona, tenha-se a estrutura do flavonoide.

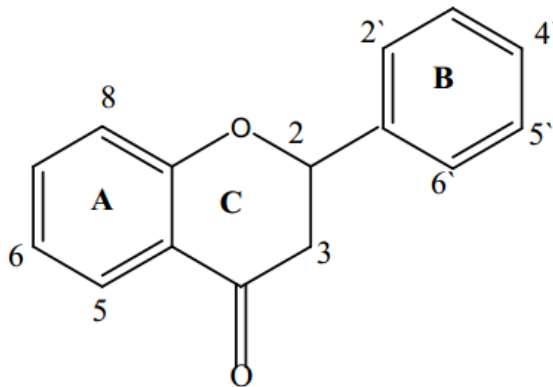
Figura 8 - Biossíntese dos flavonoides.



Fonte: arquivo próprio (2017) adaptado de Di Carlo et al. (1999).

Os flavonóides são subdivididos em classes, sendo as principais: flavonas, flavonóis, chalconas, auronas, flavanonas, flavanas, antocianidinas, leucoantocianidinas, proantocianidinas, isoflavonas e neoflavonóides (BRAVO, 1998), e sua estrutura básica consiste em um núcleo fundamental, constituído de quinze átomos de carbono arranjados em três anéis (C6-C3-C6), sendo dois anéis fenólicos substituídos (A e B) e um pirano (cadeia heterocíclica C) acoplado ao anel A (Fig. 9) (DI CARLO et al., 1999).

Figura 9 - Estrutura básica dos flavonoides.



Fonte: arquivo próprio (2017) adaptado de Dornas et al. (2007).

2.7.1 Crisina

Dentre os flavonoides encontrados, está a crisina (5,7-dihidroxi-2-fenil-4H-cromeno-4-ona), que é um derivado da flavona hidroxilada, e um flavonoide agliconado, encontrada principalmente no maracujá do mato (*Passiflora caerulea* L.), própolis, mel de abelha, e nas espécies de plantas como a *Passiflora incarnata* L. (ESCUREDO et al., 2012; WILLIAMS et al., 1997).

A crisina, pertence à classe das flavonas, compostos polifenólicos naturais comuns que são chamados de flavonoides, que possui 15 carbonos. A característica das flavonas como evidenciado na crisina é a presença de ligação dupla C2-C3 no anel C e a falta de oxigenação em C-3 nos anéis B e C (Fig. 1).

A crisina tem sido estudada a alguns anos, e a partir disto, há um grande número de trabalhos na literatura que demonstram suas propriedades farmacológicas:

- Atividade antialérgica (PEARCE et al., 1984);
- Atividade anticonvulsiva (MEDINA et al., 1990);

- Atividade ansiolítica (WOLFMAN et al., 1994);
- Atividade antiviral (CRITCHFIELD et al., 1996);
- Inibição da enzima aromatase (KAO et al., 1998);
- Atividade antiestrogênica (MACHALA et al., 2001);
- Efeito anti-hipertensivo (VILAR et al., 2002);
- Antagoniza a enzima aromatase (GAMBELUNGHE et al., 2003)
- Inibe a angiogênese tumoral (FU et al., 2007)
- Efeito inibitório na formação de fibrina sobre a proteína beta amiloide (AKAISHI et al., 2008);
- Protege contra a apoptose induzida por peróxido de hidrogênio e atenua a morte neuronal em *in vitro* (IZUTA et al., 2008; KANG et al., 2004);
- Atividade antioxidante (PUSHPAVALLI et al., 2010; CIFTCI et al., 2012)
- Atividade antiinflamatória através do bloqueio da liberação de histamina e expressão de citocinas pró inflamatórias (BAE et al., 2011);
- Atividade antiasmática através da supressão de óxido nítrico sintase induzível (iNOS) e fator nuclear- κ B (NF- κ B) (WADIBHASME et al., 2011);
- Atividade anticancerígena pela apoptose induzida relacionado ao fator de necrose tumoral-relacionado ao indutor de apoptose (TRAIL) e aumentando a degradação induzida por TRAIL das caspases 3 e 8 (LI et al., 2011);
- Atividade anti-inflamatória (BAE et al., 2011);
- Efeito antineoplásico (PICHICHERO et al., 2011);
- Inibição das histonas deacetilases (SUN et al., 2012);
- Inibição das DNA topoisomerasas (RUSSO et al., 2012);
- Prevenção da progressão metastática em células de câncer de mama (LIRDPRAPAMONGKOL et al., 2013);
- Inibição de fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e interleucina-1 β (IL-1 β) (BAI et al., 2013);
- Atividade anti-hipercolesterolêmica (ANANDHI et al., 2013);
- Atividade cardioprotetora através da melhoria da recuperação funcional pós-*isquêmica* (TESTAI et al., 2013);
- Prevenção da osteoporose por ativação do receptor de estrogênio (ER)/proteína quinase ativada por mitogênio (MAPK) (ZENG et al., 2013);

- Atividade anti-inflamatória (AHAD et al., 2014; FENG et al., 2014; XIAO et al., 2014)
- Efeito supressivo no fator de crescimento endotelial vascular (VEGF)-induzindo angiogenese (TIAN et al., 2014);
- Efeito anti-hiperlipidêmico (ZARZECKI et al., 2014);
- Efeitos protetores em lesões na medula espinhal (KANDHARE et al., 2014);
- Efeito antiaterogênico em modelo experimental de aterosclerose (ANANDHI et al., 2014);
- Atividade renoprotetiva pela indução de glicose para migração de células tubulares renais com atividade de metaloproteinase de matriz (MMP)-2 decrescente (KANG et al., 2015);
- Previne o declínio da memória relacionado à idade (SOUZA et al., 2015);
- Efeito antidepressivo (FILHO et al., 2015; 2016a; 2016b).

A crisina está no mercado farmacêutico como suplemento alimentar, primeiramente para fins de hipertrofia muscular, pela inibição da enzima aromatase, aumentando os níveis de testosterona (KAO et al., 1998). Com a sua popularidade e demais benefícios já descritos, principalmente atividade antioxidante (PUSHPAVALLI et al., 2010; CIFTCI et al., 2012) e ansiolítica (WOLFMAN et al., 1994), atualmente há diversas marcas e valores disponíveis no mercado de crisina encapsulada (500 mg/cápsula).

2.8 Crisina e Depressão

Os produtos naturais, originados de plantas, tem sido alvo de uma fonte importante de agentes terapêuticos, muitos dos quais constituem modelos para a síntese de um grande número de fármacos (CALIXTO, 2005). A partir disto, as plantas medicinais tornaram-se importantes objetos das indústrias farmacêuticas e centros de pesquisas na busca de novos fármacos com maior atividade farmacêutica/terapêutica e menor efeitos colaterais (EVANS, 1996).

Com a crisina não é diferente, após algum tempo de estudo, esta se tornou conhecida por seus benefícios já comprovados e citados na seção 2.7.1.

Recentemente estudos do nosso grupo de estudo demonstram que a crisina possui efeito antidepressivo em modelos de estresse crônico moderado e imprevisível (CUMS), estresse crônico e imprevisível (UCS) e bulbectomia olfatória (OB) (FILHO et al., 2015, 2016a, 2016b, respectivamente).

Filho et al. (2015) publicou o primeiro estudo mostrando a atividade antidepressiva da crisina, em testes comportamentais, atividade de enzimas antioxidantes, mas os principais resultados encontrados são que a crisina age modulando os níveis de neurotrofinas (Fator neurotrófico derivado do cérebro - BDNF e Fator de crescimento do nervo - NGF) e também a atividade da enzima Na⁺K⁺atpase em modelo de CUMS no hipocampo e córtex pré-frontal de camundongos fêmeas.

Filho et al. (2016a) também demonstra que há uma associação entre as citocinas pró-inflamatórias, a via da quinurenina, os níveis de 5-HT e a atividade das caspases, no efeito antidepressivo da crisina nos camundongos expostos ao UCS.

E o mais recente artigo de Filho et al. (2016b), com a indução do estado tipo depressivo por OB, obteve resultados que demonstram mais uma vez que a crisina possui atividade antidepressiva. A crisina é capaz de reverter o dano causado pelo OB: fator de necrose tumoral- α , interferon- γ , interleucina-1 β , interleucina-6, kinurenina (KYN) e atividade da indolamina-2,3-dioxigenase, 5-HT e do BDNF e ainda aumenta a relação KYN/triptofano e ácido 5-hidroxiindoleacético/5-HT no hipocampo dos camundongos.

A partir disto, podemos perceber que em diferentes induções do estado tipo depressivo em camundongos a crisina é capaz de demonstrar sua atividade antidepressiva em todos atuando por diversas vias. Sendo esta um importante alvo para o estudo dos produtos naturais no combate à depressão e outras doenças do sistema nervoso central.

3 JUSTIFICATIVA

O hipotireoidismo é uma patologia associada ao déficit da produção e regulação dos hormônios tireoidianos T3 e T4, sendo esta mais comum em mulheres na idade adulta, prejudicando a qualidade de vida das pessoas, principalmente pelos distúrbios neuropsiquiátricos relacionados com os hormônios tireoidianos e o funcionamento do sistema nervoso central. É essencial a procura de novos fármacos ou adjuvantes no tratamento das doenças neurológicas relacionadas com o hipotireoidismo, no caso deste estudo, a depressão, uma vez que os antidepressivos atuais possuem inúmeros efeitos colaterais e uma menor utilização pelos pacientes acometidos por esta patologia. Nesse sentido, a crisina é um flavonóide extraído da planta *Passiflora coerulea* e que possui alto potencial farmacêutico já relatado. No entanto, não há dados disponíveis na literatura acerca dos efeitos da crisina em modelos de hipotireoidismo. A partir do exposto, justificou-se a realização deste trabalho afim de investigar os possíveis benefícios oriundos da crisina, sobre as alterações comportamentais e níveis monoaminérgicos em modelo de depressão induzido pelo hipotireoidismo.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito da crisina sobre o comportamento tipo-depressivo e sobre as alterações monoaminérgicas induzido pelo hipotireoidismo.

4.2 Objetivos específicos

- Avaliar o efeito do tratamento com crisina sobre os níveis de T3 e T4 de animais com hipotireoidismo.
- Investigar o efeito do hipotireoidismo e do tratamento com crisina sobre o tempo de imobilidade nos parâmetros comportamentais de TSC e TNA.
- Determinar o conteúdo dos neurotransmissores (5-HT, DA, NA) no hipocampo e córtex pré-frontal dos animais com hipotireoidismo e tratados com crisina.

5 MANUSCRITO CIENTÍFICO

Os resultados que fazem parte desta dissertação estão apresentados sob a forma de artigo científico. Os itens *Materiais e Métodos*, *Resultados*, *Discussão* e *Referências Bibliográficas*, encontram-se no próprio artigo. O **artigo** está disposto na forma que foi submetido na revista “*European Journal of Pharmacology*”.

Artigo:

“Chrysin reverses depressive-like behavior induced by hypothyroidism in female mice through regulating hippocampal 5HT and dopamine levels”.

Elsevier Editorial System(tm) for European
Journal of Pharmacology
Manuscript Draft

Manuscript Number:

Title: Chrysin reverses depressive-like behavior induced by
hypothyroidism in female mice through regulating hippocampal 5HT and
dopamine levels

Article Type: Research Paper

Section/Category: Endocrine pharmacology

Keywords: Flavonoid; methimazole; serotonin; dopamine; depressive-like
behavior.

Corresponding Author: Dr. Marina Prigol,

Corresponding Author's Institution: Universidade Federal do Pampa

First Author: Vandrezza C Bortolotto, Master

Order of Authors: Vandrezza C Bortolotto, Master; Franciane C Pinheiro,
Miss; Stéfani M Araujo, Master; Márcia R Poetini, Master; Bianca S
Bertolazi, Miss; Mariane T Paula, Dr^a; Luana B Meichtry, Miss; Francielli
P Almeida, Miss; Shanda F Couto, Master; Cristiano R Jesse, Dr; Marina
Prigol

Abstract: Hypothyroidism has a close relationship with psychiatric disorders such as depression. In this study, we have evaluated the effect of chrysin on depressive-like behavior and monoamine levels in hypothyroid female mice. Hypothyroidism was induced by continuous exposure to methimazole (MTZ) 0.1% in the drinking water, during 31 days. Thyroid hormones (T3 and T4) levels were measured and MTZ exposure was associated with low T3 and T4 plasma levels, compared to the control group. Subsequently, euthyroid and MTZ-induced hypothyroid mice received, through i.g., either a vehicle or chrysin (20 mg/kg) once a day for 28 consecutive days. After treatments, behavioral assessments were performed: Open-Field Test (OFT), Tail suspension test (TST), Forced swimming test (FST). Additionally, the T3 and T4 levels were measured again, and serotonin (5HT), dopamine and noradrenaline levels were analyzed in the pre frontal cortex and the hippocampus of the mice. Chrysin treatment was not able to reverse T3 and T4 levels. Hypothyroid mice showed an increase on immobility time in TST and FST tests and the treatment with chrysin was able to reverse depression-like behaviors. Reduced levels of 5HT and dopamine on the prefrontal cortex and the hippocampus were found in the hypothyroid mice compared to the euthyroid mice. Chrysin treatment recovered 5HT content in both structures and dopamine content only in hippocampus. Noradrenaline content was not altered by treatments. Together, our results have demonstrated that chrysin treatment reverses depressive-like behavior in hypothyroid female mice and suggests the involvement of 5HT and dopamine levels.

Chrysin reverses depressive-like behavior induced by hypothyroidism in female mice through regulating hippocampal 5HT and dopamine levels

- Vandrezza Cardoso Bortolotto^a vandreza.bortolotto@gmail.com
- Franciane Cabral Pinheiro^a fcabralpinheiro@gmail.com
- Stífani Machado Araujo^a araujofani@gmail.com
- Márcia Rósula Poetini^a marciapoetini@gmail.com
- Bianca Santos Bertolazi^a bibertolazi@gmail.com
- Mariane Trindade de Paula^a mariane.paula09@gmail.com
- Luana Barreto Meichtry^a luanabm93@gmail.com
- Francielli Polet de Almeida^a fpolet.a@gmail.com
- Shanda de Freitas Couto^a shandacouto@gmail.com
- Cristiano Ricardo Jesse^a cristianoricardojesse@yahoo.com.br
- Marina Prigol^{a*} marinaprigol@gmail.com

^aLaboratório de Avaliações Farmacológicas e Toxicológicas aplicadas às Moléculas Bioativas – Unipampa, Universidade Federal do Pampa - Campus Itaqui, Itaqui, RS, 97650-000, Brazil.

*Corresponding author:

Marina Prigol

Universidade Federal do Pampa, Campus Itaqui

Rua Luiz Joaquim de Sá Britto, s/n - Bairro: Promorar, Itaqui, Rio Grande do Sul, Brasil, CEP 97650-000

Email: marinaprigol@gmail.com

Abstract

Hypothyroidism has a close relationship with psychiatric disorders such as depression. In this study, we have evaluated the effect of chrysin on depressive-like behavior and monoamine levels in hypothyroid female mice. Hypothyroidism was induced by continuous exposure to methimazole (MTZ) 0.1% in the drinking water, during 31 days. Thyroid hormones (T3 and T4) levels were measured and MTZ exposure was associated with low T3 and T4 plasma levels, compared to the control group. Subsequently, euthyroid and MTZ-induced hypothyroid mice received, through i.g., either a vehicle or chrysin (20 mg/kg) once a day for 28 consecutive days. After treatments, behavioral assessments were performed: Open-Field Test (OFT), Tail suspension test (TST), Forced swimming test (FST). Additionally, the T3 and T4 levels were measured again, and serotonin (5HT), dopamine and noradrenaline levels were analyzed in the pre frontal cortex and the hippocampus of the mice. Chrysin treatment was not able to reverse T3 and T4 levels. Hypothyroid mice showed an increase on immobility time in TST and FST tests and the treatment with chrysin was able to reverse depression-like behaviors. Reduced levels of 5HT and dopamine on the prefrontal cortex and the hippocampus were found in the hypothyroid mice compared to the euthyroid mice. Chrysin treatment recovered 5HT content in both structures and dopamine content only in hippocampus. Noradrenaline content was not altered by treatments. Together, our results have demonstrated that chrysin treatment reverses depressive-like behavior in hypothyroid female mice and suggests the involvement of 5HT and dopamine levels.

Keywords: flavonoid; methimazole; serotonin; dopamine; depressive-like behavior.

Introduction

Imbalances in thyroid hormones are associated with functional and structural brain alterations (Ge et al., 2016), clinical observations have shown that disturbances in thyroid function could result in the dysfunction of many organs, occasioning mainly neurobehavioral alterations (Zhang et al., 2016). It has been reported that hypothyroidism has a close relationship with psychiatric disorders such as depression (Colin and Vijay, 2013). Patients with hypothyroidism usually display various types of depression behavior such as cognitive dysfunction, apathy, dull/boring reactions, and low sociability (Zhang et al., 2016). Furthermore, studies have demonstrated important sex differences in relation to hypothyroidism and mood disorders. Indeed, hypothyroidism and depression are 10% most prevalent in women than men. (Tong et al., 2007; Morganti et al., 2005; Brunet et al., 2014; Habel et al., 2015; Hiles et al., 2015; Kessler, 2003).

Depression involves a reduction in the monoamine system, particularly in the neurotransmission of serotonin, dopamine and norepinephrine, or impaired activity of their receptors (Racagni and Popoli, 2010; Nemeroff, 2007). It is well described in the literature that the development of the monoaminergic system is delayed in hypothyroid rodents (Ahmed et al., 2008, 2010), it was suggested that thyroid hormones might regulate the expression of proteins involved in the modulation of neurotransmitter release (Vara et al., 2002). Additionally, several reports demonstrate a close association between depression-like behavior and decreased 5HT brain levels in hypothyroid rats (Ito et al., 1977; Jacoby et al., 1975; Bauer et al., 2002; Tousson et al., 2012).

Globally, more than 300 million people of all ages suffer from depression, equivalent to 4.4% of the world's population (WHO, 2017) and there is a difficulty in identifying an efficient treatment since antidepressants that are used are frequently associated with adverse reactions (Amitai et al., 2016). Thus, the search for drugs or phytochemicals with minimal side effects for the treatment of depression becomes increasingly relevant. Flavonoids isolated from plants have been reported in the literature because they have therapeutic effect on depression models (Antunes et al., 2016; Li et al., 2016; Su et al., 2016; Wang et al., 2016; Weng et al., 2016). Regarding therapeutic strategies on experimental depression, it has recently been demonstrated that the natural flavonoid chrysin (5,7-Dihydroxyflavone, Figure 1), exhibits potent anxiolytic (Wolfman, et al., 1994) and antidepressant-like effects in several experimental models, which are related to central serotonergic system and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) modulation (Filho et al., 2015, 2016a, 2016b).

In view of these considerations, our study aims to evaluate whether the treatment with chrysin reverses the depressive-like behavior in hypothyroid female mice and the possible involvement of monoamine levels in this condition.

2. Materials and Methods

2.1 Drug solutions and administration

Chrysin (Figure 1) and methimazole (MTZ) were purchased from Sigma–Aldrich (St. Louis, MO, USA). All other chemicals were obtained from analytical grade of our laboratory or from standard commercial suppliers.

MTZ was dissolved in saline solution (pH 7.4) and chrysin was dissolved in PEG (Polyetylenoglicol 20%) and saline solution (pH 7.4, 80%). The dose of MTZ used in our study was based on Li et al. (2012) and the dose chrysin was based on Filho et al. (2015).

2.2 Animals

Adult female C57BL/6 mice, with 3-4 months of age, assigned by the Federal University of Santa Maria were used. Animals were maintained in a room at a 22-25 °C of temperature, with the dark-light cycle (12 hours for cycle) and received food, and the water *ad libitum* before the treatment. All manipulations were carried out between 08.00 a.m. and 04.00 p.m. The present experimental study was approved by the Institutional Ethics Committee on Care and Use of Experimental Animal Resources from the Federal University of Pampa, Brazil and registered under the number of 027/2016. All efforts were made to minimize animals suffering and to reduce the number of animals used in the experiments.

2.3 Experimental protocol

2.3.1 Hypothyroidism induction

Firstly, the animals were divided into two groups: control and MTZ (Figure 2). The hypothyroidism condition was induced in female mice by continuous exposure to antithyroid drug MTZ 0.1% + 0.475% of sucralose in the drinking water, during 31 days (Li et al., 2012). Control group received 0.475% of sucralose in the drinking water. After treatments, total thyroid hormones (T3 and T4) levels were measured using blood from the tail vein of the animals. MTZ exposure was associated with low T3 and T4 plasma levels, compared to the control group.

2.3.2. Chrysin treatment

To evaluate the effect of chrysin on this model, the animals from the two previous groups (euthyroid and hypothyroid mice) were subdivided into four groups: euthyroid; euthyroid chrysin; hypothyroid; and hypothyroid chrysin. Chrysin was administered (20 mg/kg, i.g.) once a day for 28 consecutive days (Filho et al., 2015) (Figure 2). Subsequently, total thyroid hormones (T3 and T4) levels were measured again.

2.4 Thyroid hormone levels

Plasma levels of T4 and T3 were measured by microparticle enzyme immunoassay (MEIA) using AxSYM® system (Abbott Laboratories, Abbott Park, Illinois, USA), according to supplier's instructions. T3 was expressed in ng/ml and T4 in pg/ml.

2.5 Behavioral Assessment

At the end of chrysin treatment, behavioral assessments were performed in the following order: Open-Field Test (OFT), Tail Suspension Test (TST) and Forced Swimming Test (FST).

2.5.1 OFT

The OFT is done with of a plastic box, connected to a computer, with walls of 30 cm of height and a floor of 45 cm². The animals were placed at the center of the apparatus, and were observed for 5 min the locomotor activity, through the distance traveled in meters. To replace the animals, the apparatus was cleaned with alcohol 70%, to avoid possible errors of locomotion (Walsh and Cummins, 1976).

2.5.2 TST

TST was conducted as initially described by Steru et al. (1985). The animals were individually suspended by the tail from a horizontal ring stand bar raised 30 cm above the ground, using adhesive tape placed 1 cm from the tip of the tail and positioned such that the base of their tail was aligned with the horizontal plane, the duration of test was 6 minutes. It was recorded the total time to immobility of each animal in seconds. It was considered immobile the absence of all movements except for those required for respiration.

2.5.3 FST

This experiment was performed according to the procedure of Porsolt et al. (1977a). The apparatus utilized was a transparent cylindrical polypropylene tank (46 cm height x 35

cm diameter) containing 40 cm of water at $25\pm 1^\circ\text{C}$, without the possibility of escaping. The water of the tank was changed for each animal. The duration of immobility was recorded for 5 minutes, it was considered immobile the total time when the mice floating motionless or making only movements to keep their head above water.

2.6 Tissue preparation

After the behavioral tests, animals were anaesthetized, and blood samples were collected directly from the ventricle of their heart, using heparin as the anticoagulant, and plasma was separated by centrifugation ($2400\times g$) for 15 min. Blood was used for analyze of T3 and T4 levels. Prefrontal cortex and hippocampus were removed and homogenized in 50 mM Tris-HCl, pH 7.4 (1:5, w:v). The homogenates was centrifuged at $2400\times g$, at 4°C , for 15 min and a low-speed supernatant fraction (S1) was used to measure the neurotransmitters serotonin (5HT), dopamine and noradrenaline levels.

2.7 Monoamine levels

5HT, dopamine and noradrenaline levels in the brain regions (prefrontal cortex and hippocampus) were measured by reverse-phase high-performance liquid chromatography with electrochemical detection as previously described (Han et al., 2015).

Monoamines were isolated on a reverse-phase column (MD 150; ESA, Inc.), and quantified using a coulometric detector (Coulochem III; ESA, Inc.) comprising a guard cell (electrode: +300 mV; 5020 guard cell; ESA, Inc.) and a dual channel analytical cell (first electrode: -150 mV, second electrode: +220 mV; 5011A High Sensitivity Analytical Cell; ESA, Inc.). The signals emitted by the second analytical electrode were recorded and analyzed by EZChrom SI version 3.2 (Agilent Technologies, Palo Alto, Calif, USA)(Han et al., 2015), the concentrations of 5HT, dopamine and noradrenaline were measured and expressed for ng/g of tissue.

2.8 Statistical analysis

The data was analyzed using Prism 5 (GraphPad) software. Comparisons between the experimental and control groups were performed by one-way analysis of variance (ANOVA), followed by Newman Keuls post hoc test or two-way ANOVA (hypothyroidism \times chrysin) followed by Bonferroni post hoc test, when appropriate. The main effects were presented only when the second order interaction was not significant. Pearson's correlation coefficient was used for the estimation of correlation between parameters analyzed. Descriptive statistics data

was expressed as the mean(s) \pm S.E.M. Probability values less than 0.05 ($P < 0.05$) were considered statically significant.

3 Results

3.1 Thyroid hormone levels

One-way ANOVA followed by Post Hoc comparisons demonstrated that MTZ exposure was associated with low T3 and T4 plasma levels compared to the control group (Figure 3A). Statistical analysis also revealed that there was a significant main effect of MTZ on T3 ($F(1, 12) = 3174, P < 0.0001$), and T4 ($F(1, 12) = 15574.04, P < 0.0001$) levels.

The effect of chrysin on T3 and T4 levels in serum of mice at the end of the treatment, are shown in figure 3B and 3C, respectively. Two-way ANOVA followed by Post Hoc comparisons showed a decrease on T3 and T4 levels in hypothyroidism mice compared to euthyroid mice. Treatment with chrysin was not able to reverse these levels. Statistical analysis also demonstrated a significant main effect of hypothyroidism on T3 ($F(1,12) = 23.99, P = 0.0004$) and T4 ($F(1,12) = 21.62, P = 0.0006$).

3.2 Behavioural tests

3.2.1 OFT

Two-way ANOVA followed by Post Hoc comparisons revealed that there was no significant difference among the groups in the locomotor and exploratory activities (Figure 4). No significant main effect of chrysin, hypothyroidism, and hypothyroidism \times chrysin interaction was found in these parameters ($F(1, 49) = 0.01, P = 0.9186$).

3.2.2 TST and FST

Figure 5A shows the immobility time of groups during the TST. The data reveals that the hypothyroidism caused a significant increase on the immobility time of the animals when compared to euthyroid mice, chrysin was able to reverse this effect compared to euthyroid mice group. Two-way ANOVA followed by Post Hoc comparisons of immobility time in the TST revealed a significant hypothyroidism \times chrysin interaction ($F(1, 36) = 17.14, P = 0.0002$).

Figure 5B shows the immobility time of the groups during the FST. The data reveals that the hypothyroidism caused a significant increase on the immobility time of the mice when compared to euthyroid mice, and chrysin was able to reverse this effect compared to euthyroid mice group. Two-way ANOVA followed by Post Hoc comparisons revealed a significant hypothyroidism \times chrysin interaction ($F(1, 48) = 7.81, P = 0.0074$) on immobility time in the FST.

3.3 Monoamine levels on prefrontal cortex and hippocampus

Figure 6A and 6B demonstrate the effect of chrysin on 5HT level in the hippocampus and the prefrontal cortex of mice, respectively. Post-hoc analysis revealed that hypothyroidism decreased 5HT level on the hippocampus and the prefrontal cortex when compared to the euthyroid mice and the treatment with chrysin recovered this level in both structures when compared to euthyroid mice group. The two-way ANOVA of 5HT levels demonstrated a significant hypothyroidism \times chrysin interaction in the hippocampus ($F(1,12) = 4.35, P = 0.0589$) and the prefrontal cortex ($F(1,12) = 12.92, P = 0.0037$).

Figure 7A and 7B show the effect of chrysin on dopamine level in the hippocampus and the prefrontal cortex of mice, respectively. Post-hoc analysis revealed that hypothyroidism decreased dopamine level in both structures compared to euthyroid mice group, and the treatment with chrysin recovered this level only in hippocampus. Two-way ANOVA of dopamine levels demonstrated a significant hypothyroidism \times chrysin interaction in the hippocampus ($F(1,12) = 10.11, P = 0.0079$).

Figure 8A and 8B display the effects of chrysin on noradrenaline level in the hippocampus and the prefrontal cortex of mice, respectively. Post-hoc analysis of noradrenaline level display that there was no significant difference among the groups. Two-way ANOVA of noradrenaline level display that there is no significant hypothyroidism \times chrysin interaction in both structures, hippocampus ($F(1, 12) = 0.33, P = 0.5753$) and cortex prefrontal ($F(1, 12) = 0.79, P = 0.3930$).

3.3 Correlation analysis

Correlation analysis (Pearson's correlation analysis) shown a significant negative correlation between 5HT level and FST on hippocampus ($r = -0.5746; p = 0.0199$) (Figure 9A), and prefrontal cortex ($r = -0.7707; p = 0.0005$) (Figure 9B). Also shown a significant negative correlation between dopamine level and TST on hippocampus ($r = -0.8617; p < 0.0001$) (Figure 9C), and prefrontal cortex ($r = -0.7412; p = 0.0010$) (Figure 9D).

4 Discussion

The present study demonstrates the effectiveness of chrysin treatment on depressive-like behavior in hypothyroid female mice. In our study, hypothyroidism led to increased depression like behaviors, decreased 5HT and dopamine levels in the prefrontal cortex and the hippocampus. The chrysin was able to reverse these behavioral and neurochemical alterations. The antidepressant-like effect associated of chrysin was obtained independently of the thyroid hormone levels, which remained lower even in the hypothyroid group that received chrysin.

The current study has shown that the locomotor activity of the animals with hypothyroidism was not affected, in other words, all groups of this study have the same locomotor activity, even though it is popular of knowledge that people who have hypothyroidism tend to become hypoactivity: slower, at rest, tired. The cognitive modulation by hypothyroidism caused by MTZ is also supported by the fact that did not alter the locomotor and exploratory activity in the OFT. Our study also demonstrated that the anti-immobility effect of chrysin cannot be attributed to any psychostimulant action, since chrysin did not produce alterations in the locomotor activity assessed in the OFT.

The FST and TST, behavioral despair tests are helpful to probe the pathological mechanism of depression and for the evaluation of antidepressant drugs (Porsolt et al., 1978). The duration of immobility reflects the state of hopelessness to get out of this situation that is a symptom most commonly seen in humans (Castagné et al., 2011; Liang et al., 2016). In the present study, we observed that hypothyroidism increased the immobility duration in the FST and TST. It has already been reported that hypothyroidism causes depressive-like behavior as seen in the behavioral tests from this study (Dias et al., 2014). An important finding in the present study is that chrysin protects the increase of the immobility time in both tests and there was no difference in OFT. These results confirm that chrysin treatment reverses depressive-like behavior in hypothyroid female mice, and corroborated with the antidepressant potential of chrysin presented in other studies involving depressive-like behavior induced by unpredictable chronic stress (Filho et al. 2015; 2016a), using chrysin in a model of chronic unpredictable mild stress and olfactory bulbectomy (Filho et al. 2016b).

The FST and TST are widely used for screening potential antidepressant agents and are sensitive and relatively specific to all major classes of antidepressants including tricyclic antidepressant (TCAs), selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs), monoamine oxidase inhibitors (MAOIs), and atypical antidepressants (Porsolt et al., 1977b; Detke, Rickels and

Lucki, 1995; Steru et al., 1985; Adongo et al., 2015). These tests being based on observations in rodents and in both models there is a correlation between antidepressant efficacy and clinical potency (Adongo et al., 2015). In the FST, substances that increase the swimming time without altering the climbing behavior are purported to be acting via the serotonergic pathway, while those that increase the climbing score without affecting swimming are sensitive to the noradrenergic pathway (Page et al., 1999; Rénéric et al., 2001; Kukuia et al., 2015). While in TST, its mechanism of action is involved with the dopaminergic system, and the D₁ and D₂ receptors (Hirano et al., 2007; Donato et al., 2013). Based on behavioral tests, aware that the hypothyroidism increased the immobility time and the chrysin decreased this time in both tests, still aware that each one acts by a mechanism, we suppose that chrysin can act by modulating the levels of 5HT and dopamine.

It is well known that the monoamines play an important role in depression (Liang et al., 2016; Sarris et al., 2011; Kwon et al., 2010). The 5HT is an important neurotransmitter mainly on the depression state and a dysfunctional 5HT system is generally regarded as a risk factor for depression (Han et al., 2015). This way, the thyroid hormones have a role in serotonergic neurotransmission, which could affect the sensitivity of serotonin receptors in the raphe nuclei by upregulating the sensitivity of 5HT_{1A} receptors and reducing that of the 5HT₂ receptors, and thyroid hormone could increase 5HT levels by inhibiting 5HT receptors in the raphe nuclei (Kalra and Balhara, 2014; Zhang et al., 2016). Already it was reported that thyroid hormones have an influence the activity of 5HT, as well as the functioning of its receptors (Kulikov et al., 1999), and the 5HT may have some connections with the circulating levels of thyroid hormones (Upadhyaya and Agrawal, 1993). Some studies demonstrate a close association between depression-like behavior and decreased 5HT brain levels in hypothyroid rats. (Ito et al., 1977; Jacoby et al., 1975; Bauer et al., 2002; Tousson et al., 2012). Our results demonstrate that hypothyroid animals presented a decrease on 5HT levels in hippocampus and pre frontal cortex. In addition, a strong negative correlation between the 5HT levels in hippocampus and pre frontal cortex and FST confirms the involvement of 5-HT system in this behavior. Our results are in according to observed by Zhang et al. (2016), in model of hypothyroidism induced by thyroidectomy in rats, and Hassan et al. (2013) in hypothyroidism induced by propylthiouracil (PTU). Chrysin recovered 5HT level in structures, hippocampus and pre frontal cortex, compared to the control group. This result confirms the involvement of serotonergic system in the antidepressant-like effect demonstrated by chrysin on FST test. It is an important result since these two brain regions

are both critically involved in the regulation of emotion, motivation, learning and memory, all of which may be related of depression (Ye et al., 2015). Furthermore, Filho et al (2016a) also associated antidepressant-like effect of chrysin in mice exposed to unpredictable chronic stress (UCS) with regulation of 5HT system.

The dopamine is another neurotransmitter associated with depression, it has already been described that dopamine is the principal neurotransmitter that mediates locomotor and motivates behavior (Ide et al., 2016). In experimental models with mice the TST was largely used to estimate the state like-depressive from the immobility time, moreover this test acts on dopaminergic system. Our study has demonstrated that dopamine levels in the hippocampus and the prefrontal cortex were decreased in hypothyroid mice compared with control group. In this view, we also observed a strong negative correlation between the dopamine levels in hippocampus and pre frontal cortex and TST confirms the involvement of dopamine system in this behavior. Our results are in accordance with the study carried out by Hassan et al. (2013) where it was observed a significant reduction in dopamine levels in young and adult rats with hypothyroidism induced by PTU. Chrysin was effective in normalizing dopamine level in the hippocampus of mice compared with control group, but not in cortex. Our results confirm the involvement of dopaminergic system in the antidepressant-like effect demonstrated by chrysin on TST.

It is possible that chrysin acts at the level of cerebral synaptogenesis, restoring 5HT and dopamine levels in the synaptic cleft, on synthesis or uptake of these neurotransmitters. These mechanisms may be suggested from the results obtained in this study, but further testing is needed to confirm the pathway in which chrysin restores these levels in hypothyroid induced depression.

In our study, noradrenaline levels were not altered in the hippocampus and prefrontal cortex of female mice. Different results were observed by Hassan et al. (2013) in a model of hypothyroidism induced by PTU, they showed a significant reduction of noradrenaline levels after all the time intervals studied in young rats, and after 21 and 28 days in adult rats. This controversial data is probably due to an inability to compare the experimental conditions. This study has portrayed for the first time that depressive-like behavior in hypothyroid female mice was not correlated to noradrenergic system.

5 Conclusion

Taken together, our findings demonstrate for the first time that chrysin treatment reverses depressive-like behavior in hypothyroid female mice and indicate that the antidepressant-like mechanism of chrysin was mediated, at least partly by 5HT and dopamine levels mainly in the hippocampus.

6 Acknowledgments

The authors gratefully acknowledge financial support received from FAPERGS and CNPq (Universal 483529/2013-3). CAPES is acknowledged for financial support for Doctoral Student fellowship and Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA).

7 References

- Adongo, D.W., Kukuia, K.K.E., Mante, P.K., Ameyaw, E.O., Woode, E., 2015. Antidepressant-Like Effect of the Leaves of *Pseudospondias microcarpa* in Mice: Evidence for the Involvement of the Serotonergic System, NMDA Receptor Complex, and Nitric Oxide Pathway. *BioMed Res. Int.* Article ID 397943, 15 pages.
- Ahmed, O.M., Abd El-Tawab, S.M., Ahmed, R.G., 2010. Effects of experimentally induced maternal hypothyroidism and hyperthyroidism on the development of rat offspring: I. The development of the thyroid hormones-neurotransmitters and adenosinergic system interactions. *Int. J. Dev. Neurosci.* 28, 437–454.
- Ahmed, O.M., El-Gareib, A.W., El-bakry, A.M., Abd El-Tawab, S.M., Ahmed, R.G., 2008. Thyroid hormones states and brain development interactions. *Int. J. Dev. Neurosci.* 26(2), 147–209.
- Amitai, M., Kronenberg, S., Carmel, M., Michaelovsky, E., Frisch, A., Brent, D., Apter, A., Chen, A., Weizman, A., Fennig, S., 2016. Pharmacogenetics of citalopram-related side effects in children with depression and/or anxiety disorders. *J. Neural Transm.* DOI 10.1007/s00702-016-1585-7.
- Antunes, M.S., Jesse, C.R., Ruff, J.R., Espinosa, D.O., Gomes, N.S., Altvater, E.E.T., Donato, F., Giacomeli, R., Boeira, S.P., 2016. Hesperidin reverses cognitive and depressive disturbances induced by olfactory bulbectomy in mice by modulating

hippocampal neurotrophins and cytokine levels and acetylcholinesterase activity. *Eur. J. Pharmacol.* <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2016.07.042>

Bauer, M., Heinz, A., Whybrow, P.C., 2002. Thyroid hormones, serotonin and mood: of synergy and significance in the adult brain. *Mol. Psychiatry.* 7, 140–156.

Brunet, J., Sabiston, C.M., O'Loughlin, E., Chaiton, M., Low, N.C.P., O'Loughlin, J.L., 2014. Symptoms of depression are longitudinally associated with sedentary behaviors among young men but not among young women. *Prev. Med.* 60, 16–20.

Castagné, V., Moser, P., Roux, S., Porsolt, R.D., 2011. Rodent models of depression: forced swim and tail suspension behavioral despair tests in rats and mice. *Curr Protoc Neurosci.* 11–18.

Colin, M.D., Vijay, P., 2013. Hypothyroidism and depression. *Eur Thyroid J.* 2, 168–179.

Detke, M.J., Rickels, M., Lucki, I., 1995. Active behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. *Psychopharmacology.* 121(1), 66–72.

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., 2014. Diphenyl diselenide supplemented diet reduces depressive-like behavior in hypothyroid female rats. *Physiol. Behav.* 124, 116–122.

Donato, F., Gomes, M.G., Goes, A.T.R., Seus, N., Alves, D., Jesse, C.R., Savegnago, L., 2013. Involvement of the dopaminergic and serotonergic systems in the antidepressant-like effect caused by 4-phenyl-1-(phenylselanylmethyl)-1,2,3-triazole. *Life Sci.* 93, 393–400.

Filho, C.B., Jesse, C.R., Donato, F., Del Fabbro, L., Gomes, M.G., Goes, A.T.R., Souza, L.C., Giacomeli, R., Antunes, M.S., Luchese, C., Roman, S.S., Boeira, S.P., 2016a. Neurochemical factors associated with the antidepressant-like effect of flavonoid chrysin in chronically stressed mice. *Eur. J. Pharmacol.* 791, 284–296.

Filho, C.B., Jesse, C.R., Donato, F., Del Fabbro, L., Gomes, M.G., Goes, A.T.R., Souza, L.C., Boeira, S.P., 2016b. Chrysin promotes attenuation of depressive-like

behavior and hippocampal dysfunction resulting from olfactory bulbectomy in mice. *Chem. Biol. Interact.* CBI 7848.

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., 2015. 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.

Ge, J., Xu, Y., Qin, G., Cheng, J., Chen, F., 2016. Resveratrol ameliorates the anxiety- and Depression-like Behavior of subclinical hypothyroidism rat: Possible involvement of the HPT axis, HPA axis, and Wnt/ β -catenin Pathway. *Front. Endocrinol.* 7, 44.

Gibbons, R.D., Brown, C.H., Hur, K., Davis, J., Mann, J.J., 2012. Suicidal thoughts and behavior with antidepressant treatment: reanalysis of the randomized placebo-controlled studies of fluoxetine and venlafaxine. *Arch. Gen. Psychiatry.* 69(6), 580–587.

Habel, C., Feeley, N., Hayton, B., Bell, L., Zelkowitz, P., 2015. Causes of women's postpartum depression symptoms: Men's and women's perceptions. *Midwifery.* 31, 728–734.

Han, L-N., Zhang, L., Li, L-B., Sun, Y-N., Wang, Y., Chen, L., Guo, Y., Zhang, Y-M., Zhang, Q-J., Liu, J., 2015. Activation of serotonin 2C receptors in the lateral habenular nucleus increases the expression of depression-related behaviors in the hemiparkinsonian rat. *Neuropharmacology.* 93, 68-79.

Hassan, W.A., Aly, M.S., Rahman, T.A., Shahat, A.S., 2013. Impact of experimental hypothyroidism on monoamines level in discrete brain regions and other peripheral tissues of young and adult male rats. *Int. J. Dev. Neurosci.* 31, 225–233.

Hiles, S.A., Baker, A.L., Malmanche, T., McEvoy, M., Boyle, M., Attia, J., 2015. Unhealthy lifestyle may increase later depression via inflammation in older women but not men. *Journal of Psychiatric Research.* 63, 65–74.

Hirano, S., Miyata, S., Onodera, K., Kamei, J., 2007. Involvement of dopamine D1 receptors and α -1-adrenoceptors in the antidepressant-like effect of chlorpheniramine in the mouse tail suspension test. *Eur. J. Pharmacol.* 562(1-2), 72–76.

Ide, S., Takahashi, T., Takamatsu, Y., Uhl, G.R., Niki, H., Sora, I., Ikeda, K., 2016. Distinct Roles of Opioid and Dopamine Systems in Lateral Hypothalamic Intracranial Self-Stimulation. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 00(00), 1–7.

Ito, J.M., Valcana, T., Timiras, P.S., 1977. Effect of hypo- and hyperthyroidism on regional monoamine metabolism in the adult rat brain. *Neuroendocrinology.* 24, 55–64.

Jacoby, J.H., Mueller, G., Wurtman, R.J., 1975. Thyroid state and brain monoamine metabolism. *Endocrinology.* 97, 1332–1335.

Kalra, S., Balhara, Y.P., 2014. Euthyroid depression: the role of thyroid hormone. *Recent Pat. Endocr. Metab. Immune Drug Discovery.* 8, 38–41.

Kessler, R.C., 2003. Epidemiology of women and depression. *J. Affect. Disord.* 74, 5–13.

Kukuia, K.K.E., Asiedu-Gyekye, I.J., Woode, E., Biney, R.P., Addae, E., 2015. Phytotherapy of experimental depression: *Kalanchoe integra* Var. *Crenata* (Andr.) Cuf Leaf Extract. *J. Pharm. Bioall. Sci.* 7(1), 26-31.

Kulikov, A.V., Moreau, X., Jeanningros, R., 1999. Effects of experimental hypothyroidism on 5-HT_{1A} 5-HT_{2A} receptors 5-HT uptake sites and tryptophan hydroxylase activity in mature rat brain. *Neuroendocrinology.* 69, 453–459.

Kwon, S., Lee, B., Kim, M., Lee, H., Park, H.J., Hahm, D.H., 2010. Antidepressant-like effect of the methanolic extract from *Bupleurum falcatum* in the tail suspension test. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 34(2), 265–270.

Li, J., Paulson, J.M., Ye, F.D., Sung, M., Hollenberg, A.N., Rutkove, S.B., 2012. Reducing systemic hypermetabolism by inducing hypothyroidism does not prolong survival in SOD1-G93A mouse. *Amyotrophic Lateral Sclerosis.* 13, 372-377.

Li, M., Shao, H., Zhang, X., Qin, B., 2016. Hesperidin Alleviates Lipopolysaccharide-Induced Neuroinflammation in Mice by Promoting the miRNA-132. *Pathway Inflammation.* DOI: 10.1007/s10753-016-0402-7

Liang, Y., Yang, X., Zhang, X., Duan, H., Jin, M., Sun, Y., Yuan, H., Li, J., Qi, Y., Qiao, W., 2016. Antidepressant-like effect of the saponins part of ethanol extract from SHF. *J. Ethnopharmacol.* 191, 307–314

Morganti, S., Ceda, G.P., Saccani, M., Milli, B., Ugolotti, D., Prampolini, R., Maggio, M., Valenti, G., Ceresini, G. 2005. Thyroid disease in the elderly: sex-related differences in clinical expression. *J. Endocrinol. Invest.* 28, 101–104.

Nemeroff, C.B., 2007. The burden of severe depression: A review of diagnostic challenges and treatment alternatives. *Journal of Psychiatric Research.* 41, 189-206.

Page, M.E., Detke, M.J., Dalvi, A., Kirby, L.G., Lucki, I., 1999. Serotonergic mediation of the effects of fluoxetine, but not desipramine, in the rat forced swimming test. *Psychopharmacol. (Berl).* 147, 162-167.

Porsolt, R.D., Bertin, A., Jalfre, M., 1977b. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie.* 229(2), 327–336.

Porsolt, R.D., Bertin, A., Jalfre, M., 1978. Behavioural despair in rats and mice: strain differences and the effects of imipramine. *Eur. J. Pharmacol.* 51(3), 291–294.

Porsolt, R.D., Le Pichon, M., Jalfre, M., 1977a. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature.* 266, 730–732.

Racagni, G., Popoli, M., 2010. The pharmacological properties of antidepressants. *Int. Clin. Psychopharmacol.* 25, 117 –131.

Rénéric, J.P., Bouvard, M., Stinus, L., 2001. Idazoxan and 8-OH-DPAT modify the behavioral effects induced by either NA, or 5-HT, or dual NA/5-HT reuptake inhibition in the rat forced swimming test. *Neuropsychopharmacol.* 24, 379-90.

Sarris, J., Panossian, A., Schweitzer, I., Stough, C., Scholey, A., 2011. Herbal medicine for depression, anxiety and insomnia: a review of psychopharmacology and clinical evidence. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 21(12), 841–860.

Steru, L., Chermat, R., Thierry, B., Simon, P., 1985. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacology.* 85, 367-70.

Su, Q., Tao, W., Huang, H., Du, Y., Chu, X., Chen, G., 2016. Protective effect of liquiritigenin on depressive-like behavior in mice after lipopolysaccharide administration. *Psychiatry Res.* 240, 131 –136.

Tong, H., Chen, G-H., Liu, R-Y., Zhou, J-N., 2007. Age-related learning and memory impairments in adult-onset hypothyroidism in Kunming mice. *Physiol. Behav.* 91, 290–298.

Tousson, E., Ibrahim, W., Arafa, N., Akela, M.A., 2012. Monoamine concentrations changes in the PTU-induced hypothyroid rat brain and the ameliorating role of folic acid. *Hum. Exp. Toxicol.* 31, 282–289.

Upadhyaya, L., Agrawal, J.K., 1993. Effect of l-thyroxine and carbimazole on brain biogenic amines and amino acids in rats. *Endocrine Research.* 19(2-3), 87–99.

Vara, H., Martinez, B., Santos, A., Colino, A., 2002. Thyroid hormone regulates neurotransmitter release in neonatal rat hippocampus. *Neuroscience.* 110(1), 19–28.

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

Wang, T., Miao, M., Li, Y., Li, M., Zhang, Y., Tian, S., 2016. Effect of cynomorium flavonoids on morphology of perimenopausal depression mice model. *Saudi Pharmaceutical Journal.* 24, 322–328

Weng, L., Guo, X., Li, Y., Yang, X., Han, Y. Apigenin reverses depression-like behavior induced by chronic corticosterone treatment in mice. *Eur. J. Pharmacol.* <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2016.01.015>

Wolfman, C., Violah, P.A., Dajas, F., Medina, J.H., 1994. Possible anxiolytic effects of chrysin, a central benzodiazepine receptor ligand isolated from *Passiflora coerulea*. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 47, 1–4.

World Health Organization, 2017. Depression and Other Common Mental Disorders Global Health Estimates. Printed by the WHO Document Production Services, Geneva, Switzerland. 1-24.

Ye, M., Yang, T.L., Qing, P., Lei, X., Qiu, J., Liu, G.Y., 2015. Changes of functional brain networks in major depressive disorder: a graph theoretical analysis of restingstate fMRI. *PLoS One.* 10 (9): e0133775.

Zhang, Q., Feng, J.J., Yang, S., Liu, X.F., Li, J.C., Zhao, H., 2016. Lateral habenula as a link between thyroid and serotonergic system modiates depressive symptoms in hypothyroidism rats. *Brain Res. Bull.* <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.brainresbull.2016.05.007>

Figure captions

Figure 1: Chemical structure of chrysin.

Figure 2: Experimental protocol.

Figure 3: Effect of MTZ on thyroid hormones (T3 and T4) levels is demonstrated in (A). Data are shown as mean \pm S.E.M. (n = 4 per group). ^aSignificant difference in relation to respective control. Effects of hypothyroidism and chrysin on thyroid hormones (T3 and T4) levels are demonstrated in (B) and (C), respectively. Data are shown as mean \pm S.E.M. (n = 4 per group). ^aSignificant difference in relation to euthyroid; ^bSignificant difference in relation to chrysin euthyroid.

Figure 4: Effects of hypothyroidism and chrysin on OFT. Data are shown as mean \pm S.E.M. (n = 12-14 per group).

Figure 5: Effects of hypothyroidism and chrysin on depression-like behaviors. Immobility time on tail suspension test (A) (n = 10 per group) and Immobility time forced swimming test (B) (n = 12-14 per group). Data are shown as mean \pm S.E.M. ^aSignificant difference in relation to euthyroid; ^bSignificant difference in relation to chrysin euthyroid; ^dSignificant difference in relation to chrysin hypothyroid.

Figure 6: Effects of hypothyroidism and chrysin on 5HT level in the hippocampus (A) and the prefrontal cortex (B). Data are shown as mean \pm S.E.M. (n = 4 per group). ^aSignificant difference in relation to euthyroid; ^bSignificant difference in relation to chrysin euthyroid; ^dSignificant difference in relation to chrysin hypothyroid.

Figure 7: Effects of hypothyroidism and chrysin on dopamine level in the hippocampus (A) and the prefrontal cortex (B). Data are shown as mean \pm S.E.M. (n = 4 per group). ^aSignificant difference in relation to euthyroid; ^bSignificant difference in relation to chrysin euthyroid; ^dSignificant difference in relation to chrysin hypothyroid.

Figure 8: Effects of hypothyroidism and chrysin on noradrenaline level in the hippocampus (A) and the prefrontal cortex in (B). Data are shown as mean \pm S.E.M. (n = 4 per group).

Figure 9: r values resulting from Pearson's correlation test for neurochemical parameters and behavioral tests. FST and 5HT on hippocampus (A) and prefrontal cortex (B); TST and dopamine on hippocampus (C) and prefrontal cortex (D).

Figures:

Figure 1

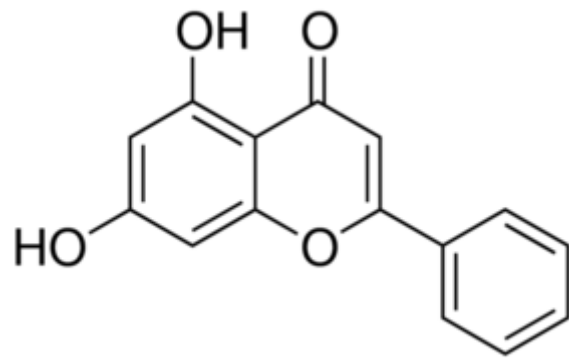


Figure 2

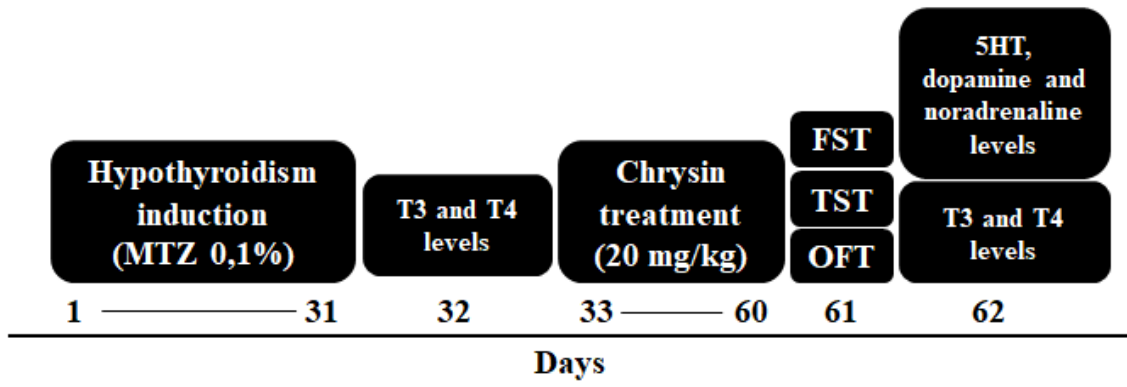


Figure 3

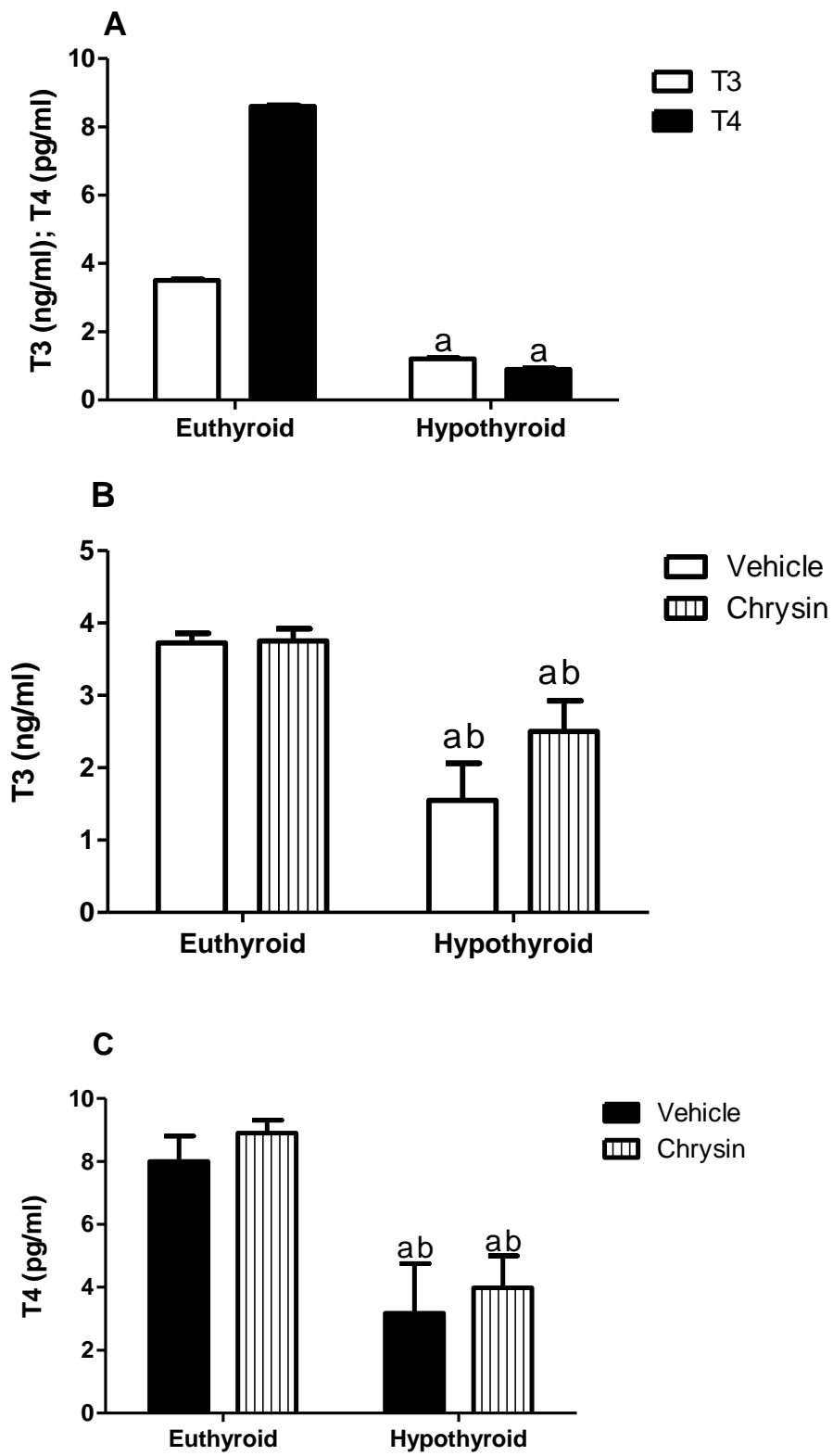


Figure 4

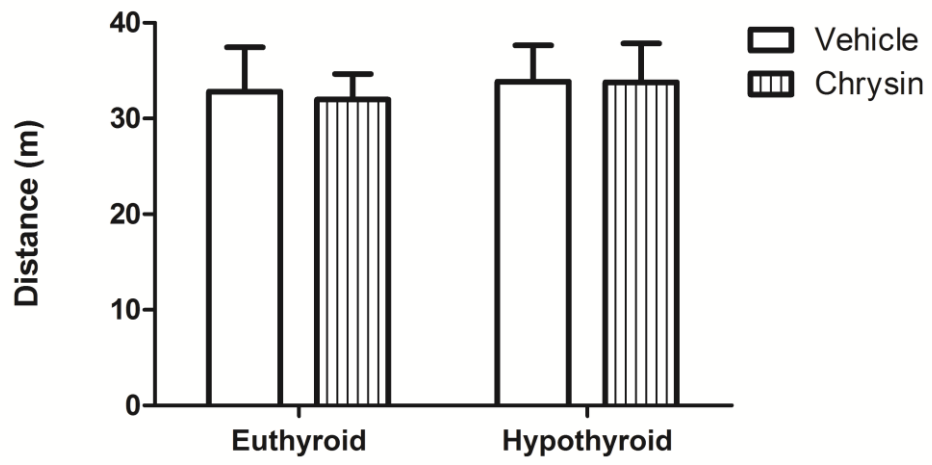


Figure 5

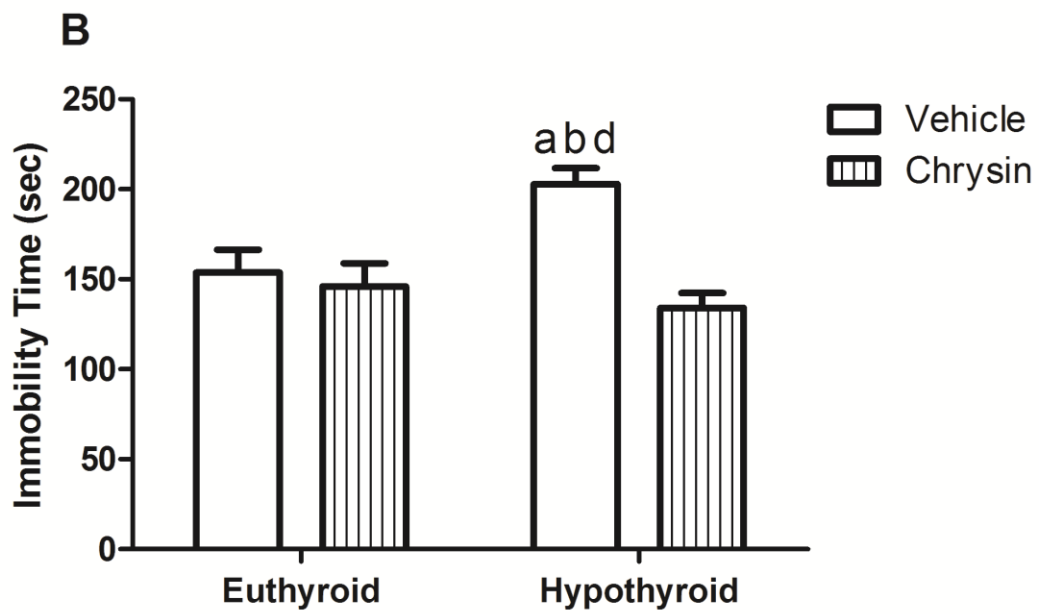
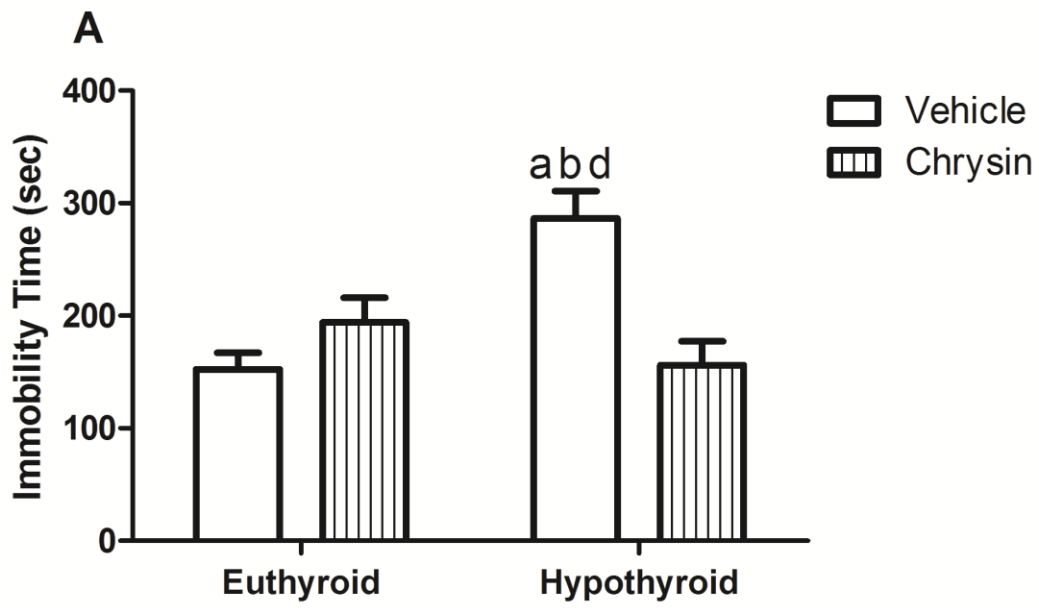


Figure 6

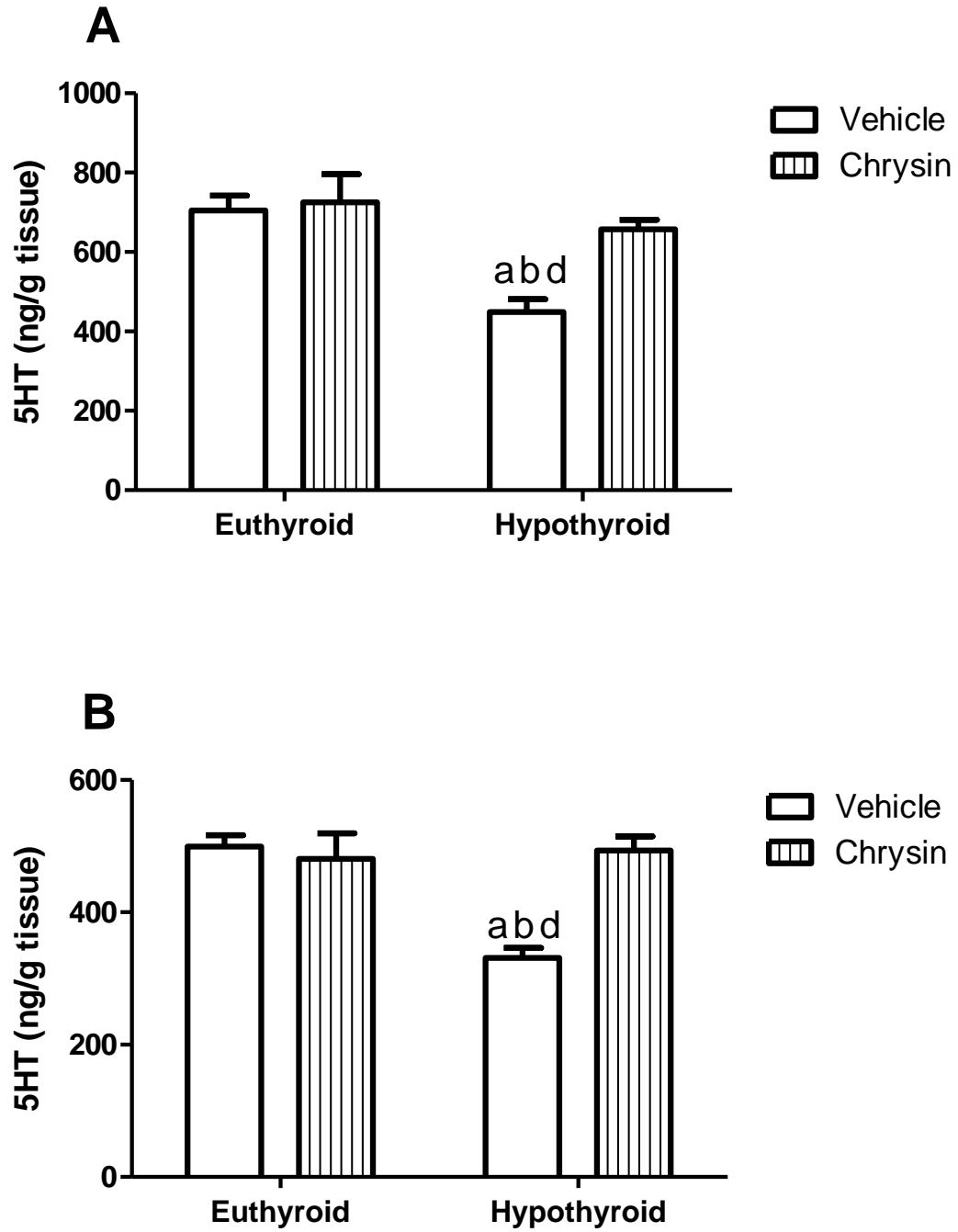


Figure 7

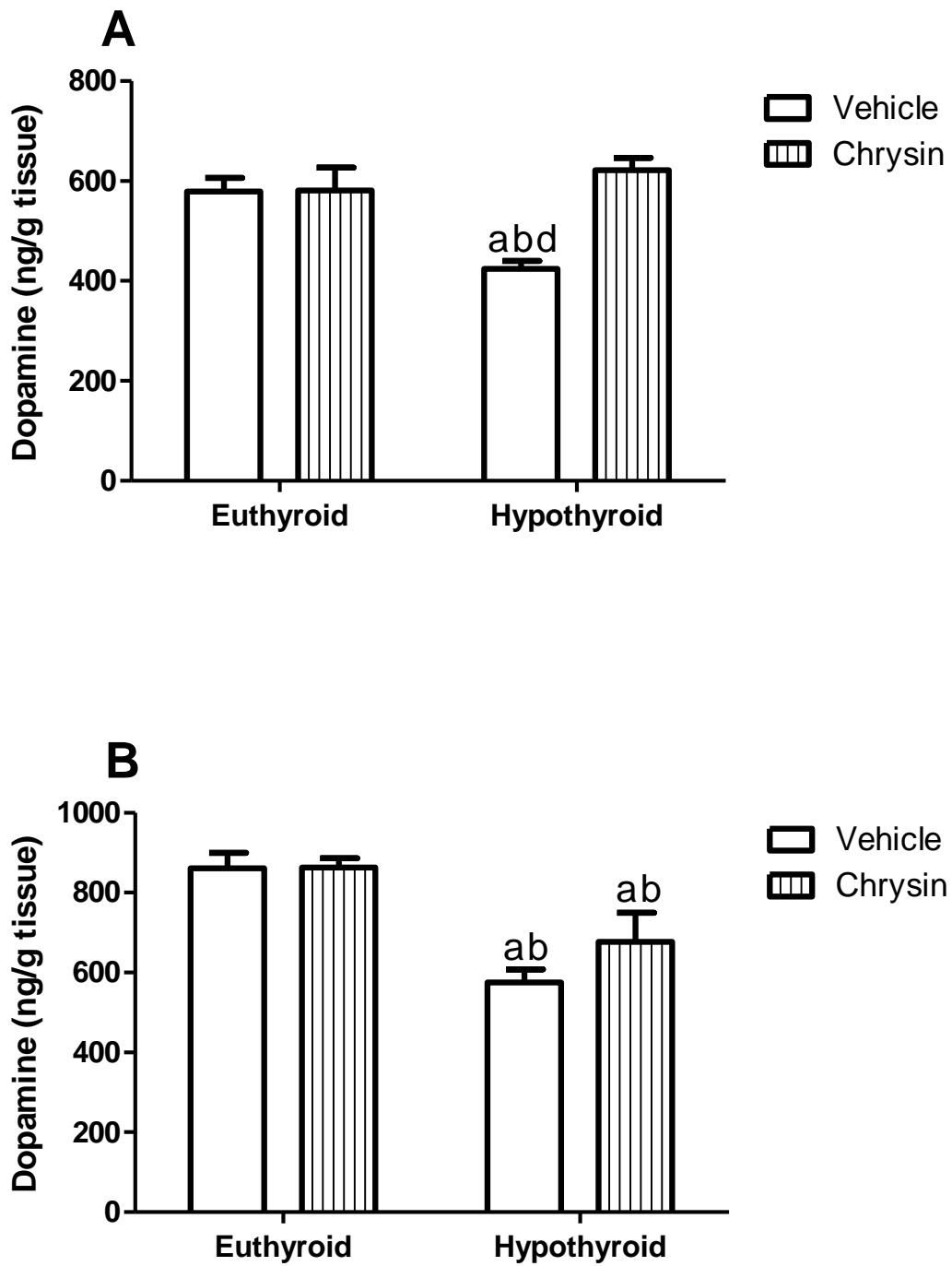


Figure 8

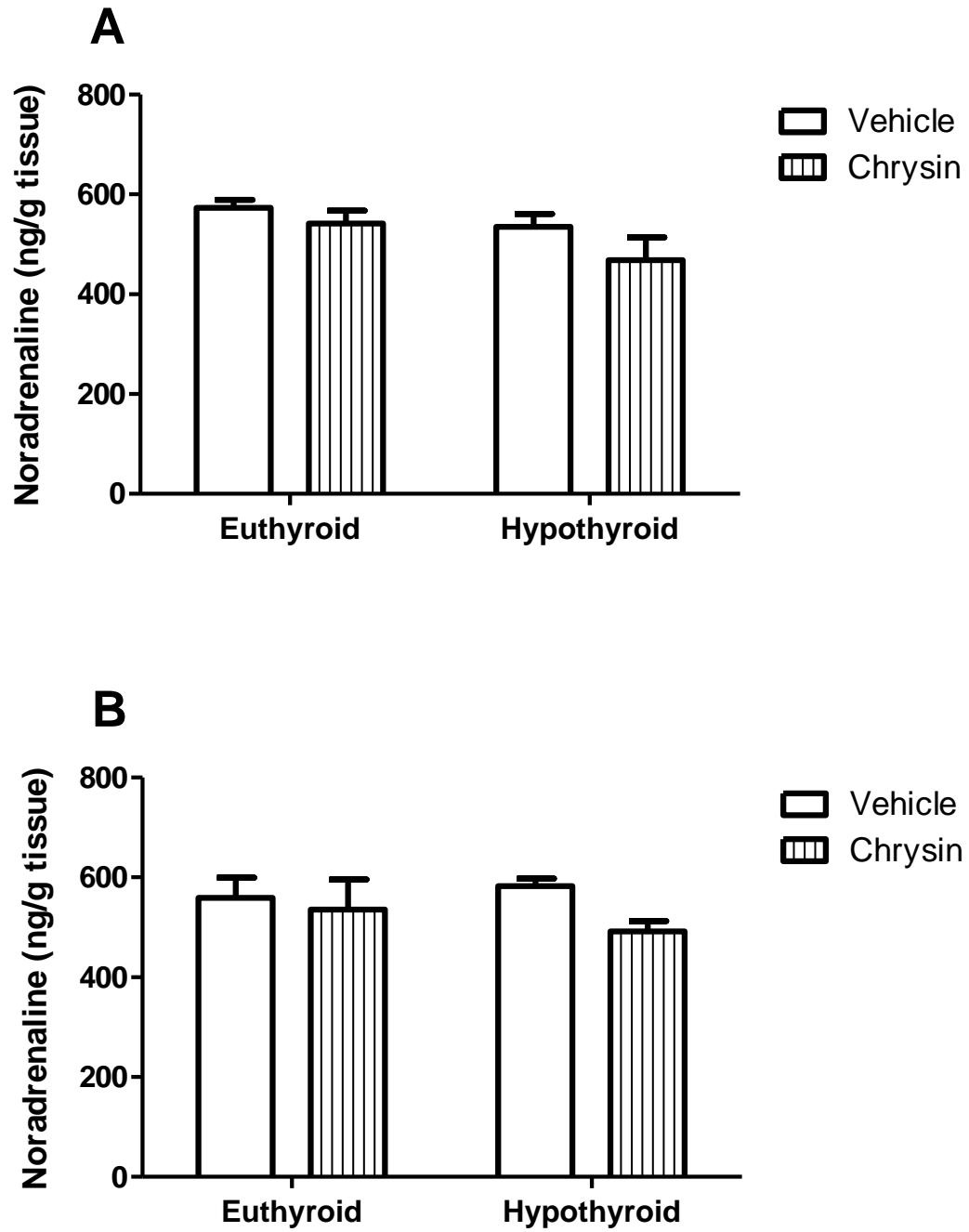
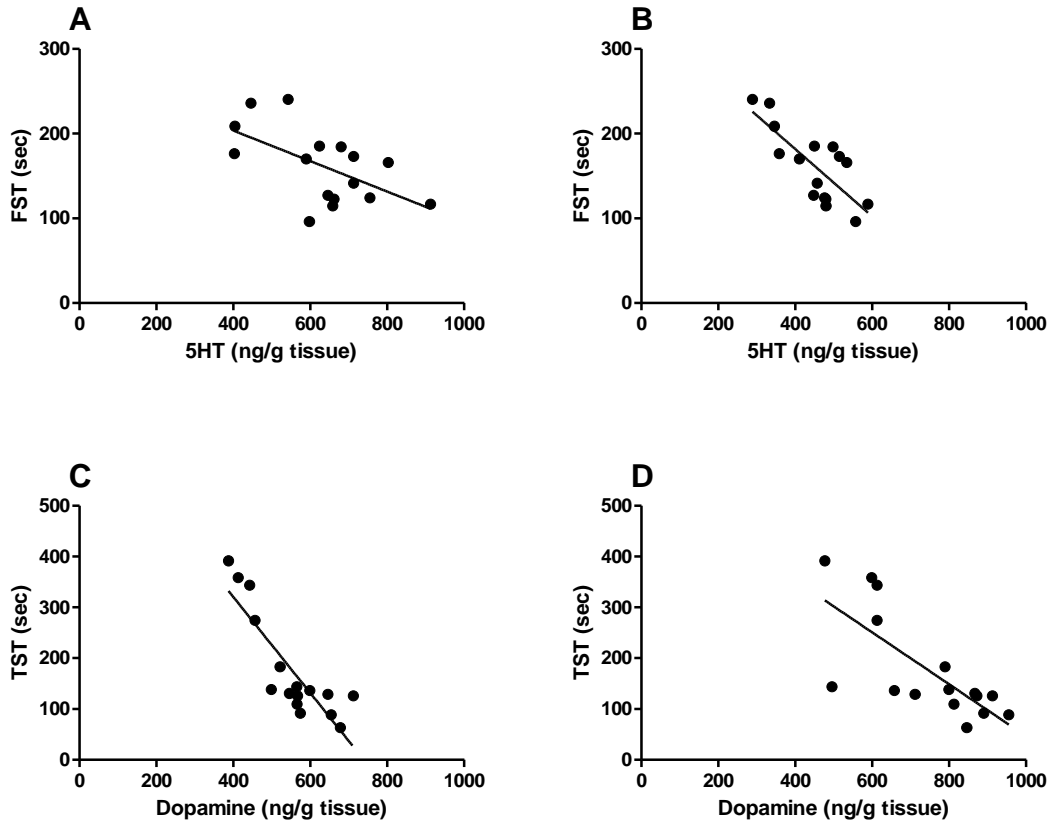


Figure 9



6 CONCLUSÕES

Demonstrou-se que a crisina possui efeito tipo antidepressivo em modelo de hipotireoidismo. A partir dos testes comportamentais de TSC e TNF, o grupo hipotireoidismo aumentou o tempo de imobilidade dos animais, e a crisina foi capaz de reverter este tempo em ambos os testes. Os níveis de neurotransmissores corroboraram para obtermos essa conclusão, o conteúdo de 5-HT e DA estavam diminuídos no hipocampo e córtex pré-frontal, e o tratamento com crisina foi capaz de reverter essa diminuição de 5-HT em ambas estruturas e DA somente no hipocampo.

É possível que a crisina atue a nível da sinaptogênese cerebral, restaurando os níveis de 5-HT e DA na fenda sináptica, na síntese ou na captação destes neurotransmissores. Pode-se sugerir estes mecanismos a partir dos resultados obtidos neste estudo, porém é necessário realizar mais testes para confirmar a via em que a crisina restaura estes níveis na depressão induzida pelo hipotireoidismo.

Com base nos resultados obtidos, e com pesquisas promissoras já publicadas a respeito do efeito antidepressivo, a crisina torna-se um possível adjuvante no tratamento da depressão.

7 PERSPECTIVAS

A fim de obter um melhor entendimento a respeito dos mecanismos de ação da crisina sobre as alterações comportamentais induzidas pelo hipotireoidismo, este trabalho terá continuidade no doutorado. A baixo encontram-se algumas perspectivas:

- Analisar os efeitos da crisina sobre parâmetros comportamentais de labirinto em cruz elevado e caixa claro-escuro, avaliar o índice de Lee (do inglês - *Lee index*), peso corporal e gordura total para determinar a ansiedade dos camundongos com hipotireoidismo induzido pelo MTZ.
- Avaliar os efeitos da crisina sobre parâmetros comportamentais de reconhecimento de objeto a curto e longo prazo, esquiva ativa, labirinto aquático de Morris, quantificar a atividade da enzima $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$, níveis de neurotrofinas e dos neurotransmissores glutamato e acetilcolina sobre memória e aprendizagem dos camundongos com hipotireoidismo induzido pelo MTZ.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHAD, A.; GANAI, A.A.; MUJEEB, M.; SIDDIQUI, W.A. Chrysin, an anti-inflammatory molecule, abrogates renal dysfunction in type 2 diabetic rats. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 279, p. 1-7, 2014.

AKAISHI, T.; MORIMOTO, T.; SHIBAO, M.; WATANABE, S.; SAKAI-KATO, K.; UTSUNOMIYA-TATE, N.; ABE, K. Structural requirements for the flavonoid fisetin in inhibiting fibril formation of amyloid beta protein. **Neuroscience Letters**, v. 444, p. 280-285, 2008.

AMERICAN THYROID ASSOCIATION (ATA). **A Booklet for Patients and Their Families**. American Thyroid Association, Hypothyroidism, 2013.

AMITAI, M.; KRONENBERG, S.; CARMEL, M.; MICHAELOVSKY, E.; FRISCH, A.; BRENT, D.; APTER, A.; CHEN, A.; WEIZMAN, A.; FENNIG, S. Pharmacogenetics of citalopram-related side effects in children with depression and/or anxiety disorders. **Journal of Neural Transmission**. DOI 10.1007/s00702-016-1585-7, 2016.

ANANDHI, R.; THOMAS, P.A.; GERALDINE, P. Evaluation of the anti-atherogenic potential of chrysin in wistar rats. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 385, p. 103-113, 2014.

ANANDHI, R.; THOMAS, P.A.; GERALDINE, P. Evaluation of the anti-atherogenic potential of chrysin in wistar rats. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 385, p. 103-113, 2014.

BAE, Y.; LEE, S.; KIM, S-H. Chrysin suppresses mast cell-mediated allergic inflammation: Involvement of calcium, caspase-1 and nuclear factor-kappaB. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 254, p. 56-64, 2011.

BAI, J.; LUO, Y.; SONG, Z.; FAN, W.; WANG, Z.; LUAN, T.; JIANG, J.; ZANG, B. Effects and the mechanisms of chrysin on sepsis-associated acute lung injury of rats chrysin inhibits acute lung injury. **Life Science Journal**, v. 10, p. 1052-1058, 2013.

BIANCO, A.C. **Fisiologia da Glândula Tireóide**. In: ROSA, J.C.; ROMÃO, L.A. Glândula Tireóide: Funções e Disfunções: Diagnóstico e Tratamento. 2.ed. São Paulo: Lemos Editorial, 2002.

BORON, W.F.; BOULPAEP, E.L. **Medical physiology: a cellular and molecular approach**. 2. Ed. Philadelphia, PA: Saunders/Elsevier, 2009.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. **Nutrition Reviews**, v. 56, n. 11, p. 317-333, 1998.

CALIXTO, J.B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: a personal review. **Journal of Ethnopharmacology**, v.100, p. 131-134, 2005.

CAMPBELL, I. Thyroid and parathyroid hormones and calcium homeostasis. **Anaesthesia and Intensive Care Medicine**, v. 9, n. 10, p. 428-431, 2008.

CASTRO, M.R.; GHARIB, H. **Doenças da tireoide**. In: CAMACHO, P.M.; GHARIB, H.; SIZEMORE, G.W. *Endocrinologia Baseada em Evidências*. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2008.

CIFTCI, O.; OZDEMIR, I.; AYDIN, M.; BEYTUR, A. Beneficial effects of chrysin on the reproductive system of adult male rats. **Andrologia**, v. 44, n. 3, p. 181-186, 2012.

CORDIOLI, A. V. **Psicofármacos nos transtornos mentais**. Especialização em Saúde da Família - Faculdade de Medicina da UFMG, 2014.

CRITCHFIELD, J.W.; BUTERA, S.T.; FOLKS, T.M. Inhibition of HIV activation in latently infected cells by flavanoid compounds. **Aids Research and Human Retroviruses**, v. 12, n. 1, p. 39-46, 1996.

CROOM, K.F.; PERRY, C.M.; PLOSKER, G.L. Mirtazapine: a review of its use in major depression and other psychiatric disorders. **CNS Drugs**, v. 23, n. 5, p. 427-452, 2009.

CRYAN, J. F.; VALENTINO, R. J.; LUCKI, I. Assessing substrates underlying the behavioral effects of antidepressants using the modified rat forced swimming test. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 29, p. 547-69, 2005.

DAILLY, E.; CHENU, F.; RENARD, C.E.; BOURIN, M. Dopamine, depression and antidepressants. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v. 18, n. 6, p. 601-607, 2004.

D'AQUILA, P. S.; COLLU, M.; GESSA, G. L.; SERRA, G. The role of dopamine in the mechanism of action of antidepressant drugs. **European Journal of Pharmacology**, v. 405, p. 365- 373, 2000.

DEMET, M.M.; OZMEN, B.; DEVECI, A.; BOYVADA, S.; ADIGÜZEL, H.; AYDEMIR, O. Depression and anxiety in hyperthyroidism. **Archives of Medical Research**, v. 33, n. 6, p. 552-556, 2002.

DI CARLO, G.; MASCOLO, N.; IZZO, A.A.; CAPASSO, F. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. **Life Sciences**, v. 65, n. 4, p. 337-353, 1999.

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**, v. 124, p. 116-122, 2014.

DORNAS, W.C.; OLIVEIRA, T.T.; RODRIGUES-DAS-DORES, R.G.; SANTOS, A.F.; NAGEM, T.J. Flavonóides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n.3, p. 241- 249, 2007.

DUMAN, C.H. Models of Depression. **Vitamins and Hormones**, v. 82, p. 1-21, 2010.

ELHWUEGI, A. S. Central monoamines and their role in major depression. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 28, p. 435-51, 2004.

ESCUREDO, O.; SILVA, L.R.; VALENTAO, P.; SEIJO, M.C.; ANDRADE, P.B. Assessing *Rubus* honey value: pollen and phenolic compounds content and antibacterial capacity. **Food Chemistry**, v. 130, p. 671-678, 2012.

EVANS, W.C. **Orders and families of medicinal plants; animal-derived drugs**, 2009. In: EVANS, W.C. Trease and Evans pharmacognosy. 14. ed. Philadelphia: wB Saunders, 1996.

FENG, X.; QIN, H.; SHI, Q.; ZHANG, Y.; ZHOU, F.; WU, H.; DING, S.; NIU, Z.; LU, Y.; SHEN, P. Chrysin attenuates inflammation by regulating M1/M2 status via activating PPAR γ . **Biochemical Pharmacology**, v. 89, p. 503-514, 2014.

FILHO, C.B.; JESSE, C.R.; DONATO, F.; DEL FABBRO, L.; GOMES, M.G.; GOES, A.T.R.; SOUZA, L.C.; GIACOMELI, R.; ANTUNES, M.S.; LUCHESE, C.; ROMAN, S.S.; BOEIRA, S.P. Neurochemical factors associated with the antidepressant-like effect of

flavonoid chrysin in chronically stressed mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 791, p. 284–296, 2016a.

FILHO, C.B.; JESSE, C.R.; DONATO, F.; DEL FABBRO, L.; GOMES, M.G.; GOES, A.T.R.; SOUZA, L.C.; BOEIRA, S.P. Chrysin promotes attenuation of depressive-like behavior and hippocampal dysfunction resulting from olfactory bulbectomy in mice. **Chemico-Biological Interactions**, CBI 7848, 2016b.

FILHO, C.B.; JESSE, C.R.; DONATO, F.; GIACOMELI, R.; DEL FABBRO, L.; ANTUNES, M.S.; GOMES, M.G.; GOES, A.T.; 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**, v. 289, p. 367-380, 2015.

FROKJAER, V. G.; VINBERG, M.; ERRITZOE, D.; SVARER, C.; BAARÉ, W.; BUDTZ-JOERGENSEN, E.; MADSEN, K.; KESSING, L.V.; KNUDSEN, G.M. High familial risk for mood disorder is associated with low dorsolateral prefrontal cortex serotonin transporter binding. **NeuroImage**, v. 46, p. 360-366, 2009.

FU, B.; XUE, J.; LI, Z.; SHI, X.; JIANG, B.H.; FANG, J. Chrysin inhibits expression of hypoxia-inducible factor-1alpha through reducing hypoxia-inducible factor-1alpha stability and inhibiting its protein synthesis. **Molecular Cancer Therapeutics**, v. 6, n. 1, p. 220–226, 2007.

GAMBELUNGHE, C.; ROSSI, R.; SOMMAVILLA, M.; FERRANTI, C.; ROSSI, R.; CICULI, C.; GIZZI, S.; MICHELETTI, A.; RUFINI, S. Effects of chrysin on urinary testosterone levels in human males. **Journal of Medicinal Food**, v. 6, n. 4, p. 387–390, 2003.

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 Global Burden of Disease Study 2015. **The Lancet**, v. 388, n. 10053, p. 1545-1602, 2016.

GOTLIB, I. H.; JOORMANN, J. Cognition and depression: current status and future directions. **Annual Review of Clinical Psychology**, v. 27, p. 285-312, 2010.

GREENSPAN, F.S.; DONG, B.J. HISTAMINE. **Thyroid and Antithyroid Drugs, in Basic and Clinical Pharmacology**. In: KATZUNG, B.G. Basic and clinical pharmacology. 9. ed. USA: Mc Graw Hill, 2004.

GUIMARÃES, J.M.N.; LOPES, C.S.; BAIMA, J.; SICHIERI, R. Depression symptoms and hypothyroidism in a population-based study of middle-aged Brazilian women. **Journal Affective Disorders**, v. 117, p. 120-123, 2009.

HARVEY, R.A.; HOWLAND, R.D.; MYCEK, M.J.; CHAMPE, P.C. **Lippincott's Illustrated Reviews: Pharmacology**. 3. ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2006.

HAYAT, N.Q.; TAHIR, M.; MUNIR, B.; SAMI W. Effect of methimazole-induced hypothyroidism on histological characteristics of parotid gland of albino rat. **Journal of Ayub Medical College Abbottabad**, v. 22, n. 3, p. 22-27, 2010.

HOLTZHEIMER, P.E.; NUMEROFF, C.B. Advances in the treatment of depression. **NeuroRx**, v. 3, n. 1, p. 42-56, 2006.

IZUTA, H.; SHIMAZAWA, M.; TAZAWA, S.; ARAKI, Y.; MISHIMA, S.; HARA, H. Protective effects of Chinese propolis and its component, chrysin, against neuronal cell death via inhibition of mitochondrial apoptosis pathway in SH-SY5Y cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 8944-8953, 2008.

KANDHARE, A.D.; SHIVAKUMAR, V.; RAJMANE, A.; GHOSH, P.; BODHANKAR, S.L. Evaluation of the neuroprotective effect of chrysin via modulation of endogenous biomarkers in a rat model of spinal cord injury. **Journal of Natural Medicines**, v. 68, p. 586-603, 2014.

KANG, M-K.; PARK, S-H.; CHOI, Y-J.; SHIN, D.; KANG, Y-H. Chrysin inhibits diabetic renal tubulointerstitial fibrosis through blocking epithelial to mesenchymal transition. **Journal of Molecular Medicine**, v. 93, p. 759-772, 2015.

KANG, S.S.; LEE, J.Y.; CHOI, Y.K.; KIM, G.S.; HAN, B.H. Neuroprotective effects of flavones on hydrogen peroxide-induced apoptosis in SH-SY5Y neuroblastoma cells. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 14, p. 2261-2264, 2004.

KAO, Y-C.; ZHOU, C.; SHERMAN, M.; LAUGHTON, C. A.; CHEN, S. Molecular basis of the inhibition of human aromatase (estrogen synthetase) by flavone and isoflavone phytoestrogens: a site-directed mutagenesis study. **Environ Health Perspect**, v. 106, n. 2, p. 85-92, 1998.

KIM, C.H.; WALDMAN, I.D.; BLAKELY, R.D.; KIM, K.S. Functional gene variation in the human norepinephrine transporter: association with attention deficit hyperactivity disorder. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1129, p. 256-60, 2008.

KORNHUBER, J.; REICHEL, M.; TRIPAL, P.; GROEMER, T. W.; HENKEL, A. W.; MUHLE, C.; GULBINS, E. The role of ceramide in major depressive disorder. **European Archives of Psychiatry and Clinical Neurosciences**, v. 259, n. 2, p. 199-204, 2009.

LAFER, B.; VALLADA-FILHO, H.P. Genética e fisiopatologia dos transtornos depressivos. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 21, n. 1, p. 12-17, 1999.

LAZARUS J.H. The effects of lithium therapy on thyroid a thyrotropin-releasing hormone. **Thyroid**, v. 8, n. 10, p. 909-913, 1998.

LI, X.; WANG, J-N.; HUANG, J-M.; XIONG, X-K.; CHEN, M-F.; ONG, C-N.; SHEN, H-M.; YANG, X-F. Chrysin promotes tumor necrosis factor (TNF)-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) induced apoptosis in human cancer cell lines. **Toxicology in Vitro**, v. 25, p. 630-635, 2011.

LIRDPRAPAMONGKOL, K.; SAKURAI, H.; ABDELHAMED, S.; YOKOYAMA, S.; MARUYAMA, T.; ATHIKOMKULCHAI, S.; VIRIYAROJ, A.; AWALE, S.; YAGITA, H.; RUCHIRAWAT, S.; SVASTI, J.; SAIKI, I. A flavonoid chrysin suppresses hypoxic survival and metastatic growth of mouse breast cancer cells. **Oncology Reports**, v. 30, p. 2357-2364, 2013.

MACHALA, M.; KUBINOVA, R.; SUCHY, V. Chemoprotective potentials of homoisoflavonoids and chalcones of *Dracaena cinnabari*: modulations of drug metabolizing enzymes and antioxidant activity. **Phytotherapy Research**, v. 15, n. 2, p. 114–118, 2001.

MEDINA, J.H.; PALADINI, A.C.; WOLFMAN, C.; LEVI DE STEIN, M.; CALVO, D.; DIAZ, L.E.; PENA, C. Chrysin (5,7-di-OH-flavone), a naturally-occurring ligand for benzodiazepine receptors, with anticonvulsant properties. **Biochemical Pharmacology**, v. 40, p. 2227-2231, 1990.

MILLAN, M. J. The role of monoamines in the actions of established and "novel" antidepressant. **European Journal of Pharmacology**, v. 500, n. 1-3, p. 371 -384, 2004.

MORGANTI, S.; CEDA, G.P.; SACCANI, M.; MILLI, B.; UGOLOTTI, D.; PRAMPOLINI, R.; MAGGIO, M.; VALENTI, G.; CERESINI, G. Thyroid disease in the elderly: sex-related differences in clinical expression. **Journal of Endocrinological Investigation**, v. 28, n. 11, p. 101-104, 2005.

NABAVI, S.F.; BRAIDY, N.; HABTEMARIAM, S.; ORHAN, I.E.; DAGLIA, M.; MANAYI, A.; GORTZI, O.; NABAVI, S.M. Neuroprotective effects of chrysin: From

chemistry to medicine. **Neurochemistry International**, v. 90, p. 224-231, 2015.

NEMEROFF, C. B. The burden of severe depression: A review of diagnostic challenges and treatment alternatives. **Journal of Psychiatric Research**, v. 41, p. 189-206, 2007.

NOREEN, H.; YABUKI, Y.; FUKUNAGA, K. Novel spiroimidazopyridine derivative SAK3 improves methimazole-induced cognitive deficits in mice. **Neurochemistry International**, 2017. doi: 10.1016/j.neuint.2017.03.001.

NUNES, M.T. Hormônios tiroideanos: mecanismo de ação e importância biológica. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 47, n.6, 2003.

O'LEARY, O. F.; BECHTHOLT, A. J.; CROWLEY, J. J.; HILL, T. E.; PAGE, M. E.; LUCKI, I. Depletion of serotonin and catecholamines block the acute behavioral response to different classes of antidepressant drugs in the mouse tail suspension test. **Psychopharmacology**, v. 192, p. 357-71, 2007.

ONCU, M.; KANTER, M.; GOKCIMEN, A.; KAVAKLI, D.; ONCU, M.; URAL, M.; KARAOZ, E. Effect of thyroidectomy on the histology of rat sublingual gland. **APMIS**, v. 112, p. 119-122, 2004.

ORTIGA-CARVALHO, T.M.; CHIAMOLERA, M.I.; PAZOS-MOURA, C.C.; WONDISFORD, F.E. Hypothalamus-Pituitary-Thyroid Axis. **Comprehensive Physiology**, v. 13, n. 6, p. 1387-1428, 2016.

OSTERWEIL, D.; SYNDULKO, K.; COHEN, S.N.; PETTLER-JENNINGS, P.D.; HERSHMAN, J.M.; CUMMINGS, J.L.; TOURTELLOTTE, W.W.; SOLOMON, D.H. Cognitive function in non-demented older adults with hypothyroidism. **Journal American Geriatrics Society**, v. 40, n. 4, p. 325-335, 1992.

PEARCE, F.L.; BEFUS, A.D.; BIENENSTOCK, J. Mucosal mast cells: III. Effect of quercetin and other flavonoids on antigen-induced histamine secretion from rat intestinal mast cells. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 73, n. 6, p. 819-823, 1984.

PEROVIĆ, B.; JOVANOVIĆ, M.; MILJKOVIĆ, B.; VEZMAR, S. Getting the balance right: Established and emerging therapies for major depressive disorders. **Neuropsychiatric Disease Treatment**, v. 6, n. 1, p. 343-64, 2010.

PICHICHERO, E.; CICCONI, R.; MATTEI, M.; CANINI, A. Chrysin-induced apoptosis is mediated through p38 and Bax activation in B16-F1 and A375 melanoma cells. **International Journal of Oncology**, v. 38, p. 473-83, 2011.

PLACIDI, G.P.A.; BOLDRINI, M.; PATRONELLI, A.; FIORE, E.; CHIOVATO, L.; PERUGI, G.; MARAZZITI, D. Prevalence of psychiatric disorders in thyroid diseased patients. **Neuropsychobiology**, v. 38, p. 222-225, 1998.

PURVES, D.; AUGUSTINE, G.J.; FITZPATRICK, D.; KATZ, L.C.; LAMANTIA, A-S.; MCNAMARA, J.O.; WILLIAMS, S.M. **Neuroscience**. 2. ed. Chemical Synapses Sunderland (MA): Sinauer Associates, 2001.

PUSHPAVALLI, G.; KALAIARASI, P.; VEERAMANI, C.; PUGALENDI, K. V. Effect of chrysin on hepatoprotective and antioxidant status in D-galactosamine-induced hepatitis in rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 631, p. 36-41, 2010.

RANG, H.P.; RITTER, J.M. **Rang & Dale's Pharmacology**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.

RUSSO, P.; DEL BUFALO, A.; CESARIO, A. Flavonoids acting on DNA topoisomerases: recent advances and future perspectives in cancer therapy. **Current Medicinal Chemistry**, v. 19, p. 5287-5293, 2012.

SALADIN, K. **Anatomy & physiology: The unity of form and function**. 3. ed. New York: McGraw-Hill, 2003.

SALA-ROCA, J.; ESTEBANEZ-PERPINA, E.; BALADA, F.; GARAU, A.; MARTÍ-CARBONELL, M.A. Effects of adult dysthyroidism on the morphology of hippocampal neurons. **Behavioural Brain Research**, v. 188, p. 348-354, 2008.

SAPOLSKY, R. M. Stress, glucocorticoids, and damage to the nervous system: The current state of confusion. **Stress**, v. 1, p. 1 –19, 1996.

SAPOLSKY, R.M. The possibility of neurotoxicity in the hippocampus in major depression: a primer on neuron death. **Biological Psychiatry**, v.48, p. 755-765, 2000.

SAPOLSKY, R.M. **Why zebras don't get ulcers**. 3. ed. New York, NY: Henry Holt and Company, 2004.

SCHILDKRAUT, J.J. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. **The American Journal of Psychiatry**, v. 122, n. 5, p. 609-622, 1965.

SHANKMAN, S. A.; NELSON, B. D.; HARROW, M.; FAULL, R. Does physical anhedonia play a role in depression? A 20-year longitudinal study. **Journal of Affective Disorders**, v. 120, p. 170-176, 2010

SINHA, R.A.; KHARE, P.; RAI, R.; MAURYA, S.K.; PATHAK, A.; MOHAN, M.; NAGAR, G.K.; MUDIAM, M.K.R.; GODBOLE, M.M.; BANDYOPADHYAY, S. Anti-apoptotic role of omega-3-fatty acids in developing brain: perinatal hypothyroid rat cerebellum as apoptotic model. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 27, p. 377-383, 2009.

SOARES, J.C.C.; CASTRO, M.P.R. Como Diagnosticar e Tratar o Hipotireoidismo. **Moreira Jr editora Lilacs**, p. 118-123, 2008.

SOUZA, L.C.; ANTUNES, M.S.; FILHO, C.B.; DEL FABBRO, L.; GOMES, M.G.; GOES, A.T.; DONATO, F.; PRIGOL, M.; BOEIRA, S.P.; JESSE, C.R. Flavonoid chrysin prevents age-related cognitive decline via attenuation of oxidative stress and modulation of BDNF levels in aged mouse brain. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 134, p. 22-30, 2015.

STATHATOS, N. Thyroid physiology. **Medical Clinics of North America**, v. 96, p. 165–173, 2012.

STHON, J.P.; MARTINEZ, M.E.; HERNANDEZ, A. Decreased anxiety- and depression-like behaviors and hyperactivity in a type 3 deiodinase-deficient mouse showing brain thyrotoxicosis and peripheral hypothyroidism. **Psychoneuroendocrinology**, v. 74, p. 46-56, 2016.

STOICA, G.; LUNGU, G.; XIE, X.; ABBOTT, L.C.; STOICA, H.M.; JAQUES, J.T. Inherited tertiary hypothyroidism in Sprague-Dawley rats. **Brain Research**, v. 1148, p. 205-216, 2007.

SUN, L-P.; CHEN, A-L.; HUNG, H-C.; CHIEN, Y-H.; HUANG, J-S.; HUANG, C-Y.; CHEN, Y-W.; CHEN, C-N. Chrysin: a histone deacetylase 8 inhibitor with anticancer activity and a suitable candidate for the standardization of Chinese propolis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 11748-11758, 2012.

TAUROG A. **Hormone synthesis: thyroid iodine metabolism.** In: BRAVERMAN, L.E.; COOPER, D.S. Werner and Ingbar's the thyroid: A fundamental and Clinical Text. 8. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000.

TAYLOR, C.; FRICKER, A. D.; DEVI, L. A.; GOMES, I. Mechanisms of action of antidepressants: from neurotransmitter systems to signaling pathways. **Cellular Signalling**, v. 17, p. 549-557, 2005.

TESTAI, L.; MARTELLI, A.; CRISTOFARO, M.; BRESCHI, M.C.; CALDERONE, V. Cardioprotective effects of different flavonoids against myocardial ischaemia/reperfusion injury in Langendorff-perfused rat hearts. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 65, p. 750-756, 2013.

TIAN, S-S.; JIANG, F-S.; ZHANG, K.; ZHU, X-X.; JIN, B.; LU, J-J.; DING, Z-S. Flavonoids from the leaves of *Carya cathayensis* Sarg. inhibit vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis. **Fitoterapia**, v. 92, p. 34-40, 2014.

VAN BOXTEL, M.P.; MENHEERE, P.P.C.A.; BEKERS, O.; HOGERVORST, E.; JOLLES, J. Thyroid function, depressed mood, and cognitive performance in older individuals: the Maastricht Aging Study. **Psychoneuroendocrinology**, v. 29, p. 891-898, 2004.

VAN DER FELTZ-CORNELIS, C. M.; NUYEN, J.; STOOP, C.; CHAN, J.; JACOBSON, A. M.; KATON, W.; SNOEK, F.; SARTORIUS, N. Effect of interventions for major depressive disorder and significant depressive symptoms in patients with diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. **General Hospital Psychiatry**, v. 32, p. 380-395, 2010.

VILLAR, I. C.; JIMENOZ, R.; GALISTEO, M.; GARCIO-SAURA, M. F.; ZARZUELO, A.; DUARTE, J. Effect of chronic chrysin treatment in spontaneously hypertensive rats. **Planta Medica**, v. 68, p. 845-7, 2002.

WADIBHASME, P.G.; GHASIAS, M.M.; THAKURDESAI, P.A. Anti-asthmatic potential of chrysin on ovalbumin-induced bronchoalveolar hyperresponsiveness in rats. **Pharmaceutical Biology**, v. 49, p. 508-515, 2011.

WHITE, S. S. Hypothyroidism. In: (Ed.). **Thyroid Disease: Understanding Hypothyroidism and Hyperthyroidism.** Harvard Health Publications, 2010.

WILCOXON, J.S.; Nadolski, G.J.; Samarut, J.; Chassande, O.; Redei, E.E. Behavioral inhibition and impaired spatial learning and memory in hypothyroidism mice lacking thyroid hormone receptor α . **Behavioral Brain Research**, v. 177, p. 109-116, 2007.

WILLIAMS, C.A.; HARBORNE, J.B.; NEWMAN, M.; GREENHAM, J.; EAGLES, J. Chrysin and other leaf exudate flavonoids in the genus *Pelargonium*. **Phytochemistry**, v. 46, n. 8, p. 1349-1353, 1997.

WOLFMAN, C.; VIOLAH, P.A.; DAJAS, F.; MEDINA, J.H. Possible anxiolytic effects of chrysin, a central benzodiazepine receptor ligand isolated from *Passiflora coerulea*. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 47, p. 1-4, 1994.

WONG, M.; LICINIO, J. Research and treatment approaches to depression. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 2, p. 343-351, 2001.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Depression and Other Common Mental Disorders Global Health Estimates. **Printed by the WHO Document Production Services**, Geneva, Switzerland, p. 1-24, 2017.

XIAO, J.; ZHAI, H.; YAO, Y.; WANG, C.; JIANG, W.; ZHANG, C.; SIMARD, A.R.; ZHANG, R.; HAO, J. Chrysin attenuates experimental autoimmune neuritis by suppressing immune-inflammatory responses. **Neuroscience**, v. 262, p. 156-164, 2014.

YAO, L.H.; JIANG, Y.M.; SHI, J.; TOMÁS-BARBERÁN, F.A.; DATTA, N.; SINGANUSONG, R.; CHEN, S.S. Flavonoids in food and their health benefits. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 59, p. 113-122, 2004.

ZARZECKI, M.S.; ARAUJO, S.M.; BORTOLOTTI, V.C.; PAULA, M.T.; JESSE, C.R., PRIGOL, M. Hypolipidemic action of chrysin on Triton WR-1339-induced hyperlipidemia in female C57BL/6 mice. **Toxicology Reports**, v. 1, p. 200-208, 2014.

ZENG, W.; YAN, Y.; ZHANG, F.; ZHANG, C.; LIANG, W. Chrysin promotes osteogenic differentiation via ERK/MAPK activation. **Protein & Cell**, v. 4, p. 539-547, 2013.

ZHANG, L.; BLOMGREN, K.; KUHN, H.G.; COOPER-KUHN, C.M. Effects of postnatal thyroid hormone deficiency on neurogenesis in the juvenile and adult rat. **Neurobiology of Disease**, v. 34, p. 366-374, 2009.

9 ANEXO

Protocolo de aprovação do projeto pelo CEUA-UNIPAMPA



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA
(Lei nº 11.640, de 11 de janeiro de 2008)

Pró-Reitoria de Pesquisa

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA

Fone: (55) 3413 4321, E-mail: ceua@unipampa.edu.br

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DE PROTOCOLO PARA USO DE ANIMAIS EM PESQUISA

Número de protocolo da CEUA: **027/2016**

Título: **Investigação da ação protetora do flavonóide Crisina sobre alterações comportamentais, neuroquímicas e bioquímicas em um modelo de hipotireoidismo induzido por metimazol em camundongos fêmeas**

Data da aprovação: **13.09.2016**

Período de vigência do projeto: 30.12.2017

Pesquisador: Marina Prigol

Campus: **Itaqui**

Telefone: 55 3433 1669

E-mail: marinaprigol@unipampa.edu.br

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Vanusa Manfredini', is written on a light-colored rectangular background.

Prof. Dr. Vanusa Manfredini
Coordenadora CEUA/UNIPAMPA