



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE MORFOLOGIA E FISIOLOGIA ANIMAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL**

YURI MATEUS LIMA DE ALBUQUERQUE

**ANÁLISE MORFOMÉTRICA E IMUNOHISTOQUÍMICA DAS GÔNADAS DA
PROLE DE MATRIZES INDUZIDAS AO HIPOTIREOIDISMO E TRATADAS COM
MELATONINA**

RECIFE

2019

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL**

YURI MATEUS LIMA DE ALBUQUERQUE

Análise morfométrica e imunohistoquímica das gônadas da prole de matrizes induzidas ao hipotireoidismo e tratadas com melatonina.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito para obtenção do título de Mestre em Biociência Animal. Área de Morfofisiologia.

Orientador:

Prof. Dr. Álvaro Aguiar Coelho Teixeira

Co-orientadora:

Prof.^a Dr.^a Valéria Wanderley Teixeira

RECIFE

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca central, Recife-PE, Brasil

A345a Albuquerque, Yuri Mateus Lima de
Análise morfométrica e imunohistoquímica das gônadas da prole
de matrizes induzidas ao hipotireoidismo e tratadas com melatonina /
Yuri Mateus Lima de Albuquerque. – 2019.
69 f. : il.

Orientador(a): Álvaro Aguiar Coelho Teixeira.
Coorientador(a): Valéria Wanderley Teixeira.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de
Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em biociência animal,
Recife, BR-PE, 2019.
Inclui referências.

1. Doença animal 2. Prenhez 3. Glândula tireóide - Doenças
4. Feto - Desenvolvimento 5. Imunohistoquímica I. Teixeira, Álvaro
Aguiar Coelho, orient. II. Teixeira, Valéria Wanderley, coorient. III.
Título

CDD 636.089

YURI MATEUS LIMA DE ALBUQUERQUE

**ANÁLISE MORFOMÉTRICA E IMUNOHISTOQUÍMICA DAS GÔNADAS DA
PROLE DE MATRIZES INDUZIDAS AO HIPOTIREOIDISMO E TRATADAS COM
MELATONINA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito para obtenção do título de Mestre em Biociência Animal. Área de Morfofisiologia.

18 de Janeiro de 2019

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Álvaro Aguiar Coelho Teixeira (Orientador) – UFRPE

Prof^a. Dr^a. Valéria Wanderley Teixeira – UFRPE

Prof. Dr. Francisco de Assis Leite Souza – UFRPE

Prof^a. Dr^a. Welma Emídio da Silva - FIS

**RECIFE
2019**

DEDICATÓRIA

Aos meus avós,

Auda e Edivan Albuquerque.

"I can't win, I can't reign. I would never win this game without you".

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que me proporcionou a oportunidade de executar tudo que executei, me mostrando que tudo tem seu tempo e pode ser alcançado com dedicação e por colocar todas as pessoas, que posteriormente serão citadas, na minha vida.

Aos meus avós, Auda e Edivan Albuquerque, por absolutamente tudo. Por serem as bases de todo o meu ser, pela dedicação, paciência, esforço e todos os ensinamentos ao longo dos anos. Por serem exemplos de caráter e integridade. Meu amor por vocês é inefável e por mais que eu escreva, jamais poderei dar uma boa descrição.

Às minhas tias, Isabel Andrade e Daniela Albuquerque, por todo o companheirismo, dicas e ensinamentos. Por sempre me guiarem e ajudarem em todos os momentos da minha vida. Agradeço também às minhas irmãs, Dandara e Letícia, minhas tias Rosa Albuquerque e Eliana Albuquerque, bem como a todos os outros membros da minha família que influenciaram e ajudaram na minha vida, acadêmica ou pessoal.

Aos meus orientadores, os professores Álvaro Teixeira e Valéria Wanderley Teixeira, por me darem a oportunidade de estagiar no seu laboratório, bem como orientação e confiança ao longo dos anos. Obrigado por todo o ensinamento na vida acadêmica e científica, e por serem exemplos de a serem seguidos.

À Edna Barros, a melhor técnica de Histologia que já conheci e uma das melhores amigas que eu poderia pedir. Obrigado pela paciência e dedicação em me ensinar praticamente tudo que eu sei de técnicas Histológicas quando eu era apenas um calouro. Serás para sempre minha madrinha na Histologia.

À Priscila Oliveira, minha principal companheira, meus sinceros agradecimentos. Se Edna me ensinou praticamente tudo, tu aprendeste junto comigo. Por todo o aprendizado e estímulo compartilhado, por todos os momentos divididos e compreensão que só nós temos.

Às minhas amigas da graduação, Camila Amaral, Marina Baptista, Marcela Vieira e Ana Ferreira, por dividirem comigo além dos anos da graduação, os anos do

Mestrado, mesmo estando em Programas ou Estados diferentes, me proporcionando grandes momentos de aprendizado e descontração.

Aos amigos Bruna Rocha, Letícia Serrano, Eduarda Batista, Luís Guilherme, Jéssica Bernardi e Lorena Aires, por serem excelentes amigos, sempre procurando ajudar como podem. Obrigado por todos os momentos de aprendizado, descontração e companheirismo ao longo desses dois anos.

Aos companheiros de laboratório de Histologia, Aline Mariano, Clóvis Lapa Neto, Érique Ricardo, Ismaela Ferreira, Matheus Castro, Rebeka Alves, Ana Cláudia e Bárbara Brooklyn, mas em especial a Cintia Ferreira e Carolline Guimarães, por toda a incansável ajuda e conhecimentos compartilhados. Só nós sabemos os momentos de aprendizado, loucura e companheirismo que vivemos dentro do nosso laboratório, por isso, meu muito obrigado a todos.

A todos os professores, que contribuíram para minha formação, e para a conclusão de mais uma fase, em especial ao professor Joaquim Evêncio Neto (UFRPE), por ter me acolhido em seu laboratório e dado a oportunidade de aprender quando eu era apenas um calouro, ao professor Luis Chiriboga (NYU/EUA) por ter me dado a oportunidade incrível de estagiar em seu Laboratório de Imunohistoquímica e às professoras Graciela Jahn e María Hapón (IMBECU-CONICET) por toda a disponibilidade em me ajudar sempre que precisei, respondendo questões essenciais para a escrita desta dissertação.

Aos bioteristas Renata e André por terem me auxiliado durante todo o meu projeto, estando sempre disponíveis para facilitar o desenvolvimento do mesmo.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco, em especial ao Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal e à Área de Histologia por fornecerem as instalações para a realização deste trabalho, e à FACEPE, pelo apoio financeiro.

Obrigado a todos!

RESUMO

O desenvolvimento fetal é vulnerável a complicações originadas pelo hipotireoidismo na gestação, levando à uma taxa elevada de abortos, partos prematuros e alteração no peso. A melatonina é um hormônio que está intimamente relacionado à manutenção da gestação, além de regular a fisiologia tireoidiana. Nosso objetivo foi investigar o efeito da ação da melatonina, na dose 10mg/kg, em ratas induzidas ao hipotireoidismo durante a gestação, bem como nas gônadas da sua prole. Foram utilizadas 15 ratas prenhes, divididas em 3 grupos: **GC**: ratas sem indução ao hipotireoidismo; **GH**: ratas induzidas ao hipotireoidismo; **GHM**: ratas induzidas ao hipotireoidismo e tratadas com melatonina. O hipotireoidismo foi induzido pela administração oral de propiltiouracil (1mg/animal) e a melatonina foi administrada via subcutânea (10mg/kg). Ambos os tratamentos foram realizados durante a gestação e lactação. Foram coletadas as gônadas dos filhotes para análise morfométrica e imunohistoquímica de proliferação celular e as tireóides dos filhotes e matrizes para análise morfométrica. Os resultados mostraram que a dosagem de TSH confirmou o hipotireoidismo nas matrizes do grupo sem tratamento, onde houve uma redução significativa ($p < 0,05$) quando comparados com os grupos controle e tratado com melatonina. Já nos filhotes, não houve diferença significativa ($p > 0,05$) nos níveis de TSH entre os grupos. O peso dos ovários, tireóides e o número de filhotes das matrizes com hipotireoidismo apresentaram redução significativa ($p < 0,05$) quando comparados aos demais grupos. Da mesma forma na tireóide houve diminuição ($p < 0,05$) do diâmetro folicular, da altura e proporção epitelial no grupo hipotireoidético. Já o ganho de peso corporal mostrou uma redução significativa ($p < 0,05$) do grupo hipotireoidético quando comparado ao grupo controle, porém o grupo tratado com melatonina não diferiu de nenhum dos grupos. A prole das matrizes do grupo hipotireoidismo apresentou redução significativa ($p < 0,05$) do peso corporal, peso das gônadas e da tireóide, além do índice de proliferação celular das gônadas, quando comparados aos filhotes dos grupos controle e hipotireoidismo tratado com melatonina. Diante dos resultados, pode-se concluir que o tratamento com melatonina se mostrou benéfico para prevenir os efeitos do hipotireoidismo materno na prole de ratos, reforçando sua capacidade de regular a organogênese durante a gestação.

Palavras-chaves: tireóide, pineal, gestação, gônadas, morfometria, PCNA, ratos.

ABSTRACT

Fetal development is vulnerable to complications of hypothyroidism in pregnancy, leading to a high rate of miscarriages, premature births, and weight changes. Melatonin is a hormone that is closely related to the maintenance of gestation, in addition to regulating thyroid physiology. Our objective was to investigate the effect of the action of melatonin at 10 mg / kg in rats induced hypothyroidism during gestation, as well as in the gonads of their offspring. Fifteen pregnant rats were used, divided into 3 groups: GC: rats without induction to hypothyroidism; GH: rats induced hypothyroidism; GHM: rats induced hypothyroidism and treated with melatonin. Hypothyroidism was induced by oral administration of propylthiouracil (1mg / animal) and melatonin was administered subcutaneously (10mg / kg). Both treatments were performed during gestation and lactation. The gonads of the pups were collected for morphometric analysis and immunohistochemistry of cell proliferation and the thyroids of pups and matrices for morphometric analysis. The results showed that TSH dosing confirmed hypothyroidism in the matrices of the untreated group, where there was a significant reduction ($p < 0.05$) when compared to the control and treated groups with melatonin. In the pups, there was no significant difference ($p > 0.05$) in TSH levels between groups. The weight of the ovaries, thyroids and the number of pups of the matrices with hypothyroidism presented a significant reduction ($p < 0.05$) when compared to the other groups. Similarly in the thyroid, there was a decrease ($p < 0.05$) in follicular diameter, height and epithelial proportion in the hypothyroid group. Body weight gain, however, showed a significant reduction ($p < 0.05$) in the hypothyroid group when compared to the control group, but the melatonin group did not differ from any of the groups. The offspring of the matrices of the hypothyroid group showed a significant ($p < 0.05$) reduction in body weight, gonads and thyroid weight, as well as the gonad cell proliferation index, when compared to controls and hypothalamus groups treated with melatonin. In view of the results, it can be concluded that the treatment with melatonin proved to be beneficial to prevent the effects of maternal hypothyroidism on the offspring of rats, reinforcing their ability to regulate organogenesis during gestation.

Keywords: thyroid, pineal, pregnancy, gonads, morphometry, PCNA, rats.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I

| | |
|--------------------------------------|----|
| 1 INTRODUÇÃO | 13 |
| 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... | 15 |
| 2.1 Tireóide | 15 |
| 2.2 Hipotireoidismo | 16 |
| 2.3 Hipotireoidismo e Gestação | 18 |
| 2.4 Embriologia Gonadal..... | 20 |
| 2.5 Melatonina..... | 22 |
| 2.6 Melatonina e Gônadas..... | 25 |
| 2.7 Melatonina e Tireóide..... | 26 |
| 2.8 Hipotireoidismo e gônadas..... | 27 |
| 3 OBJETIVOS | 28 |
| 4 REFERÊNCIAS..... | 29 |

CAPÍTULO II

| | |
|---|----|
| 1 Efeito da melatonina sobre ratas prenhes induzidas ao hipotireoidismo e seu reflexo sobre as gônadas da prole | 40 |
| 2 Resumo | 41 |
| 3 Abstract | 42 |
| 4 Introdução | 43 |
| 5 Material e Métodos..... | 44 |
| 6 Resultados | 47 |
| 7 Discussão..... | 49 |
| 8 Conclusão | 52 |
| 9 Referências | 52 |

Lista de Figuras

- Figura 1.** Representação esquemática da biossíntese da melatonina.....23
- Figura 2** Níveis séricos do TSH nas matrizes dos grupos experimentais no 21^o dia de gestação. Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si de acordo com o teste de Wilcoxon-Mann-Whitney ($P<0,05$).....60
- Figura 3** Índice organossomático da tireóide das matrizes dos grupos experimentais. Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si de acordo com o teste de Wilcoxon-Mann-Whitney ($P<0,05$).....61
- Figura 4** Morfometria da tireóide das matrizes dos grupos experimentais. A – Diâmetro folicular; B – Altura do epitélio folicular; C – Proporção do epitélio folicular; D – Proporção do estroma e E – Proporção do colóide. Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si de acordo com o teste de Wilcoxon-Mann-Whitney($P<0,05$).....62
- Figura 5** Índice organossomático dos testículos dos filhotes com 30 dias de nascidos das matrizes dos grupos experimentais. Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si de acordo com o teste de Wilcoxon-Mann-Whitney ($P<0,05$).....65
- Figura 6** Índice organossomático dos ovários dos filhotes com 30 dias de nascidos das matrizes dos grupos experimentais. Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si de acordo com o teste de Wilcoxon-Mann-Whitney ($P<0,05$).....65
- Figura 7** Índice organossomático da tireóide dos filhotes com 30 dias de nascidos das matrizes dos grupos experimentais. Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si de acordo com o teste de Wilcoxon-Mann-Whitney ($P<0,05$).....66
- Figura 8** Imunohistoquímica para PCNA nos ovários dos filhotes com 30 dias de nascidos das matrizes dos grupos experimentais. A- B Controle; C – D Hipotireoidismo e E – F Hipotireoidismo + Mel.....67

Figura 9 Quantificação da marcação para o PCNA nos ovários dos filhotes com 30 dias de nascidos das matrizes dos grupos experimentais. Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si de acordo com o teste de Wilcoxon-Mann-Whitney ($P < 0,05$).....68

Figura 10 Imunohistoquímica para PCNA nos testículos dos filhotes com 30 dias de nascidos das matrizes dos grupos experimentais. A- Controle; B – Hipotireoidismo; C – Hipotireoidismo + Mel e D - Quantificação da marcação para o PCNA. Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si de acordo com o teste de Wilcoxon-Mann-Whitney ($P < 0,05$).....69

Lista de Tabelas

Tabela 1: Média e desvio padrão do ganho de peso corporal, número de filhotes, peso dos ovários e da tireóide das matrizes dos grupos experimentais.....60

Tabela 2: Média e desvio padrão do peso corpóreo, das gônadas e tireóide dos filhotes das matrizes dos grupos experimentais.....63

Tabela 3: Média e desvio padrão do número de células de Sertoli, de Leydig, percentual do epitélio, estroma e lúmen nos testículos dos filhotes com 30 dias de nascidos das matrizes dos grupos experimentais.....64

Tabela 4: Média e desvio padrão do número de folículos primários, secundários e percentual do estroma nos ovários dos filhotes com 30 dias de nascidos das matrizes dos grupos experimentais.....64

1 INTRODUÇÃO

De acordo com a OMS (Organização Mundial de Saúde), distúrbios tireoidianos decorrentes da deficiência de iodo afetam cerca de 740 milhões de pessoas no mundo (ABALOVICH et al., 2007). O hipotireoidismo é uma disfunção tireoidiana, caracterizado pelo hipometabolismo da glândula, podendo ser identificado quando os níveis séricos de T3 e T4 estão reduzidos ou fisiologicamente normais, e o nível de TSH encontra-se elevado (WELSH & SOLDIN, 2016; FELDT-RASMUSSEN & KLOSE, 2016; SHIZUMA, 2016). Essa condição está associada ao decréscimo da taxa metabólica e da termogênese, estando também correlacionada com um aumento no índice de massa corporal (IMC) e obesidade (YIM, 2016). Tais distúrbios ocorrem principalmente em mulheres adultas e em fase reprodutiva, com prevalência em 2% da população feminina mundial (HÁPON et al., 2010), tendo repercussões profundas na gestação e formação fetal (MACIEL & MAGALHÃES, 2008).

Durante o período gestacional, a tireóide é estimulada inicialmente por concentrações elevadas de gonadotrofina coriônica (hCG), assim, manter o eutireoidismo materno durante a gravidez e lactação é fundamental para o crescimento e desenvolvimento fetal (MACIEL & MAGALHÃES, 2008) uma vez que os hormônios produzidos por esta glândula estão envolvidos na formação de diversos órgãos, como a pele (AMERION et al., 2012), cérebro (ESCOBAR et al., 2004) e gônadas (WAGNER et al., 2008) dos fetos. É relatado que o hipotireoidismo está associado à diversas anormalidades menstruais, à anovulação e hiperprolactinemia (SANYAL & RAYCHAUDHURY, 2016), resultando em uma taxa elevada de abortos, partos prematuros, ruptura placentar e deficiências neonatais relacionadas ao peso (AMERION et al., 2012).

Além disso, estudos prévios mostraram que o hipotireoidismo pode afetar tanto a morfologia ovariana (quantidade de folículos ovarianos), como a testicular (alterações na relação epitélio testicular-lúmen) (BUZZARD et al., 2000; MENG et al., 2017). Associado as alterações morfológicas, o hipotireoidismo pode causar uma diminuição na expressão de antígenos proliferativos em placentas e testículos de ratos (SILVA et al., 2012; FADLLALA et al., 2017).

32 Um hormônio que exerce função regulatória na fisiologia tireoidiana é a melatonina,
33 uma indolamina sintetizada principalmente através da glândula pineal, obedecendo a
34 um ritmo circadiano, sendo também produzida em diversos locais, como a retina, rins,
35 fígado, tireóide, ovários e testículos (ACUNÃ-CASTROVIEJO et al, 2014; BLASIAK et
36 al., 2016). Ela também é conhecida por modular o ciclo estral e a gravidez (MAGANHIN
37 et al., 2013), estando intimamente relacionada à manutenção da gestação e a proteção
38 antioxidante para o embrião (TAMURA et al., 2014).

39 É comprovado que o hipotireoidismo leva à uma diminuição significativa nos
40 níveis de melatonina no plasma, quando roedores induzidos ao mesmo são
41 comparados a roedores saudáveis. Já ratos induzidos ao hipertireoidismo demonstraram
42 níveis maiores desta indolamina no plasma, sugerindo que há uma relação entre os
43 distúrbios tireoidianos e a glândula pineal (BELVIRANLI & BALTACI, 2008; BALTACI &
44 MOGULKOC, 2017; BALTACI & MOGULKOC, 2018). Além disso, Bondarenko e
45 colaboradores (2011), demonstraram que sinais de hipotireoidismo em ratas com
46 baixos níveis de melatonina devido a exposição à luz constante foram revertidos com a
47 sua aplicação exógena.

48 A presença de receptores de melatonina na glândula tireóide foi estudada por
49 Laskar et al. (2015) relatando que a aplicação exógena de melatonina aumentou os
50 níveis de T4 em ratas fêmeas. Seus resultados corroboraram com Skipor et al. (2010)
51 que observaram uma prevenção no decaimento dos níveis séricos de T3 e um controle
52 no decaimento nos níveis de T4.

53 Dessa forma, como as disfunções tireoidianas podem resultar em complicações
54 gestacionais, devido ao controle dos hormônios tireoidianos sobre a secreção de
55 hormônios envolvidos na manutenção da gravidez (HÁPON et al., 2010) e que a terapia
56 com melatonina exógena pode reverter os níveis dos hormônios tireoidianos em ratas
57 com hipotireoidismo (LASKAR et al., 2015) faz-se necessário investigar o efeito da
58 ação da melatonina em ratas induzidas ao hipotireoidismo durante a gestação, bem
59 como nas gônadas e tireóides da sua prole.

60

61 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

62

63 2.1 Tireóide

64

65 Na espécie humana, a glândula tireóide pesa em média 20 gramas, e em ratos,
66 40 miligramas. Compreende dois lóbulos e um istmo que os une. Além disso, o lobo
67 piramidal, que pode ser originado de um dos lóbulos ou do próprio istmo, e está
68 presente em 12-65% de tireóides (SOUKUP et al., 2001; AYADI et al., 2017;
69 KAKLAMANOS et al., 2017). Cada lóbulo mede 4-5 cm de altura, 2-3 cm de largura e
70 2-4 cm de espessura, os lóbulos são geralmente localizados entre o 1º e o 4º anel
71 traqueal. Lóbulos esquerdo e direito circundam parcialmente a traquéia. Na lateral há a
72 bainha carótida e o músculo esternocleidomastoideo (MENZILCIOGLU; DUYMUS;
73 AVCU, 2016).

74 A glândula tireoideana em humanos se desenvolve a partir da crista neural e da
75 faringe primitiva, assumindo sua posição ainda anexada ao ducto tiroglosso. A tireóide
76 é a uma das primeiras glândulas endócrinas a se tornarem ativas em humanos, sendo
77 composta por folículos tireoidianos, formados por células epiteliais cúbicas, os tireócitos
78 (MENZILCIOGLU; DUYMUS; AVCU, 2016). Os tireócitos possuem polaridade: a zona
79 basal se relaciona com o tecido conectivo intersticial, por onde passam os vasos e
80 nervos, enquanto o pólo apical aponta para a luz do folículo.

81 A tireóide, através do estímulo do TSH (hormônio estimulante da tireóide), tem
82 como função a síntese de tiroxina (T4) e triiodotironina (T3), hormônios com função
83 reguladora do metabolismo corporal, exercendo uma fundamental importância na
84 embriogênese (MENZILCIOGLU; DUYMUS; AVCU, 2016). Porém, diferente dos
85 humanos, nos quais os hormônios tireoidianos são secretados ainda no primeiro
86 trimestre de gestação (SMALLRIDGE & LENDENSON, 2001), em ratos o
87 desenvolvimento da tireóide é mais lento, se tornando ativo e produzindo os hormônios
88 tireoidianos por volta do 17º dia de gestação (CHOKSI et al., 2003), fazendo com que a
89 embriogênese dos fetos desses roedores seja dependente dos hormônios tireoidianos
90 maternos.

91 Após o nascimento, a tireóide e o eixo hipotálamo-hipófise-tireóide em ratos
92 estão imaturos quando comparado aos humanos. Durante os primeiros 21 dias pós-
93 natais, esta glândula cresce devido ao aumento na deposição de colóide e proliferação
94 das células foliculares, que se mantém constante desde o nascimento até o 21º dia de
95 vida, reduzindo após tal período (PARKER & PICUT, 2016).

96 Histologicamente, durante todo o período pós-natal dos ratos, os folículos
97 tireoidianos tendem a ser mais largos na periferia da glândula, representando uma
98 progressão na maturação dos folículos do centro para a periferia. A tireóide dos ratos
99 se torna completamente desenvolvida ao 21º dia pós-natal, porém se tornando
100 endocrinologicamente completa apenas no 28º dia pós-natal (PARKER & PICUT,
101 2016).

102 Em adição às células foliculares, a glândula tireóide contém as células C, que
103 produzem calcitonina. Tais células se tornam visíveis através de microscópio de luz por
104 volta do 21º dia pós-natal, tendo uma baixa atividade mitótica até o 42º dia pós-natal. É
105 reportado que desde o nascimento até o 120º dia pós-natal em ratos, o número de
106 células C aumenta nove vezes, tendo seu tamanho aumentado em até quatro vezes
107 (PARKER & PICUT, 2016).

108 Seu dimorfismo sexual em ratos se torna aparente por volta do 40º dia pós-natal,
109 no qual na glândula dos machos há menos colóide que nas fêmeas e suas células têm
110 vacúolos citoplasmáticos (PARKER & PICUT, 2016). Este dimorfismo é devido ao
111 epitélio folicular masculino sintetizar o hormônio andrógeno através do feedback do
112 TSH, onde os níveis deste hormônio são menores em ratos machos até o 21º dia pós-
113 natal (BANU et al., 2002).

114

115 **2.2 Hipotireoidismo**

116

117 O hipotireoidismo é uma disfunção tireoidiana comum, sendo caracterizado pelo
118 hipometabolismo da glândula, podendo ser identificado como hipotireoidismo aberto
119 quando os níveis séricos de T3 e T4 estão reduzidos, e o nível de TSH elevado
120 (WELSH & SOLDIN, 2016; FELDT-RASMUSSEN & KLOSE, 2016), ou como

121 hipotireoidismo subclínico quando os níveis séricos de T3 e T4 estão fisiologicamente
122 normais, e o nível de TSH encontra-se elevado (SHIZUMA, 2016).

123 Os distúrbios da tireóide representam um importante problema de saúde pública
124 em todo o mundo, seguindo o diabetes, como o distúrbio endocrinológico mais comum
125 observado na prática médica adulta e apresentando uma miríade de conseqüências
126 devastadoras se não for tratada com antecedência (VANDERPUMP, 2011). A
127 epidemiologia e as características clínicas da doença da tireóide são determinadas pelo
128 fornecimento de iodo, um elemento essencial na síntese de hormônios tireoidianos.
129 Além disso, variações excessivas nos níveis de iodo podem representar efeitos
130 adversos para a saúde (BROTFAIN et al., 2013), como o aumento ou decréscimo da
131 taxa metabólica e da termogênese, estando também correlacionada com um aumento
132 no índice de massa corporal (IMC) e obesidade (YIM, 2016).

133 A relação entre a TSH e T4 livre é tão sensível que uma pequena diminuição no
134 T4 livre pode resultar em um aumento no TSH sérico, elevando seu nível acima da
135 faixa de referência enquanto o nível T4 livre ainda está dentro dos padrões(SURKS et
136 al., 2004).O hipotireoidismo subclínico é um transtorno que ocorre mais freqüentemente
137 em mulheres, idosos e em áreas onde há uma maior ingestão de iodo. A taxa de
138 prevalência varia de 4 a 10% na população adulta, e se há uma ingestão aumentada de
139 iodo, é até 24% (BIONDI & COOPER, 2008; VANDERPUMP, 2011). Em 80% dos
140 pacientes com hipotireoidismo subclínico, há um número maior de anticorpos anti-
141 tireóides, o que significa que, na maioria dos casos, um processo autoimune está
142 presente causando tal condição (FATOURECHI, 2009).

143 O curso clínico de hipotireoidismo subclínico pode progredir na direção do
144 desenvolvimento do hipotireoidismo aberto, bem como na direção da normalização de
145 valores de TSH. Uma pesquisa estudou o curso clínico em 82 mulheres que
146 aumentaram os valores de TSH e mostraram que, após um período de 10 anos, 28%
147 desenvolveram hipotireoidismo aberto, 68% delas ainda apresentavam transtorno
148 subclínico, enquanto 4% deles atingiram a normalização dos níveis de TSH (HUBER et
149 al., 2002).

150 Diez e Iglesias (2004) examinou o curso natural do hipotireoidismo subclínico em
151 107 pacientes e mostrou que os pacientes com o transtorno leve (níveis de TSH de 5,0

152 a 9,9 mU/l) têm mais chances de ter valores de TSH normalizados em comparação
153 com pacientes cujo TSH é maior que 10,0 mU/l. Também foi demonstrado que o valor
154 do TSH foi o fator prognóstico mais importante para o diagnóstico do hipotireoidismo
155 subclínico (DIEZ & IGLESIAS, 2004).

156

157

158 **2.3 Hipotireoidismo e Gestação**

159

160 Como o desenvolvimento ovariano e placentário dependem da complexa
161 interação entre fatores endócrinos, parácrinos e autócrinos, as disfunções tireoidianas
162 comprometem a fertilidade, a gestação e o desenvolvimento fetal em humanos e
163 roedores (CHOKSI et al., 2003, HAPON; GAMARRA-LUCQUES; JAHN, 2010).

164 O T3 e o T4 agem no tecido ovariano e placentário modulando seu metabolismo
165 e desenvolvimento (GALTON et al., 2001; JAMES; FRANKLYN; KILBY, 2007).
166 Receptores específicos para T3 estão presentes no núcleo das células ovarianas, de
167 modo que esse hormônio pode ter efeito direto sobre esses tecidos (EVANS;
168 FARWELL; BRAVERMAN, 1983; MAURO et al., 1992). Já a placenta, além de
169 expressar receptores para os hormônios tireoidianos (LEONARD et al., 2001), acumula
170 e metaboliza a T3 e a T4 materna (CALVO; OBREGON; DEL-REY, 1992). Assim, as
171 disfunções da tireóide estão associadas a várias alterações morfofuncionais ovarianas
172 e placentárias com comprometimento da eficiência reprodutiva (CHOKSI et al., 2003).

173 O hipotireoidismo é comum em mulheres adultas e em fase reprodutiva, com
174 prevalência em 2% da população feminina mundial (HAPON; GAMARRA-LUCQUES;
175 JAHN, 2010); sendo a incidência de hipotireoidismo durante a gravidez calculada entre
176 0,3% 2,5% (IDRIS, 2005) e tendo repercussões profundas na gestação e formação
177 fetal (MACIEL & MAGALHÃES, 2008).

178 Durante a gestação, a tireóide é estimulada inicialmente por concentrações
179 elevadas de gonadotrofina coriônica humana (hCG), assim, manter o eutireoidismo
180 materno durante a gestação e lactação é fundamental para o crescimento e
181 desenvolvimento do feto (MACIEL & MAGALHÃES, 2008) uma vez que os hormônios
182 produzidos por esta glândula estão envolvidos na formação de órgãos, como a pele

183 (AMERION et al., 2013), cérebro (ESCOBAR; OBREGON; DEL-REY, 2004) e
184 testículos (WAGNER; WAJNER; MAIA. 2008) dos fetos. É relatado que o
185 hipotireoidismo está associado à diversas anormalidades menstruais, à anovulação e
186 hiperprolactinemia (SANYAL & RAYCHAUDHURY, 2016), resultando em uma taxa
187 elevada de abortos, partos prematuros, ruptura placentar e deficiências neonatais
188 relacionadas ao peso (AMERION et al., 2012).

189 Alterações adaptativas da tireóide materna ocorrem durante a gestação, em
190 resposta à necessidade de prover ao feto T3 e T4 até que o sistema hipotalâmico-
191 hipofisário-tireoidiano fetal esteja funcional. Para isso, a tireóide materna aumenta de
192 volume, bem como sua captação de iodeto (VERSLOOT et al., 1997). Além disso os
193 níveis de estrógeno estimulam a expressão da TBG (globulina ligadora de tiroxina) no
194 fígado e quase duplicam a sua concentração sérica. O aumento sérico de TBG ocorre
195 de forma concomitante ao aumento das concentrações séricas totais de T3 e T4
196 (KARABINAS & TOLIS, 1998).

197 A principal função de T3 é a de regular o metabolismo de carboidratos e
198 proteínas em todas as células. Assim, alterações no nível plasmático de T3 podem
199 afetar todos os órgãos e sistemas orgânicos, com efeitos importantes sobre os
200 sistemas cardiovascular, nervoso, imunológico e genital (CHOKSI et al., 2003).

201 O nível de T3, em roedores de laboratório, influencia no controle do ciclo estral,
202 no comportamento, na manutenção da gestação, no crescimento fetal e na lactação
203 (VASUDEVAN; OGAWA; PFAFF, 2002). As deiodinases, proteínas responsáveis pela
204 ativação dos hormônios tireoidianos, presentes na placenta humana e de roedores,
205 rapidamente metabolizam o T4 materno para o T3 que será utilizado pelo feto, sendo
206 uma quantidade significativa de T4 também transferida (CHAN & KILBY, 2000).

207 Hápon e colaboradores (2003) relataram que a gestação de ratas induzidas ao
208 hipotireoidismo é prolongada, durando cerca de 24 dias e gerando em média 9 filhotes
209 por gestação, número menor que a média do grupo controle, que normalmente são 12
210 filhotes. Além disso, ratas com baixos níveis dos hormônios tireoidianos exibem níveis
211 maiores de progesterona no final da gestação, bem como níveis menores de estrógeno
212 e ninhadas com menores pesos quando comparados aos dados de grupos controles
213 (HAPON et al., 2003). Outro efeito observado correlacionando esta disfunção com a

214 gestação é o prolongamento da função do corpo lúteo em ratas grávidas (HAPON et
215 al., 2007), onde há a redução da proliferação, apoptose e expressão de fatores
216 angiogênicos no corpo lúteo de ratas gestantes (SILVA; OCARINO; SERAKIDES,
217 2014).

218 Foi relatado que o hipotireoidismo induzido compromete as camadas da
219 placenta da rata, além de aumentar a população de células de glicogênio na camada
220 do espongiotrofoblasto em relação às células citotrofoblásticas e interfere no
221 desenvolvimento vascular do labirinto placentário, reduzindo assim a atividade
222 proliferativa e a celularidade e aumentando a taxa apoptótica das três camadas do
223 disco placentário (SILVA, 2011). Esta alteração morfológica causada por tal disfunção
224 pode ser a causa do baixo peso corporal das ninhadas de ratas induzidas ao
225 hipotireoidismo, isto por que o há a redução da área ocupada pelo capilar fetal no
226 labirinto placentário aos 14 dias de gestação, podendo ser insuficiente para estabelecer
227 trocas gasosas com sangue materno, causando o baixo peso fetal (SILVA et al., 2012).

228 Assim, um estado de hipotireoidismo clínico ou subclínico pode ser agravado
229 pelo estado grávido e a função adequada das glândulas mamárias pode ser
230 comprometida. O seu impacto na mãe e na prole é muito bem documentado e uma das
231 suas consequências mais acentuadas é o crescimento retardado e o atraso na
232 maturação do recém nascido que leva ao atraso mental e à altura subnormal. Embora a
233 maioria desses efeitos possa ser atribuída ao estado hipotireoidiano dos lactentes,
234 qualquer alteração no metabolismo materno que poderia levar à diminuição da
235 produção ou excreção do leite poderia complicar ainda mais o prognóstico da prole
236 (HAPON et al., 2008).

237

238 **2.4 Embriologia Gonadal**

239

240 O desenvolvimento das gônadas pode ser dividido em duas fases. A fase inicial
241 é caracterizada pelo surgimento da chamada gônada indiferente, bipotencial ou crista
242 genital, que é idêntica em machos e fêmeas. As linhas celulares que o compõem são
243 bipotenciais, sendo capazes de tornarem gônadas masculinas ou femininas. A segunda

244 fase é o desenvolvimento dos testículos ou ovários (WILHELM; PALMER; KOOPMAN,
245 2007).

246 As gônadas se desenvolvem a partir do mesoderma intermediário que está
247 situado nas cristas urogenitais longitudinais; a parte mais medial dessas cristas são as
248 cristas gonadais, ocorrendo durante a quinta semana de gestação em humanos e por
249 volta do 10º dia de gestação em ratos (ZAYED et al., 2007). Durante o desenvolvimento,
250 as células germinativas primordiais migram da parede do saco vitelino através do
251 mesentério dorsal do intestino grosso para ocupar as cristas gonadais. A chegada
252 dessas células induz as células nas cristas a formar cordas sexuais primitivas
253 (derivadas dos mesonefros e epitélio celômico sobrejacente). Nesta fase a gônada é
254 indiferenciada ao sexo e consiste de um córtex externo e uma medula interna. Se as
255 células germinativas não migrarem para as cristas gonadais, as gônadas não se
256 desenvolvem (MITCHELL & SHARMA, 2009).

257 Em embriões onde nenhum fator determinante de testículo é produzido, os
258 cordões sexuais primitivos se estendem para dentro da medula da gônada, degeneram
259 e formam um estroma vascular, resultando em um ovário (MITCHELL & SHARMA,
260 2009). A respeito do desenvolvimento ovariano, no DPN (dia pós-natal) 3, os folículos
261 primordiais, primários e secundários são aparentes, com um córtex periférico espesso
262 de folículos primordiais e um núcleo central de folículos primários e secundários. Em
263 nenhum outro momento no desenvolvimento do ovário é o folículo primordial a
264 característica mais proeminente. No DPN 10, os folículos antrais secundários e
265 precoces estão imaturos em comparação com os folículos do animal adulto em ciclo
266 estral ativo. Por volta do DPN 21, grandes folículos antrais podem ser vistos
267 ocasionalmente dentro da medula. Esses grandes folículos antrais na medula do ovário
268 infantil podem ser distinguidos dos folículos ovulatórios do ovário peripuberal e maduro,
269 uma vez que os folículos ovulatórios que eventualmente ovulam estão mais
270 comumente localizados no córtex ovariano externo. Já no DPN 30, a característica
271 morfológica mais aparente é a aparência do folículo ovulatório no córtex externo. Estes
272 folículos são de tamanho suficiente para a ovulação e têm um antro distendido e um
273 oócito primário revestido pela camada *cumulus oophorus* (PICUT et al., 2014; PICUT et
274 al., 2015).

275 Já em embriões onde o fator determinante de testículo é produzido, os cordões
276 sexuais primitivos proliferam e penetram na medula formando os cordões testiculares.
277 Algumas dessas células diferenciam-se em células de Sertoli, enquanto o restante
278 forma as células germinativas dos túbulos seminíferos. Os cordões testiculares
279 anastomosam-se para formar o *rete testis*, que se torna contínuo com 15 a 20 túbulos
280 mesonéfricos persistentes, os ductos eferentes. O fator determinante do testículo
281 também induz a diferenciação de células mesenquimais gonadais em células de Leydig
282 intersticiais (MITCHELL & SHARMA, 2009). Acredita-se que as células de Sertoli atuam
283 como o centro organizador da gônada masculina e orquestram a diferenciação de
284 todos os outros tipos de células (WILHELM; PALMER; KOOPMAN, 2007).

285 No DPN 3, os testículos consistem em túbulos revestidos por gonócitos e células
286 de Sertoli mitoticamente ativas. No DPN 15, as espermatogônias ainda estão
287 mitoticamente ativas e atingem a densidade máxima formando uma camada espessa
288 pseudo-estratificada com as células de Sertoli. A taxa mitótica na população de células
289 espermatogônias diminui em comparação com a do período infantil precoce (DPN 3), e
290 as espermatogônias apoptóticas estão presentes no centro dos túbulos. Já o período
291 entre os DPN 21 a 30 é caracterizado pela manutenção da primeira onda de
292 espermatogênese em espermátides arredondadas e, principalmente, por um aumento
293 significativo do diâmetro tubular (PICUT et al., 2015).

294

295 **2.5 Melatonina**

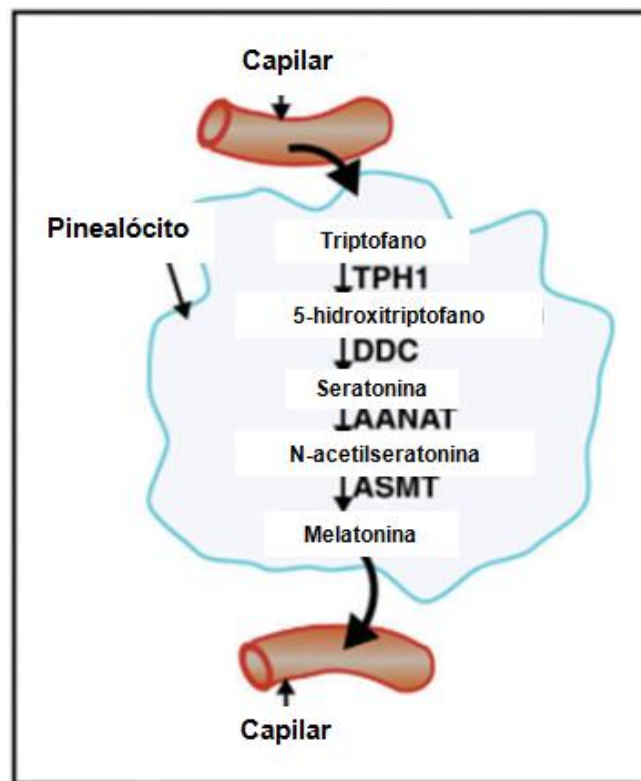
296

297 A glândula pineal produz e secreta o hormônio chamado melatonina, e outros
298 peptídeos ainda mal definidos, através da liberação de noradrenalina (NE) por fibras
299 nervosas intraparenquimatosas, onde esta liberação e a atividade da glândula pineal
300 são ativadas em ambiente escuro e inibidas pela luz (MAGANHIN et al., 2009;
301 JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2013). Também conhecida como N-acetil-5-
302 metoxitriptamina, a melatonina é derivada da serotonina que tem o aminoácido
303 triptofano como precursor, e é o principal produto sintetizado pela pineal, apresentando
304 uma alta solubilidade e uma coloração amarelo-claro. O seu transporte é realizado pelo

305 plasma conectado a proteínas como a albumina (SUMAYA et al., 2005; MAGANHIN et
306 al., 2008).

307 Durante a biossíntese da melatonina, o precursor inicial é o aminoácido
308 triptofano. Pinealócitos capturam triptofano do sangue e convertem em 5-
309 hidroxitriptofano (5-HTP) através da enzima triptofano hidroxilase (TPH). A enzima 5-
310 hidroxitriptofano descarboxilase (5-HTPD) remove o grupo alfa-carboxil terminal do 5-
311 HTP e o transforma em serotonina. Com níveis elevados durante o dia e decaindo à
312 noite, a serotonina, por sua vez, é convertida a N-acetilserotonina (NAS) através da N-
313 acetiltransferase (NAT), seguindo da metilação de tal molécula pela ação da enzima
314 hidroxindol-O-metiltransferase (HIOMT), catalisando a reação de conversão do NAS
315 em melatonina (MAGANHIN et al., 2008 ; TAMURA et al., 2009).

316 Fig 1. Biossíntese da melatonina.



332 Adaptado de: YELAMANCHI et al., (2016).

334 A melatonina também é produzida por fontes extrapineais, como a retina, corpo
335 ciliar da íris, glândulas harderianas e lacrimais, linfócito e intestino grosso. Tais fontes

336 teriam contribuição mínima para a concentração plasmática da melatonina, porém,
337 seriam importantes para ação local na qual foram produzidas, demonstrando sua ação
338 parácrina. Essa produção extrapineal justificaria a presença de baixos níveis de 6-
339 sulfatoximelatonina (seu principal metabólito) na urina de ratas que passaram por
340 remoção da glândula pineal. Salienta-se que o ritmo circadiano e a grande
341 concentração noturna desse hormônio são determinados pela síntese deste hormônio
342 na pineal (SOARES et al., 2003; MACCHI & BRUCE, 2004; CLAUSTRAT et al., 2005;
343 MAGANHIN et al., 2008, SHARMA et al., 2015).

344 Com receptores específicos nas membranas celulares, denominado, MT1 e
345 MT2, a melatonina tem diversas funções, sendo moduladora do ciclo circadiano, de
346 enzimas antioxidantes, metabolismo ósseo, crescimento de folículos ovarianos,
347 ovulação, luteinização, fertilização e implantação (TAMURA et al., 2013; SHARMA et
348 al., 2015). Este hormônio também pode exercer funções antioxidantes, devido ao seu
349 pequeno tamanho molecular e suas propriedade lipolípídicas, podendo atravessar
350 todas as membranas celulares e atingir compartimentos intracelulares, bem como o
351 núcleo e a mitocôndria, organelas com grandes concentrações (LEON et al., 2005;
352 WASEEM et al., 2017), prevenindo danos ao DNA e a proteínas (TAJES et al., 2009). A
353 redução na ocorrência e crescimento de tumores faz com que a melatonina seja
354 considerada o hormônio oncostático natural mais importante no corpo humano
355 (REITER, 2004; CABRERA et al., 2010). Acredita-se também que a melatonina
356 desempenha um importante papel durante o ciclo de vida, atuando no processo de
357 crescimento, desenvolvimento, amadurecimento e envelhecimento, decrescendo sua
358 concentração plasmática com a idade do indivíduo (TAMURA et al., 2013).

359 A melatonina é citada em diversos estudos como uma importante parte do
360 sistema neuroendócrino, influenciando o controle dos ritmos circadianos e controlando
361 diversos processos fisiológicos (FERREIRA et al., 2010). Ainda não se sabe ao certo
362 os locais em que ocorre a interação entre a melatonina e o sistema endócrino.
363 Acredita-se que atividade deste hormônio envolva o hipotálamo, a hipófise, as
364 gônadas, além a glândula pineal, a principal responsável pela sua produção (REITER,
365 1995).

366

367 **2.6 Melatonina e Gônadas**

368

369 A melatonina é um hormônio de amplo espectro funcional, responsável por
370 regular as variações hormonais internas em resposta a variações no fotoperíodo.
371 (MURKHERJEE & HALDAR, 2014). Em espécies fotoperiódicas, a secreção de
372 melatonina pela glândula pineal é responsável pelos efeitos da duração do dia no ciclo
373 de reprodução sazonal (MALDONADO et al., 2012). Nestas espécies, a melatonina tem
374 um efeito pró-gonadotrófico, aumentando as concentrações de FSH e de picos de LH,
375 provavelmente através do bloqueio dos efeitos inibidores de esteróides sexuais sobre a
376 ovulação (ROCHA et al., 2011).

377 Em espécies com reprodução não-sazonal, ou seja, não-fotoperiódicas, a
378 liberação pré-ovulatória de gonadotrofinas é controlada por um relógio circadiano.
379 Estas espécies apresentam um ritmo circadiano diário de liberação de melatonina
380 (CLAUSTRAT et al., 2005). Receptores de melatonina, MT1 e MT2, foram identificados
381 em ambas as gônadas masculinas e femininas destas espécies (MAGANHIN et al.,
382 2008; MURKHERJEE & HALDAR, 2014), reafirmando, assim, suas propriedades
383 antigonadotróficas, como a inibição do desenvolvimento gonadal, espermatogênese e
384 produção de andrógenos em machos e ausência de folículos, corpo lúteo e proliferação
385 do tecido intersticial em fêmeas (SOARES JÚNIOR et al., 2008).

386 A melatonina possui papel significativo na programação fetal, uma vez que no
387 fluido folicular é encontrado altas concentrações de melatonina, sugerindo sua
388 participação direta na maturação do oócito e desenvolvimento do embrião, devido sua
389 capacidade de diminuir o estresse oxidativo nos folículos ovarianos e proteger estes
390 oócitos de danos causados pelos radicais livres (NELISSEN et al., 2011 ; BRZEZINSKI
391 et al., 1987). Os níveis de melatonina no plasma materno pode aumentar durante a
392 gravidez, entretanto, em gestações comprometidas, este hormônio na mãe e o feto
393 podem ser afetados (CHEN et al., 2013).

394 Quanto às gônadas femininas, os mecanismos que controlam a foliculogênese
395 ainda não estão esclarecidos, entretanto, sabe-se que hormônios e diversos fatores de
396 crescimento estão envolvidos (ESCAMES et al., 2012). Estudos demonstraram a
397 presença de receptores de melatonina (MT1 e MT2) no folículo ovariano, sustentando

398 assim a hipótese de sua atuação na fisiologia ovariana (SOARES et al., 2003; LEE et
399 al., 2014).

400 Quanto às gônadas masculinas, a melatonina desempenha um papel protetor no
401 desenvolvimento testicular tanto *in vitro* como *in vivo*, bem como o regula através do
402 controle da secreção de neuro-hormônios (particularmente GnRH) e testosterona (LI &
403 ZHOU, 2015).

404 Segundo Gholami e colaboradores (2013), a melatonina pode melhorar a
405 estrutura do tecido testicular. Tais pesquisadores observaram que este hormônio pode
406 induzir proliferação celular em células normais e induzir à apoptose em células
407 danificadas (GHOLAMI et al., 2014). Já Bowen et al. (2016) descobriram que sua
408 adição ao meio de cultura de células-tronco espermatogênicas (SSCs) poderia
409 aumentar a proliferação de SSC estimulando a produção de GDNF na célula de Sertoli.

410 Além disso, é relatado que baixos níveis de melatonina durante a gestação e
411 lactação de matrizes resulta em uma involução nos testículos da prole, indicando que
412 seus níveis pré e pós natal interferem no desenvolvimento testicular (TUTHILL et al.,
413 2005). Também foi elucidado que a pinealectomia aumenta o peso testicular, enquanto
414 administração de melatonina exógena diminui o peso supracitado em ratos não
415 pinealectomizados (KUS et al., 2000; AKOSMAN, et al., 2013).

416

417 **2.7 Melatonina e Tireóide**

418

419 Uma significativa relação entre as glândulas tireóide e pineal foi estabelecida,
420 sugerindo que deficiências na função tireoidiana podem alterar a liberação de
421 melatonina (ROM-BUGOSLAVSKAIA & BONDARENKO, 1984).

422 É comprovado que o hipotireoidismo leva à uma diminuição significativa nos
423 níveis de melatonina no plasma, quando roedores induzidos ao mesmo são
424 comparados a roedores sadios. Já ratos induzidos ao hipertireoidismo demonstraram
425 níveis maiores desta indolamina no plasma, sugerindo que há uma relação entre o os
426 distúrbios tireoidianos e a glândula pineal (BELVIRANLI & BALTACI, 2008; BALTACI &
427 MOGULKOC, 2017; BALTACI & MOGULKOC, 2018). Além disso, Bondarenko et al
428 (2011), demonstraram que sinais de hipotireoidismo em ratas com baixos níveis de

429 melatonina devido a exposição à luz constante foram revertidos com a sua aplicação
430 exógena.

431 A presença de receptores deste hormônio na glândula tireóide foi estudada por
432 Laskar et al. (2015) relatando que a aplicação exógena de melatonina aumentou os
433 níveis de T4 em ratas fêmeas. Seus resultados também foram encontrados por Skipor
434 et al. (2010) que, através da aplicação exógena desta indolamina, encontraram uma
435 prevenção no decaimento dos níveis séricos de T3 e um controle no decaimento nos
436 níveis de T4.

437

438 **2.8 Hipotireoidismo e gônadas**

439

440 Como já foi afirmado anteriormente, durante a gestação, a tireóide está
441 envolvida na formação diversos órgãos, sendo um deles, os testículos (WAGNER;
442 WAJNER; MAIA, 2008).

443 Vários estudos mostraram que os hormônios tireoidianos afetam a
444 espermatogênese, por promover mudanças na atividade metabólica basal e respiração
445 celular dos testículos (OPPENHEIMER et al., 1987; MUTVEI & NELSON, 1989;
446 FADLLALA et al., 2017), ou por afetar as células de Leydig, resultando na redução da
447 secreção de testosterona (ZIRKIN et al. 1980; MENDIS-HANDAGAMA et al. 1991).
448 Além disso, em ratos hipotireoidéticos, foi relatado que a morfologia testicular também
449 é afetada, onde há uma modificação na relação do epitélio testicular-lúmen, causando
450 modificações no tamanho do lúmen (Al et al., 2007).

451 Estudos prévios mostraram que o tal distúrbio tireoidiano também pode afetar a
452 morfologia ovariana, alterando a quantidade de folículos ovarianos (MENG et al., 2017).
453 A transição do folículo primário para o secundário (estágio pré-antral) é controlado por
454 fatores intra-ovarianos, como o GDF-9 (Fator de Diferenciação e Crescimento-9)
455 (MCGRATH et al., 1995; ORISAKA et al., 2006). Sabe-se que esse fator mitogênico
456 sofre influência da tireóide, embora esse mecanismo ainda não seja totalmente
457 conhecido (DONG et al., 1996; HAYASHI et al., 1999).

458 Além das mudanças morfológicas, sabe-se que durante a gestação, em
459 humanos e roedores, o útero sofre uma série de alterações morfofuncionais com o

460 objetivo de acomodar o embrião em crescimento, porém o estado hipotireoidético
461 diminui a taxa proliferativa das células epiteliais, do estroma e do miométrio por reduzir
462 a resposta das células uterinas ao estrógeno (KIRKLAND et al., 1981). Além deste
463 órgão, o hipotireoidismo também pode causar uma diminuição na expressão de
464 antígenos proliferativos em placentas e testículos de ratos (SILVA et al., 2012;
465 FADLLALA et al., 2017), mostrando assim o efeito anti-proliferativo do hipotireoidismo
466 na formação de novos órgãos, como as gônadas.

467

468 **3 OBJETIVOS**

469

470 **3.1 Geral**

471

472 Investigar o efeito da ação da melatonina em ratas induzidas ao hipotireoidismo
473 durante a gestação, bem como nas gônadas e tireóides da sua prole.

474

475 **3.2 Específicos**

476

- 477 • Quantificar o número de neonatos após os respectivos tratamentos das
- 478 matrizes;
- 479 • Avaliar o ganho de peso dos filhotes e das mães ao longo do tratamento;
- 480 • Avaliar o peso das gônadas e tireóides dos filhotes e suas respectivas matrizes;
- 481 • Analisar morfometricamente as gônadas de filhotes de matrizes submetidas aos
- 482 seus respectivos tratamentos;
- 483 • Analisar morfometricamente a tireóide das matrizes submetidas aos seus
- 484 respectivos tratamentos;
- 485 • Avaliar imunohistoquimicamente as gônadas dos filhotes em relação à
- 486 expressão de PCNA;
- 487 • Avaliar os níveis séricos de TSH dos filhotes e suas matrizes.

488

489 **REFERÊNCIAS**

- 490 ABALOVICH, M.; GUTIERREZ,S.; ALCARAZ,G.; MACCALLINI,G.; GARCIA, A.;
491 LEVALLE,O. Overt and subclinical hypothyroidism complica- ting pregnancy. **Thyroid**,
492 v.12, p.63-68, 2002.
- 493 ACUÑA-CASTROVIEJO, D.; ESCAMES, G.; DIAZ-CASSADO, M.E.; LIMA-CABELLO,
494 E.; ROSALES-CORRAL, S.; REITER, R.J. Extrapineal melatonin: sources, regulation
495 and potential fluctions. **Cell Molecular Life Science**, v.71, n.16, p.2997-3025, 2014.
- 496 AI, J.; ZARIFKAR, A.; TAKHSHID, M.A.; ALAVI, J.; MORADZADEH, M. The effect on
497 thyroid activity on adult rat spermatogenesis. **Iranian Journal of Veterinary Research**,
498 v.8, n.2, p.155-160, 2007.
- 499 AKOSMAN, M.S.; ÖZDEMİR, V.; TASKIRAN, N., AKALAN, M.A.; BÜLBÜL, A. Effect of
500 Photoperiod and Melatonin on Volume and Cellular Parameters of Testis in
501 Pinealectomized Rats. **International Journal of Morphology**.v.31, n.3, p.1062-1067,
502 2013 .
- 503 AMERION, M.; TAHAJJODI, S.; HUSHMAND, Z.; SHARI, N.M.; NIKRAVESH, R.;
504 JALALI, M. The effect of maternal thyroid disorders during pregnancy and lactation on
505 skin developement in Wistar Rat Newbors. **Iranian Journal of Basic Medical**
506 **Sciences**, v.16, n.5, p.665-674, 2013.
- 507 AYADI, M.; GASBI, A.; MEDDEB, K.; MOKRANI, A.; YAHIAOUI, Y.; LETAIEF, F.;
508 CHARAIET, N.; RAIS, H.; MEZLINI, A. Primary leiomyosarcoma of thyroid gland: the
509 youngest case. **Pan Afr Med J.Pan African Medical Journal**, v.26, p.113, 2017.
- 510 BALTACI, A.K.; MOGULKOC, R. Leptin, NPY, Melatonin and Zinc Levels in
511 Experimental Hypothyroidism and Hyperthyroidism: The Relation to Zinc. **Biochemical**
512 **Genetics**, v.55, p.223-233, 2017.
- 513 BALTACI, A.K.; MOGULKOC, R. Leptin, neuropeptide Y (NPY), melatonin and zinc
514 levels in experimental hypothyroidism and hyperthyroidism: relation with melatonin and
515 the pineal gland. **Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation**, v.34, n.3,
516 2018.

517 BANU, S.K.; Govindarajulu, P.; Aruldas, M.M. Developmental profiles of TSH, sex
518 steroids, and their receptors in the thyroid and their relevance to thyroid growth in
519 immature rats. **Steroids**,v.67, p.137–144, 2002.

520 BELVIRANLI, M.; BALTACI, A.K. The relation between reduced serum melatonin levels
521 and zinc in rats with induced hypothyroidism. **Cell biochemistry and function**, v.26,
522 n.1, p.19-23, 2008.

523 BIONDI, B.; COOPER, D.S. The clinical significance of subclinical thyroid dysfunction.
524 **Endocrine Reviews**, v.29, n.1, p.76–131, 2008.

525 BLASIAK, J.; REITER, R.J.; KAARNIRANTA, K. Melatoninin retinal physiology and
526 pathology: the case of age-related macular degeneration. **Oxidative Medicine and**
527 **Cellular Longevity**, v.3, p.1-12, 2016.

528 BODARENKO, L.A.; SOTNIK, N.N.; CHAGOVETS, E.M.; SERGIENKO, L.Y.;
529 CHEREVKO, A.N. Intensity of in vitro incorporation of 3H-melatonin in the thyroid gland
530 of rabbits with pineal gland hypofunction. **Bulletin of Experimental Biology and**
531 **Medicine**, v.150, n.6, p.753-755, 2011.

532 BOWEN, N.; BO, L.; WU, C.; WU, J.; YAN, Y.; SHANG, R.; BAI, C.; LI, G.; HUA, J.
533 Melatonin promotes goat spermatogonia stem cells (SSCs) proliferation by stimulating
534 glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) production in sertoli cells. **Oncotarget**,
535 v.7, n.47, p.77532-77542, 2016.

536 BROTFAIN, E.; KOYFMAN, L.; FRENKEL, A. SMOLIKOV, A.; ZLOTNIK, A.; KLEIN, M.
537 Iodine-Induced Hyperthyroidism—An Old Clinical Entity That Is Still Relevant to Daily
538 ICU Practice: A Case Report. **Case Reports in Endocrinology**, v. 2013, 2013.

539 BRZEZINSKI, A.; SEIBEL, M. M.; LYNCH, H. J.; DENG, M.W.; WURTMAN, R.J.
540 Melatonin in human preovulatory follicular fluid. **Journal Clinic of Endocrinology &**
541 **metabolism**, v.64, p.865-867, 1987.

542 CABRERA, J.; NEGRIN L.; ESTEVES, F. A melatonina diminuiu a proliferação celular e
543 induz a melanogénese em células de melanoma humano SK-MEL-1. **Journal Pineal**
544 **Reserch**. n.49, p.45-54, 2010.

545 CALVO, R.; OBREGON, M.J.; DEL REY, F.E. The rat placenta and the transfer of
546 thyroid hormones from the mother to the fetus. Effects of maternal thyroid status.
547 **Endocrinology**, v.131, n.1, p.357-365, 1992.

548 CHAN, S.; KILBY, M.D. Thyroid hormone and central nervous system development.
549 **Journal of Endocrinology**, v.165, p.1-8, 2000.

550 CHASTAIN, C.B.; GANJAM, V.K. **Clinical Endocrinology of Companion Animals**.
551 Philadelphia, W. B. Saunders Company 2a. ed., 1986, p.548 - 564.

552 CHEN, Y.C.; SHEEN, J. M.; TIAO, M. M.; TAIN, Y.L.; HUANG, L.T. Roles of melatonin
553 in fetal programming in compromised pregnancies. **Internacional Journal of**
554 **Molecular Sciences**, v.14, p.530-540, 2013.

555 CHOKSI, N.Y.; Jahnke, G.D.; Hilaire, C.S.; Shelby, M. Role of thyroid hormones in
556 human and laboratory animal reproductive health. **Birth Defects Res**, v.68, p.479–491,
557 2003.

558 CLAUSTRAT, B.; BRUN, J.; CHAZOT, G. The basic physiology and pathophysiology of
559 melatonin. **Sleep Medical Reviews**, v.9, n.1, p.11-24, 2005.

560 Diez, J.J.; Iglesias, P. Spontaneous Subclinical Hypothyroidism in Patients Older than
561 55 Years: An Analysis of Natural Course and Risk Factors for the Development of Overt
562 Thyroid Failure. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v.89, p.4890–
563 4897, 2004.

564 DONG, J.; ALBERTINI, D.F.; NISHIMORI, K.; KUMAR, T.R.; LU, N.; MATZUK, M.M.
565 Growth differentiation factor-9 is required during early ovarian folliculogenesis. **Nature**,
566 p.383-531, 1996.

567 ESCAMES, G.; OZTURK, G.; BAÑO-OTÁLORA, B.; POZO, M.J.; MADRID, J.A.;
568 REITER, R.J.; SERRANO, E.; CONCEPCIÓN, M.; ACUÑA-CASTROVIEJO, D.
569 Exercise and melatonin in humans: reciprocal benefits. **Journal of Pineal Research**,
570 v.52, n.1, p.1–11, 2012.

571 ESCOBAR, G.M.; OBREGON, M.J.; DEL REY, F.E. Role of thyroid hormone during
572 early brain development. **European Journal of Endocrinology**, v.151, p.25-37, 2004.

573 EVANS, K.W.; FARWELL, A.P.; BRAVERMAN, L.E. Nuclear thyroid hormone receptor
574 in the rat uterus. **Endocrinology**, v.113, p.1459-1463, 1983.

575 FADLALLA, M.B.; WEI, Q.; FEDAIL, J.S.; MEHFOOZ, A.; MAO, D.; SHI, F. Effects of
576 hyper- and hypothyroidism on the development and proliferation o testicular cells in
577 prepubertal rats. **Animal Science Journal**, v.88, n.12, p.1943-1954, 2017.

578 Fatourechi, V. Subclinical Hypothyroidism: An update for primary care physicians. **Mayo**
579 **Clinic Proceedings**, p.84, n.1, p.65–71, 2009.

580 FELDT-RASMUSSEN, U.; KLOSE, M. Central hypothyroidism and its role for
581 cardiovascular risk factors in hypopituitary patients. **Endocrine**,v.54, n.1, p.15-23, 2016.

582 FERREIRA, C. S; MAGANHIN, C.C. ; SIMOES, R.S. et al . Melatonina: modulador de
583 morte celular. **Revista da Associação Médica Brasileira.**, v.56, n.6, p.715-718, São
584 Paulo , 2010.

585 GALTON, V. A.; MARTINEZ, E.; HERNANDEZ, A. et al. The type 2 iodothyronine
586 deiodinase is expressed in the rat uterus and induced during pregnancy.
587 **Endocrinology**, v.142, n.5, 2001.

588 HAPON, M.B.; GAMARRA-LUQUES, C.; JAHN, G.C. Shor term hypothyroidism affects
589 ovarian function in the cycling rat. **Reproductive Biology and Endocrinology**,v.8,
590 n.14, p.1-11, 2010.

591 HAPON, M.B.; Simoncini, M.;VIA, G.;JAHN, G.A. Effect of hypothyroidism on hormone
592 profiles in virgin, pregnant and lactating rats, and on lactation. **Reproduction**, v.126,
593 p.371-381, 2003.

594 HAPON, M.B.; VARAS, S.M.; JAHN, G.A.; GIMENEZ, M.S.Effects of hypothyroidism on
595 mammary and liver lipid metabolism in virgin and late-pregnant rats. **Journal of Lipid**
596 **Research**, v.46, p.1320-1330, 2005.

597 HAYASHI, M.; MCGEE, E.A.; MIN, G.; KLEIN, C.; ROSE, U.M.; VAN DUIN, M.;
598 HSUEH, A.J. Recombinant growth differentiation factor-9 (GDF-9) enhances growth and
599 differentiation of cultured early ovarian follicles. **Endocrinology**, v.140, p.1236 –1244,
600 1999.

601 HUBER, G.; STAUB, J.; MEIER, C.; MITRACHE, C.; GUGLIELMETTI, M.; HUBER, P et
602 al. Prospective study of the spontaneous course of subclinical hypothyroidism:
603 prognostic value of thyrotropin, thyroid reserve, and thyroid antibodies. **The Journal of**
604 **Clinical Endocrinology & Metabolism**, v.87, p.3221-3226, 2002.

605 IDRIS, I.; SRINIVASAN, R.; SIMM, A.; PAGE, R. C. Maternal hypothyroidism in early
606 and late gestation: effects on neonatal and obstetric outcome. **Clinical Endocrinology**,
607 v.63, p. 560–565, 2005.

608 JAMES, S.R.; FRANKLYN, J.A.; KILBY, M.D. Placental transport of thyroid hormone.
609 **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**, v.21, n.2, p.253–
610 264, 2007.

611 JUNQUEIRA, L.C.U; CARNEIRO, J. Histologia básica. 13ª edição. **Editores Guanabara**
612 **Koogan**, Rio de Janeiro, 2013.

613 KAKLAMANOS, I.; ZAROSKA, M.; FLESSAS, I.; ZOULAMOGLU, M.; KATSOULAS,
614 T.; BIRBAS, K.; TROUPIS, T.; MARIOLIS-SAPSAKOS, T. Surgical anatomy of double
615 pyramidal lobe on total thyroidectomy: a rare case report. **Journal of Surgical Case**
616 **Reports**, v.3, p.1–3, 2017.

617 KARABINAS, C.D.; TOLIS, G.J. Thyroid disorders and pregnancy. **Journal of**
618 **Obstetrics and Gynaecology**, v.18, p.509-515, 1998.

619 KIRKLAND, J.L.; GARDNER, R.M.; MUKKU, V.R.; AKTAR, M.; STANCEL, G.M.
620 Hormone control of uterine growth: the effect of hypothyroidism on estrogen stimulated
621 cell division. **Endocrinology**, v.108, n.6, p.2346-2351, 1981.

622 KNOPP, J.; STOLE, V.; TONG, W. Evidence for the induction of iodide transport in
623 bovine thyroid cells treated with thyroid-stimulating hormone or dibutyl cyclic
624 adenosine 3', 5'-monophosphate. **The Journal of Biological Chemistry**, n.245,
625 p.4403, 1970.

626 KUS, I.; SARSILMAZ, M.; OGETÜRK, M.; YILMAZ, B.; KELESTIMUR, H.; ONER, H.
627 Ultrastructural interrelationship between the Pineal gland and the testis in the male rat.
628 **Archives of Andrology**, v.45, n.2, p.119-124, 2000.

629 LASKAR, P.; ACHARJEE, S.; SINGH, S.S. Effect of exogenous melatonin on
630 Thyroxine, Thyrotropin hormone levels and expression patterns of melatonin receptor
631 proteins on thyroid gland during different age groups of male and female Swiss albino
632 mice. **Advances in BioResearch**, v.6, n.1, p.7-14, 2015.

633 LEE, H.; KIM, S.; KIM, D. Effects of exercise with or without light exposure on sleep
634 quality and hormone responses. **The Journal of Exercise Nutrition and Biochemistry**,
635 v.6, n.1, p.293–299, 11 set. 2014.

636 LEON, J.; ACUNA-CASTROVIEJO, D.; ESCAMES, G.; TAN, D.X.; REITER, R.J.
637 Melatonin mitigates mitochondrial malfunction. **Journal of Pineal Research**, v.38, p.1-
638 9, 2005.

639 LEONARD, A.J.; EVANS, I.M.; PICKARD, M.R. et al. Thyroid hormone receptor
640 expression in rat placenta. **Placenta**, v.22, p.353-359, 2001.

641 LI, C.; ZHOU, X. Melatonin and male reproduction. **Clinica Chimica Acta**, v.446,
642 p.175-180, 2015.

643 MACCHI, M.M.; BRUCE, J.N. Human pineal physiology and functional significance of
644 melatonin. **Front Neuroendocrinology**, v.25, n.3-4, p.177-195, 2004.

645 MACIEL, L.M.Z.; MAGALHÃES, P.K.R. Tiróide e gravidez. **Arquivo Brasileiro de**
646 **Endocrinologia Metabólica**, v.52, n.7, p.1084-1095, 2008.

647 MAGANHIN, C.C, SIMOES, R. S.; FUCHS, L. F.; OLIVEIRA-FILHO, R.M.; SIMÕES,
648 M.J.; EVÊNCIO-NETO, J.; BACARAT, E.C.; SOARES-JUNIOR, J.M. Rat pinealectomy:
649 a modified direct visual approach. **Acta Cirurgica Brasileira**, v.24, n.4, p.321-324, São
650 Paulo, 2009.

651 MAGANHIN, C.C.; CARBONEL, A.A.F.; HATTY, J.H. Efeitos da melatonina no sistema
652 genital feminino: breve revisão. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.54, n.3,
653 p. 267-271, 2008.

654 MAGANHIN, C.C.; FUCHS, L.F.P.; SIMÕES, R.S.; OLIVEIRA-FILHO, R.M.; SIMÕES,
655 M.J.; BARACAT, E.C.; SOARES-JUNIOR, J.M. Effects of melatonin on ovarian follicles.
656 **European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology**, v.166,
657 p.178-184, 2013.

658 MALDONADO, M.D.; MANFREDI, M.; RIBAS-SERNA, J.; GARCIA-MORENO, H.;
659 CALVO, J.R. Melatonin administered immediately before an intense exercise reverses
660 oxidative stress, improves immunological defenses and lipid metabolism in football
661 players. **Physiology & Behavior**, v.105, n.5, p.1099-1103, 2012.

662 MAURO, T.; KATAYAMA, K.; BARNEA, E.R.; MOCHIZUKI, M. A role for thyroid
663 hormone in the induction of ovulation and corpus luteum function. **Hormone Research**,
664 v.37, p.12-18, 1992.

665 MCGRATH, S.A.; ESQUELA, A.F.; LEE, S-J. Oocyte-specific expression of
666 growth/differentiation factor-9. **Molecular Endocrinology**, v.9, p.131, 1995.

667 MENDIS-HANDAGAMA, S.C.; KERR, J.B.; KRETSER, D.M. Experimental
668 cryptorchidism in the adult mouse. **Journal of Andrology**, v.12, p.335–343, 1991.

669 MENG, L.; RIJNTJES, E.; SWARTS, H.J.M.; KEIJER, J.; TEERS, K.J. Prolonged
670 hypothyroidism severely reduces ovarian follicular reserve in adult rats. **Journal of**
671 **Ovarian Research**, v.10, n.19, p. 1-8, 2017.

672 MENZILCIOGLU, M.S.; DUYMUS, M.; AVCU, S. Sonographic Elastography of the
673 Thyroid Gland. **Polish Journal of Radiology**, v.81, p.152-156, 2016.

674 MUKHERJEE, A.; HALDAR, C. Photoperiodic regulation of melatonin membrane
675 receptor (MT1R) expression and steroidogenesis in testis of adult golden hamster,
676 *Mesocricetus auratus*. **Journal of Photochemistry and Photobiology**, v.140, p.374-
677 380, 2014.

678 MUTVEI, A.; NELSON, B.D. The response of individual polypeptides of the mammalian
679 respiratory chain to thyroid hormone. **Archives of Biochemistry and Biophysics**,
680 v.268, p.215–220, 1989.

681 NELISSEN, E.C.; VAN-MONTFOORT, A. P.; DUMOULIN, J. C. EVERS, J.L.
682 Epigenetics and the placenta. **Human Reproduction Update**, v.17, p.397–417, 2011.

683 OPPENHEIMER, J.; SCHWARTZ, H.; MARIASH, C.; KINLAW, W.; WONG, N.;
684 FREAKE, H. Advances in our understanding of thyroid hormone action at the cellular
685 level. **Endocrine Reviews**, v.8, p.288–308, 1987.

686 ORISAKA, M.; ORISAKA, S.; JIANG, J.Y.; CRAIG, J.; WANG, Y.; KOTSUJI, F.;
687 TSANG, B.K. Growth differentiation factor-9 is anti-apoptotic during follicular
688 development from preantral to early antral stage. **Molecular Endocrinology**, v.20,
689 p.2456–2468, 2006.

690 PARKER, G.A.; PICUT, C.A. Atlas of Histology of the Juvenile Rat. 1a edição.
691 **Academic Press**. 2016.

692 REITER, R.J. Functional pleiotropy neurohormone melatonin: antioxidant protection
693 and neuroendocrine regulation. **Neuroendocrinologia**, n.16, p.383-415, 1995.

694 REITER, R.J. Mecanismos de inibição do câncer de melatonina. **Journal Pineal**
695 **Reserch**, n.37, p.213-214, 2004.

696 ROCHA, R.M.P.; MATOS, M.H.T.; LIMA, L.F.; SARAIVA, M.V.A.; ALVES, A.M.C.V.;
697 RODRIGUES, A.P.R.; FIGUEIREDO, J.R. Melatonina e reprodução animal: Implicações
698 na Fisiologia Ovariana. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.5, n.2, p.147– 157, 2011.

699 Rom-Bugoslavskaja, E.S.; Bondarenko, L.A. Effect of deficiency and excess of thyroid
700 hormones in the body on indolamine metabolism in the rat epiphysis cerebri. **Probl**
701 **Endokrinol**, v.30, p.82–85, 1984.

702 ROMEU, L.R.; MOTTA, E.L.; MAGANHIN, C.C.; OSHIMA, C.T.; FONSECA, M.C.;
703 BARRUECO, K.F.; IMÕES, R.S.; PELLEGRINO, R.; BARACAT, E.C.; SOARES-
704 JÚNIOR, J.M. Effects of melatonin on histomorphology and on the expression of steroid
705 receptors, VEGF and PCNA in ovaries of pinealectomized female rats. **Fertility and**
706 **Sterility**, v.95, n.4, p.1379-1384, 2011.

707 SANYAL, D.; RAYCHAUDHURI, M. Hypothyroidism and obesity: an intriguing link.
708 **Indian Journal of Endocrinology and Metabolism**, v.20, n.4, p.554-557, 2016.

709 SHARMA, S.; SINGH, H.; AHMAAD, N.; MISHRA, P.; TIWARI, A. The role of melatonin
710 in diabetes: therapeutic implications. **Archives of Endrocinology Metabolism**, v.59,
711 n.5, p.391-398, 2015.

712 SHIZUMA, T. Concomitant thyroid disorders and inflammatory bowel disease: a
713 literature review. **BioMed Research International**, v.6, p.1-12, 2016.

714 SILVA, J.F. **Proliferação, angiogênese, apoptose e expressão da cicloxigenase-2**
715 **no ovário de ratas com disfunções tireoidianas e na placenta e ovário de ratas**
716 **com hipotireoidismo**. 2011. 148f. Dissertação (Ciência Animal). Universidade Federal
717 de Minas Gerais, Belo Horizonte.

718 SILVA, J.F. VIDIGAL, P.N.; GALVÃO, D.D.; BOELONI, J.N.; NUNES, P.P.; OCARINO,
719 N.M.; NASCIMENTO, E.F.; SERAKIDES, R. Fetal growth restriction in hypothyroidism
720 is associated with changes in proliferative activity, apoptosis and vascularisation of the
721 placenta. **Reproduction, Fertility and Development**, v.24, n.7,p.923-931, 2012.

722 SILVA, J.F. VIDIGAL, P.N.; GALVÃO, D.D.; BOELONI, J.N.; NUNES, P.P.; OCARINO,
723 N.M.; NASCIMENTO, E.F.; SERAKIDES, R. Fetal growth restriction in hypothyroidism
724 is associated with changes in proliferative activity, apoptosis and vascularisation of the
725 placenta. **Reproduction, Fertility and Development**, v.24, n.7,p.923-931, 2012.

726 SILVA, J.F.; OCARINO, N.M.; SERAKIDES, R. Maternal thyroid dysfunction affects
727 placental profile on inflammatory mediators and the intrauterine trophoblast migration
728 kinetics. **Reproduction**, v.147, n.6, p.803-816, 2014.

729 SKIPOR, J.; MISZTAL, T.; KACZMAREK, M.M. Independent changes of thyroid
730 hormones in blood plasma and cerebrospinal fluid after melatonin treatment in ewes.
731 **Theriogenology**, v.74, p.236-245, 2010.

732 SMALLRIDGE, R.C.; LADENSON, P.W. Hypothyroidism in pregnancy: consequences
733 to neonatal health. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v.86, n.6,
734 p.2349-2353, 2001.

735 SOARES JR, J.M.; SIMÕES, R.S.; SIMÕES, M.J.; BARACAT, E.C. Aspectos
736 moleculares dos receptores de melatonina e sua ação na reprodução. **Femina**, v.31,
737 n.6, p.495-500, 2003.

738 SOUKUP, T.; ZACHAROVA, G.; SMERDU, V.; JIRMANOVÁ, I. Body, heart, thyroid
739 gland and skeletal muscle weight changes in rats with altered thyroid status.
740 **Physiology Research**, v.50, p.619-626, 2001.

741 SUMAYA I.C; MASANA M.I; DUBOCOVICH M.L. The antidepressant-like effect of the
742 melatonin receptor ligand luzindole in mice during forced swimming requires expression

743 of MT2 but not MT1 melatonin receptors. **Journal Pineal Reserch**. v.39, n.2, p.170-7,
744 2005.

745 SURKS, M.I.; ORTIZ, E.; DANIELS, G.H.; SAWIN, C.T.; COL, N.F.; COBIN, R.H.;
746 FRANLYN, J.A.; HERSHMAN, J.M.; BURMAN, K.D.; DENKE, M.A.; GORMAN, C.;
747 COOPER, R.S.; WEISSMAN, N.J. Subclinical thyroid disease: scienti c review and
748 guidelines for diagnosis and management. **Journal of the American Medical**
749 **Association**, v.292, p.228-238, 2004.

750 TAJES, ORDUNA, M.; PELEDRI GABALDA, C.; VILAPLANA HORTENSI, J.; PALLAS
751 LLIBERIA, M.; CAMINS ESPUNY, A. An evaluation of the neuroprotective effects of
752 melatonin in an in vitro experimental model of age-induced neuronal apoptosis. **Journal**
753 **of Pineal Research**, v.46, p.262-267, 2009.

754 TAMURA, H.; NAKAMURA, Y.; KORKMAZ, A.; MANCHESTER, L.C.; TAN, D.X.;
755 SUGINO, N.; REITER, R.J. Melatonin and the ovary: pysiological and
756 pathophysiological implications. **Fertility and Sterility**, v.92, n.1, p.328-343, 2009.

757 TAMURA, H.; TAKASAKI, A.; TAKETANI, T.; TANABE, M.; LEE, L.; TAMURA, I.;
758 MAEKAWA, R.; AASADA, H.; YAMAGATA, Y.; SUGINO, N. Melatonin and female
759 reproduction. **Obstetrics and Gynaecology Research**, v.40, n.1, p.1-11, 2014.

760 TUTHILL, C.R.; FREEMAN, D.A.; BUTLER, M.P.; CHINN, T.; PARK, J.H.; ZUCKER, I.
761 Perinatal influences of melatonin on testicular development and photoperiodic memory
762 in Siberian hamsters. **Journal of Neuroendocrinology**, v.17, n.8, p.483-488, 2005.

763 VANDERPUMP, M.P. The epidemiology of thyroid disease. **British Medical Bulletin**,
764 v.99, p.39-51, 2011.

765 VASUDEVAN, N.; OGAWA, S.; PFAFF, D. Estrogen and thyroid hormone receptor
766 interactions: physiological flexibility by molecular specificity. **Physiology Review**, v.82,
767 p.923-944, 2002.

768 VERSLOOT, P.M.; SCHRO 'DER-VAN DER ELST, J.P.; VAN DER HEIDE, D.;
769 BOOGERD, L. Effects of marginal iodine deficiency during pregnancy: iodine uptake by
770 the maternal and fetal thyroid. **The American journal of physiology**, v.273, p.E1121–
771 E1126, 1997.

772 WAGNER, M.S.; WAJNER, S.M.; MAIA, A.L. The Role of Thyroid Hormone in Testicular
773 Development and Function. **Journal of Endocrinology**, v.199, n.3, p.351-365, 2008.

774 WAGNER, M.S.; WAJNER, S.M.; MAIA, A.L. The Role of Thyroid Hormone in Testicular
775 Development and Function. **Journal of Endocrinology**, v.199, n.3, p.351-365, 2008.

776 WASEEM, M.; SAHU, U.; SALMAN, M.; CHOUDHURY, A.; KAR, S.; TABASSUM, H.;
777 PARVEZ, S. Melatonin pre-treatment mitigates SHSY-5Y cells against oxaliplatin
778 induced mitochondrial stress and apoptotic cell death. **Plos One**, v.12, n.7, p.1-28,
779 2017.

780 WELSH, K.J.; SOLDIN, S.J. Diagnosis of endocrine disease: how reliable are free
781 thyroid and total T3 hormone assays? **European Journal of Endocrinology**, v.175,
782 n.6, p.255-263, 2016.

783 YELAMANCHI, S.D.; KUMAR, M.; MADUNGU, A.K.; GOPALAKRISHNAN, L.; DEY, G.;
784 CHAVAN, S.; SATHE, G.; MATHUR, P.P.; GOWDA, H.; MAHADEVAN, A.; SHANKAR,
785 S.K.; PRADAD, T.S.K. Characterization of human pineal gland proteome. **Molecular**
786 **BioSystems**, v.12, n.12, p.3622-3632, 2016.

787 YIM, C.H. Update on the Management of Thyroid Disease during Pregnancy.
788 **Endocrinology and Metabolism**, v.31, p. 386-391, 2016.

789 ZIRKIN, B.R.; EWING, L.; KROMANN, N.; COCHRAN, R. Testosterone secretion by
790 rat, rabbit, guinea pig, dog, and hamster testes perfused in vitro: correlation with Leydig
791 cell ultrastructure. **Endocrinology**, v.107, p.1867–1874, 1980.

792

793
794
795
796
797
798
799
800
801
802
803
804
805
806
807
808
809
810
811
812
813

CAPÍTULO II

EFEITO DA MELATONINA SOBRE RATAS PRENHES INDUZIDAS AO HIPOTIREOIDISMO E SEU REFLEXO SOBRE AS GONADAS DA PROLE

Yuri Mateus Lima de Albuquerque¹, Cintia Giselle Martins Ferreira¹, Carolline Guimarães
D'assunção¹, Marina Gomes Pessoa Baptista¹, Valéria Wanderley Teixeira¹, Álvaro Aguiar
Coelho Teixeira^{1*}

¹Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal,
Recife, Brasil.

*Autor para correspondência: UFRPE-DMFA. Av. Dom Manoel de Medeiros s/n Dois Irmãos-
Recife-PE-Brazil. CEP 52171-900. Tel. +55 81 33206389 E-mail: alvaro.teixeira@ufrpe.br
(TEIXEIRA, A.,A.,C.)

814 **RESUMO**

815 Investigou-se o efeito da ação da melatonina em ratas induzidas ao hipotireoidismo
816 durante a gestação, bem como nas gônadas da sua prole. Foram utilizadas 15 ratas prenhes,
817 divididas em 3 grupos: **GC**: ratas sem indução ao hipotireoidismo; **GH**: ratas induzidas ao
818 hipotireoidismo; **GHM**: ratas induzidas ao hipotireoidismo e tratadas com melatonina. O
819 hipotireoidismo foi induzido pela administração oral de propiltiouracil (1mg/animal) e a
820 melatonina por via subcutânea (10mg/kg). Os tratamentos foram realizados durante a gestação e
821 lactação. Para as matrizes foram avaliados o numero de filhotes, ganho de peso corporal, peso
822 dos ovários, peso da tireoide e índice organossomatico, dosagem do TSH e morfometria da
823 tireoide. Nos filhotes analisou-se o ganho de peso, dosagem do TSH, peso, morfometria das
824 gônadas e índice organossomático, além do índice de proliferação celular. O TSH apresentou-se
825 elevado apenas nas matrizes com hipotireoidismo sem tratamento e normal nos filhotes. A
826 melatonina preveniu a redução do peso dos ovários, tireoides, número de filhotes, diâmetro
827 folicular e proporção epitelial da tireoide das matrizes com hipotireoidismo. A prole das matrizes
828 do grupo hipotireoidismo apresentou redução ganho de peso corporal, peso das gônadas e da
829 tireóide, além do índice de proliferação celular das gônadas, quando comparados aos filhotes dos
830 grupos controle e hipotireoidismo tratado com melatonina. Assim, conclui-se que a melatonina
831 se mostrou eficaz em prevenir os efeitos do hipotireoidismo materno na prole de ratos,
832 reforçando sua capacidade de regular a organogênese durante a gestação.

833 Palavras-chaves: tireóide, pineal, gestação, gônadas, morfometria, PCNA, ratos.

834

835 **ABSTRACT**

836 We investigated the effect of melatonin on rats induced hypothyroidism during gestation,
837 as well as on the gonads of their offspring. Fifteen pregnant rats were used, divided into 3
838 groups: **GC**: rats without induction to hypothyroidism; **GH**: rats induced hypothyroidism;
839 **GHM**: rats induced hypothyroidism and treated with melatonin. Hypothyroidism was induced by
840 oral administration of propylthiouracil (1mg/animal) and melatonin subcutaneously (10mg/kg).
841 Treatments were performed during gestation and lactation. For the matrices, the number of pups,
842 body weight gain, ovarian weight, thyroid weight and organosomatic index, TSH dosage and
843 thyroid morphometry were evaluated. In the pups, weight gain, TSH, weight, morphometry of
844 the gonads and organosomal index were analyzed, as well as the cell proliferation index. TSH
845 was elevated only in the matrices with untreated and normal hypothyroidism in the offspring.
846 Melatonin prevented the reduction of ovarian weight, thyroid, number of pups, follicular
847 diameter and thyroid epithelial proportion of the matrices with hypothyroidism. The offspring of
848 the matrices of the hypothyroid group presented a reduction in body weight gain, gonad and
849 thyroid weight, as well as the gonad cell proliferation index, when compared to control group
850 and hypothalamus groups treated with melatonin. Thus, it is concluded that melatonin has been
851 shown to be effective in preventing the effects of maternal hypothyroidism on the offspring of
852 rats, reinforcing their ability to regulate organogenesis during pregnancy.

853 Keywords: thyroid, pineal, pregnancy, gonads, morphometry, PCNA, rats.

854

855 1 Introdução

856 O hipotireoidismo é uma disfunção tireoidiana, caracterizado pelo hipometabolismo da
857 glândula, podendo ser identificado quando os níveis séricos de T3 e T4 estão reduzidos ou
858 fisiologicamente normais, e o nível de TSH encontra-se elevado (WELSH & SOLDIN, 2016;
859 FELDT-RASMUSSEN & KLOSE, 2016; SHIZUMA, 2016). Tais distúrbios ocorrem
860 principalmente em mulheres adultas e em fase reprodutiva, com prevalência em 2% da
861 população feminina mundial (HÁPON et al., 2010), tendo repercussões profundas na gestação e
862 formação fetal (MACIEL & MAGALHÃES, 2008).

863 Durante o período gestacional, a tireóide é estimulada inicialmente por concentrações
864 elevadas de gonadotrofina coriônica (hCG), assim, manter o eutireoidismo materno durante a
865 gravidez e lactação é fundamental para o crescimento e desenvolvimento fetal (MACIEL &
866 MAGALHÃES, 2008) uma vez que os hormônios produzidos por esta glândula estão envolvidos
867 na formação de diversos órgãos, como o cérebro (ESCOBAR et al., 2004) e testículos
868 (WAGNER et al., 2008). Além disso, o hipotireoidismo está associado à uma taxa elevada de
869 abortos, partos prematuros, ruptura placentar e deficiências neonatais relacionadas ao peso
870 (AMERION et al., 2012).

871 Estudos prévios mostraram que o hipotireoidismo pode afetar tanto a morfologia ovariana
872 (quantidade de folículos ovarianos), como a testicular (alterações na relação epitélio testicular-
873 lúmen) (BUZZARD et al., 2000; MENG et al., 2017). Associado as alterações morfológicas, o
874 hipotireoidismo pode causar uma diminuição na expressão de antígenos proliferativos em
875 placentas e testículos de ratos (SILVA et al., 2012; FADLLALA et al., 2017).

876 Um hormônio que exerce função regulatória na fisiologia tireoidiana é a melatonina,
877 conhecida por modular o ciclo estral e a gravidez (MAGANHIN et al., 2013), estando

878 intimamente relacionada à proteção antioxidante para o embrião (TAMURA et al., 2014). É
879 relatado que em um estado hipotireoidético, os níveis de melatonina no plasma diminuem,
880 sugerindo uma relação entre os distúrbios tireoidianos e a glândula pineal (BELVIRANLI &
881 BALTACI, 2008; BALTACI & MOGULKOC, 2017; BALTACI & MOGULKOC, 2018).

882 Estando intimamente ligada à tireóide, a presença de receptores de melatonina na
883 glândula tireóide foi estudada por Laskar et al. (2015) e já foi reportado que a aplicação de
884 melatonina exógena diminuem os níveis séricos de TSH (BALTACI et al., 2004).

885 Dessa forma, como as disfunções tireoidianas podem resultar em complicações
886 gestacionais, devido ao controle dos hormônios tireoidianos sobre a gestação (HÁPON et al.,
887 2010) e que a terapia com melatonina exógena pode reverter os níveis dos hormônios
888 tireoidianos em ratas com hipotireoidismo (LASKAR et al., 2015) faz-se necessário investigar o
889 efeito da ação da melatonina em ratas induzidas ao hipotireoidismo durante a gestação, bem
890 como nas gônadas e tireóides da sua prole.

891 **2 Material e Métodos**

892 O experimento foi realizado no Laboratório de Estudos Morfológicos em Vertebrados e
893 Invertebrados (LABEMOVI) do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da
894 Universidade Federal Rural de Pernambuco. Foram utilizados 15 ratas albinas (*Rattus norvegicus*
895 *albinus*), com 90 dias de idade, virgens, pesando aproximadamente 200±30g, da linhagem
896 Wistar, procedentes do Biotério do DMFA-UFRPE. O protocolo experimental foi aprovado pela
897 Comissão de Ética da instituição, de nº. 115/2017. Os animais foram mantidos em gaiolas com
898 alimentação e água *ad libitum*, permanecendo em condições padrões de 22±1°C com período de
899 luz entre 6h - 18h, divididos nos seguintes grupos:

900 **Grupo GC (controle):** Ratas sem a indução ao hipotireoidismo;

901 **Grupo GH:** Ratas induzidas ao hipotireoidismo;

902 **Grupo GHM:** Ratas induzidas ao hipotireoidismo e tratadas com melatonina simultaneamente.

903

904 ***2.1 Indução ao hipotireoidismo e tratamento com melatonina***

905 A indução ao hipotireoidismo foi realizada através da administração de 6-propyl-2-
906 thiouracil (PTU) na dose de 1mg/animal, diluído em 5mL de água destilada através de uma
907 sonda orogástrica (SILVA, 2011) durante a gestação e lactação.

908 O tratamento com melatonina (Sigma, St Louis, MO, USA) foi realizado por meio de
909 injeção subcutânea, diariamente, no início da noite (18h) durante a prenhez e lactação,
910 simultânea ao tratamento com o PTU. A melatonina foi dissolvida em etanol e diluída em
911 solução salina, na dosagem de 10mg/kg de peso corporal do animal (OZGUNER et al., 2006).

912 ***2.3 Peso dos animais e dos órgãos***

913 As matrizes dos grupos experimentais foram pesadas no 1º e 21º dia de gestação e os
914 filhotes no 1º e 30º dias pós-natal para determinar o ganho de peso corporal. As matrizes foram
915 eutanasiadas após a lactação, e os filhotes no 30º dia pós-natal, com cloridrato de cetamina (80 m
916 /kg) e xilazina (6 mg/kg) por via intramuscular, associados a 100 mg/kg de tiopental
917 intraperitoneal. Após o processo de eutanásia, as tireoides das matrizes e as tireóides e gônadas
918 do filhote foram removidas e pesadas em balança analítica. Posteriormente, foram fixados em
919 formaldeído tamponado a 10% e processados para inclusão em parafina. O índice
920 organossomático dos ovários, testículos e tireóide foi calculado usando a seguinte fórmula:
921 Índice Organossomático = Peso do órgão (g) / peso corporal (g) × 100.

922

923 ***2.4 Morfometria***

924 Para as gônadas, cinco lâminas (100 pontos/lâmina) por grupo foram avaliadas na objetiva
925 de 10x contendo no interior um retículo de WEIBEL. Para os ovários foram contados os pontos
926 que incidirem sobre os folículos, corpos lúteos e tecido conjuntivo (SANTOS et al., 2004). Para
927 os testículos foram determinados os percentuais dos pontos que incidiram sobre o epitélio
928 seminífero, lúmen do túbulo, células de Sertoli, células de Leydig e tecido conjuntivo de acordo
929 com metodologia descrita por Neves et al. (2002). Diâmetro folicular e altura do epitélio da
930 tireoide foram avaliados por meio de medição aleatória, de 50 folículos com uma ocular
931 micrométrica e objetiva de 100x. As proporções do epitélio, coloide e estroma da glândula foram
932 obtidas com uma ocular contendo uma grade com 25 pontos (Zeiss KPL 10) e objetiva de 40x
933 em 10 campos selecionados aleatoriamente (SERAKIDES et al., 1999; ARAUJO et al., 2006).

934

935 ***2.5 Dosagem hormonal***

936 A coleta de sangue foi realizada no 21º dia pós-natal para as matrizes (punção da veia
937 caudal) e no 30º dia pós-natal para os filhotes (punção cardíaca). O material foi centrifugado sob
938 refrigeração (-4°C) e o soro foi congelado à -20°C. Os níveis séricos de TSH foram dosados para
939 a confirmação do hipotireoidismo utilizando-se o método quimioluminescência, através do
940 equipamento Hormônios DXI 800. Todas as dosagens foram realizadas em triplicata.

941

942 ***2.6 Imunohistoquímica (PCNA)***

943 A expressão de fatores de proliferação celular foi determinada utilizando os anticorpos
944 PCNA (Santa Cruz Biotechnology Inc., Santa Cruz, CA, EUA) na diluição 1:100. Seguida da
945 desparafinização padrão, a recuperação antigênica foi realizada através de uma solução de
946 tampão citrato (pH 8.0) no microondas por 5 minutos. A peroxidase endógena foi inibida através
947 de uma solução de peróxido de hidrogênio (3%) em metanol. A reação antígeno-anticorpo

948 inespecífica foi bloqueada através da incubação das lâminas em PBS e albumina sérica bovina
949 (BSA) 5% durante uma hora. O anticorpo foi diluído em PBS/BSA 1%. Subsequentemente, foi
950 aplicado uma gota de Histofine/corte por 30min. A reação antígeno-anticorpo foi observada
951 através de um precipitado marrom após aplicação de 3,3 diaminobenzidina por quatro minutos e
952 contracolorados com hematoxilina de Harris. O índice de proliferação celular foi determinado pela
953 contagem percentual de células positivas a partir de pelo menos 500 núcleos subdivididos em 10
954 campos escolhidos aleatoriamente utilizando-se a objetiva de 40x (BURCOMBE et al., 2006).

955

956 ***2.7 Análise estatística***

957 Para análise estatística da morfometria, peso dos animais e dos órgãos, índice
958 organossomático, e da expressão do PCNA foi utilizado o método não paramétrico de Wilcoxon-
959 Mann-Whitney ($P < 0,05$).

960

961 **3 Resultados**

962 ***3.1 1. Matrizes***

963 A análise do número de filhotes, peso dos ovários e da tireóide das matrizes dos grupos
964 experimentais revelou redução significativa nas fêmeas do GH, que apresentou os menores
965 valores em relação às fêmeas dos grupos GC e GHM, exceto no ganho de peso corporal, onde o
966 GHM não se diferenciou de nenhum dos grupos (Tabela 1). Na dosagem hormonal evidenciou-
967 se aumento significativo dos níveis séricos do TSH nas matrizes do grupo GH (Fig. 2). O índice
968 organossomático da tireóide das matrizes mostrou uma redução significativa nas fêmeas do
969 grupo GH (Fig. 3).

970 Na análise morfométrica da tireóide foi observado nas fêmeas do grupo GH uma redução
971 significativa ($p<0,05$) no diâmetro folicular, na altura e proporção do epitélio. Entretanto, esses
972 animais apresentaram aumento na proporção do estroma e do colóide (Fig. 4).

973

974 *3.2 Filhotes*

975 Os filhotes das matrizes do GH apresentaram redução significativa ($p<0,05$) do ganho de peso
976 corporal, peso das gônadas e da tireóide quando comparados aos filhotes das matrizes dos grupos GC
977 e GHM (Tabela 2). A análise morfométrica dos testículos dos filhotes das matrizes do grupo GH,
978 após 30 dias de nascidos, mostrou que não houve diferenças significativas ($p>0,05$) em relação ao
979 número de células de Sertoli e Leydig quando comparado aos filhotes das matrizes dos grupos GC e
980 GHM. No entanto, esses animais apresentaram redução do percentual do epitélio seminífero e
981 elevação dos percentuais do estroma e lúmen (Tabela 3). Já com relação aos ovários, observou-se que
982 não houve diferenças significativas em relação ao número de folículos primários entre os grupos
983 experimentais. Porém, nos ovários dos filhotes das matrizes do grupo GH houve diminuição do
984 número de folículos secundários e aumento do estroma (Tabela 4). No que se refere ao índice
985 organossomático verificou-se redução significativa ($p<0,05$) nos testículos, ovários e tireóide dos
986 filhotes nascidos das matrizes do grupo GH quando comparado aos demais grupos experimentais
987 (Figs. 6, 7 e 8).

988 A análise hormonal do TSH nos filhotes não revelou diferenças significativas ($p>0,05$) entre os
989 grupos. Na análise imunohistoquímica dos ovários e testículos dos filhotes verificou-se reação
990 positiva pelo PCNA. Nos ovários foi observado marcação no ovócito, células da granulosa e no
991 estroma nas fêmeas dos grupos GC e GHM. Já no grupo GH a marcação foi mais evidente nos
992 estroma (Fig. 9). O cálculo do índice de proliferação celular revelou uma redução significativa

993 ($p < 0,05$) nas gônadas dos filhotes das matrizes do grupo GH em relação aos demais grupos (Fig. 10).
994 Nos testículos dos filhotes dos grupos GC e GHM mostraram atividade de proliferação em quase
995 todo epitélio germinativo, enquanto que nos testículos dos filhotes do GH apenas algumas áreas
996 apresentaram-se marcadas. A quantificação das células positivas para o PCNA mostrou redução
997 significativa neste grupo (Fig.11).

998

999 **4 Discussão**

1000 O hipotireoidismo tem sido definido bioquimicamente pela presença de níveis séricos
1001 elevados do hormônio estimulador da tireóide (TSH) em face de concentrações séricas normais
1002 dos hormônios tireoidianos (ROMALDINI et al., 2004; SURKS et al., 2004; COOPER &
1003 BIONDI, 2012). Neste estudo as concentrações plasmáticas de TSH nas fêmeas tratadas com
1004 propiltiouracil (PTU) apresentaram-se bastante elevadas em relação as fêmeas dos demais grupos
1005 experimentais, corroborando com trabalhos prévios (HÁPON et al., 2007, 2010; SILVA et al.,
1006 2014). Devemos mencionar ainda que os achados morfométricos da tireóide nesses animais
1007 demonstram claramente a condição de hipotireoidismo, pois quanto mais intensa for a atividade
1008 (representada pela altura epitelial) menor será a proporção do colóide e conseqüentemente do
1009 estroma (SERAKIDES et al., 1999). Em contrapartida a melatonina manteve normal tanto os
1010 níveis do TSH quanto a morfometria da tireóide, provavelmente devido ao efeito inibidor da
1011 hipófise (BALTACI et al., 2004).

1012 Com relação a redução do ganho de peso, é sabido que ratos com hipotireoidismo
1013 apresentam taxas menores do hormônio do crescimento (GH) e do fator de crescimento de
1014 insulina (IGF) (HÁPON et al., 2010), o que conseqüentemente leva a um retardo no crescimento,
1015 afetando peso corporal. Porém a diminuição do ganho de peso observado nas ratas do grupo

1016 tratado com melatonina, em relação fêmeas do controle, provavelmente ocorreu em virtude deste
1017 hormônio atuar no metabolismo dos lipídios aumentando a lipólise (BONDARENKO et al.
1018 2011; JIN et al., 2017; MI et al., 2018; VALENZUELA-MELGRAJO et al., 2018).

1019 No que se refere ao peso dos filhotes o grupo GH teve uma média de ganho de peso
1020 significativamente menor quando comparado com os grupos GC e GHM. Isso pode ter ocorrido
1021 devido a uma falha na excreção do leite, causado pela hipotireoidismo (ARBOCCÓ et al., 2015;
1022 YOUSEFZADEH et al., 2016) ou pela diminuição do labirinto placentário, comprometendo a
1023 nutrição fetal provocando um déficit no desenvolvimento da prole (SILVA et al., 2012). Tal
1024 diferença entre os grupos GC e o GHM não foi observada, sendo provavelmente relacionada ao
1025 fato dos filhotes não terem sido tratados diretamente com a melatonina. Em relação ao número
1026 de filhotes, observamos que o grupo GH teve uma diminuição quando comparado com os outros
1027 dois grupos. Segundo Hápon et al. (2003), ratas hipotireoidéticas ovulam normalmente,
1028 entretanto, ocorre uma diminuição na taxa de implantação (LUCQUES et al., 2015).

1029 A análise morfométrica dos testículos dos filhotes de matrizes do grupo GH revelou uma
1030 diminuição do percentual do epitélio seminífero co-relacionado ao aumento do percentual do
1031 lúmen e estroma em relação aos demais grupos. Vários estudos mostraram que os hormônios
1032 tireoidianos afetam a esteroidogênese, bem como a espermatogênese, por promover mudanças na
1033 atividade metabólica basal e respiração celular (OPPENHEIMER et al., 1987; MUTVEI &
1034 NELSON, 1989; FADLLALA et al., 2017), ou por afetar as células de Leydig, resultando na
1035 redução da secreção de testosterona (ZIRKIN et al. 1980; MENDIS-HANDAGAMA et al.,
1036 1991). Esta última hipótese parece ser a mais provável para explicar os resultados, onde o
1037 animais apresentaram um baixo índice organossomático e de proliferação celular, demonstrando
1038 claramente a interferência nas células de Leydig, as quais estão envolvidas na regulação do

1039 tamanho e desenvolvimento testicular (HOLSBERGER & COOKE, 2005; KOREJO et al.,
1040 2016). Já nos filhotes das matrizes do grupo GHM os dados morfométricos, índice
1041 organossomático e de proliferação celular não apresentaram diferenças significativas em relação
1042 ao GC. Isso sugere que a melatonina preveniu os efeitos do PTU, melhorando a estrutura
1043 testicular mantendo a proliferação das células da linhagem espermatogênicas (GHOLAMI et al,
1044 2013, 2014).

1045 Em relação aos folículos ovarianos, já foi esclarecido que o hipotireoidismo causa uma
1046 diminuição na quantidade de folículos primordiais, primários e secundários, mostrando que os
1047 hormônios tireoidianos agem na folicogênese em ratas adultas (RODRÍGUEZ-CASTELÁN et
1048 al., 2017; MENG et al., 2017). Neste estudo foi observado que as alterações nos ovários se
1049 estendem para a prole, promovendo redução dos folículos secundários e aumento do percentual
1050 do estroma. A transição do folículo primário para o secundário (estágio pré-antral) é controlado
1051 por fatores intra-ovarianos, como o GDF-9 (Fator de Diferenciação e Crescimento-9)
1052 (MCGRATH et al., 1995; ORISAKA et al., 2006). Sabe-se que esse fator mitogênico sofre
1053 influência da tireóide, embora esse mecanismo ainda não seja totalmente conhecido (DONG et
1054 al., 1996; HAYASHI et al., 1999). A melatonina mostrou-se eficiente na manutenção normal da
1055 foliculogênese na prole, provavelmente devido à presença do receptor MT1 nos folículos
1056 ovarianos, visto que estudos mostraram que a suplementação *in vitro* com esse hormônio em
1057 ovócitos bovinos regulou significativamente a expressão dos genes associados ao GDF-9,
1058 induzido por esse receptor (SOARES et al., 2003; LEE et al., 2014; TIAN et al., 2014, 2017),
1059 sustentando assim a hipótese de sua atuação na fisiologia ovariana.

1060

1061 **5 Conclusão**

1062 Diante dos resultados, pode-se concluir que o tratamento com melatonina na dosagem
1063 10mg/kg se mostrou benéfico para prevenir os efeitos do hipotireoidismo materno na prole de
1064 ratos, reforçando sua capacidade de regular a organogênese durante a gestação.

1065

1066 **6 Referências**

1067 ABALOVICH, M.; GUTIERREZ,S.; ALCARAZ,G.; MACCALLINI,G.; GARCIA, A.;

1068 LEVALLE,O. Overt and subclinical hypothyroidism complica- ting pregnancy. **Thyroid**, v.12,
1069 p.63-68, 2002.

1070 AMERION, M.; TAHAJJODI, S.; HUSHMAND, Z.; SHARI, N.M.; NIKRAVESH, R.;

1071 JALALI, M. The effect of maternal thyroid disorders during pregnancy and lactation on skin

1072 developement in Wistar Rat Newborns. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, v.16, n.5,

1073 p.665-674, 2013.

1074 ARAUJO, L.F.; SOARES, J.M.; SIMÕES, R.S.; CALIÓ, P.L.; OLIVEIRA-FILHO, R.M.;

1075 SIMÕES, M.J. Effect of conjugated equine estrogens and tamoxifen administration on thyroid

1076 gland histomorphology of the rat. **Clinics**, v.61, n.64, p. 321-326, 2006.

1077 ARBOCCÓ, F.C.V.; SASSO, C.V.; NASIF, D.L.; HAPON, M.B.; JAHN, G.A. Effect of

1078 hypothyroidism on the expression of nuclear receptors and their co-regulatoros in mammary

1079 gland during lactation in the rat. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v.412, n.5, p.26-35,

1080 2015.

1081 BALTACI, A.K.; MOGULKOC, R.; KUL, A.; BEDIZ, C.S.; UGUR, A. Opposite effects of zinc

1082 and melatonin on thyroid hormones in rats. **Toxicology**, v.195, n.1, p.69-75, 2004.

1083 BALTACI, A.K.; MOGULKOC, R. Leptin, neuropeptide Y (NPY), melatonin and zinc levels in
1084 experimental hypothyroidism and hyperthyroidism: relation with melatonin and the pineal gland.
1085 **Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation**, v.34, n.3, 2018.

1086 BELVIRANLI, M.; BALTACI, A.K. The relation between reduced serum melatonin levels and
1087 zinc in rats with induced hypothyroidism. **Cell biochemistry and function**, v.26, n.1, p.19-23,
1088 2008.

1089 BODARENKO, L.A.; SOTNIK, N.N.; CHAGOVETS, E.M.; SERGIENKO, L.Y.;
1090 CHEREVKO, A.N. Intensity of in vitro incorporation of 3H-melatonin in the thyroid gland of
1091 rabbits with pineal gland hypofunction. **Bulletin of Experimental Biology and Medicine**,
1092 v.150, n.6, p.753-755, 2011.

1093 BURCOMBE, R.; WILSON, G.D.; DOWSETT, M. et al. Evaluation of Ki-67 proliferation and
1094 apoptotic index before, during and after neoadjuvant chemotherapy for primary breast cancer.
1095 **Breast Cancer Research.**, v.8, p.31-40, 2006.

1096 BUZZARD, J.J.; MORRISON, J.R.; O'BRYAN, M.K.; SONG, Q.; WREFORD, N.G.
1097 Developmental expression of thyroid hormone receptors in the rat testis. **Biology of**
1098 **Reproduction**, v.62, p.664-669, 2000.

1099 COOPER, D.S.; BIONDI, B. Subclinical thyroid disease. **Lancet**, v.379, p.1142-54, 2012.

1100 DONG, J.; ALBERTINI, D.F.; NISHIMORI, K.; KUMAR, T.R.; LU, N.; MATZUK, M.M.
1101 Growth differentiation factor-9 is required during early ovarian folliculogenesis. **Nature**, p.383-
1102 531, 1996.

1103 ESCOBAR, G.M.; OBREGON, M.J.; DEL REY, F.E. Role of thyroid hormone during early
1104 brain development. **European Journal of Endocrinology**, v.151, p.25-37, 2004.

1105 FADLALLA, M.B.; WEI, Q.; FEDAIL, J.S.; MEHFOOZ, A.; MAO, D.; SHI, F. Effects of
1106 hyper- and hypothyroidism on the development and proliferation of testicular cells in prepubertal
1107 rats. **Animal Science Journal**, v.88, n.12, p.1943-1954, 2017.

1108 FELDT-RASMUSSEN, U.; KLOSE, M. Central hypothyroidism and its role for cardiovascular
1109 risk factors in hypopituitary patients. **Endocrine**, v.54, n.1, pag.15-23, 2016.

1110 GHOLAMI, M.; HEMADI, M.; SAKI, G.; ZENDEDEL, A.; KHODADADI, A.;
1111 MOHAMMADI-ASI, J. Does prepubertal testicular tissue vitrification influence spermatogonial
1112 stem cells (SSCs) viability. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, v.30, p.1271–
1113 1277, 2013.

1114 GHOLAMI, M.; SAKI, G.; HEMADI, M.; KHODADADI, A.; MOHAMMADI-ASI, J.
1115 Melatonin improves spermatogonial stem cells transplantation efficiency in azoospermic mice.
1116 **Iran Journal Basic Med Science**, v.17, n.2, p.93-99, 2014.

1117 HAPON, M.B.; SIMONCINI, M.; VIA, G.; JAHN, G.A. Effect of hypothyroidism on hormone
1118 profiles in virgin, pregnant and lactating rats, and on lactation. **Reproduction**, v.126, p.371-381,
1119 2003.

1120 HAPON, M.B.; VARAS, S.M.; JAHN, G.A.; GIMENEZ, M.S. Effects of hypothyroidism on
1121 mammary and liver lipid metabolism in virgin and late-pregnant rats. **Journal of Lipid**
1122 **Research**, v.46, p.1320-1330, 2005.

1123 HAPON, M.B.; GAMARRA-LUQUES, C.; JAHN, G.C. Short term hypothyroidism affects
1124 ovarian function in the cycling rat. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v.8, n.14, p.1-
1125 11, 2010.

1126 HAYASHI, M.; MCGEE, E.A.; MIN, G.; KLEIN, C.; ROSE, U.M.; VAN DUIN, M.; HSUEH,
1127 A.J. Recombinant growth differentiation factor-9 (GDF-9) enhances growth and differentiation
1128 of cultured early ovarian follicles. **Endocrinology**, v.140, p.1236–1244, 1999.

1129 HOLSBERGER, D.R.; COOKE, P.S. Understanding the role of thyroid hormone in Sertoli cell
1130 development: a mechanistic hypothesis. **Cell and Tissue Research**, v.322, p.133–140, 2005.

1131 JIN, J.X.; LEE, S.; TAWEECHAIPAIKUL, A.; KIM, G.A.; LEE, B.C. Melatonin regulates
1132 lipid metabolism in porcine oocytes. **Journal of Pineal Research**, v.62, n.2, 2017.

1133 KOREJO, N.A.; Q-W, W.; SHAH, A.H.; F-X, S. Effects of concomitant diabetes mellitus and
1134 hyperthyroidism on testicular and epididymal histoarchitecture and steroidogenesis in male
1135 animals. **Journal of Zhejiang University-Science**, v.17, 850–863, 2016.

1136 LASKAR, P.; ACHARJEE, S.; SINGH, S.S. Effect of exogenous melatonin on Thyroxine,
1137 Thyrotropin hormone levels and expression patterns of melatonin receptor proteins on thyroid
1138 gland during different age groups of male and female swiss albino mice. **Advances in**
1139 **BioResearch**, v.6, n.1, p.7-14, 2015.

1140 LEE, H.; KIM, S.; KIM, D. Effects of exercise with or without light exposure on sleep quality
1141 and hormone responses. **The Journal of Exercise Nutrition and Biochemistry**, v.6, n.1, p.293–
1142 299, 11 set. 2014.

1143 LUCQUES, C.G.; ARBOCCÓ, F.C.V.; PIETROBON, E.O.; SCANLAN, T.; JAHN, G.A.;
1144 HAPON, M.B. Impact of gestational hypothyroidism on uterine implantation and reproductive
1145 performance in the rat. **Placenta**, v.36, n.4, p.518, 2015.

1146 MACIEL, L.M.Z.; MAGALHÃES, P.K.R. Tiróide e gravidez. **Arquivo Brasileiro de**
1147 **Endocrinologia Metabólica**, v.52, n.7, p.1084-1095, 2008.

1148 MCGRATH, S.A.; ESQUELA, A.F.; LEE, S-J. Oocyte-specific expression of
1149 growth/differentiation factor-9. **Molecular Endocrinology**, v.9, p.131, 1995.

1150 MAGANHIN, C.C.; FUCHS, L.F.P.; SIMÕES, R.S.; OLIVEIRA-FILHO, R.M.; SIMÕES, M.J.;
1151 BARACAT, E.C.; SOARES-JUNIOR, J.M. Effects of melatonin on ovarian follicles. **European**
1152 **Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology**, v.166, p.178-184, 2013.

1153 MENDIS-HANDAGAMA, S.C.; KERR, J.B.; KRETZER, D.M. Experimental cryptorchidism in
1154 the adult mouse. **Journal of Andrology**, v.12, p.335–343, 1991.

1155 MENG, L.; RIJNTJES, E.; SWARTS, H.J.M.; KEIJER, J.; TEERS, K.J. Prolonged
1156 hypothyroidism severely reduces ovarian follicular reserve in adult rats. **Journal of Ovarian**
1157 **Research**, v.10, n.19, p. 1-8, 2017.

1158 MI, Y.; TAN, D.; ZHOU, X.; ZHOU, Q.; JI, S. Melatonin modulates lipid metabolism in HepG2
1159 cells cultured in high concentrations of oleic acid: AMPK pathway activation may play an
1160 important role. **Cell Biochemistry and Biophysics**, v.76, n.4, p.463-470, 2018.

1161 MUTVEI, A.; NELSON, B.D. The response of individual polypeptides of the mammalian
1162 respiratory chain to thyroid hormone. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.268, p.215–
1163 220, 1989.

1164 NEVES, E. S.; CHIARINI-GARCIA, H.; FRANÇA, L. R. Comparative testis morphometry and
1165 seminiferous epithelium cycle length in donkeys and mules. **Biology of Reproduction**, v.67,p.
1166 247–255, 2002.

1167 OPPENHEIMER, J.; SCHWARTZ, H.; MARIASH, C.; KINLAW, W.; WONG, N.; FREAKE,
1168 H. Advances in our understanding of thyroid hormone action at the cellular level. **Endocrine**
1169 **Reviews**, v.8, p.288–308, 1987.

1170 ORISAKA, M.; ORISAKA, S.; JIANG, J.Y.; CRAIG, J.; WANG, Y.; KOTSUJI, F.; TSANG,
1171 B.K. Growth differentiation factor-9 is anti-apoptotic during follicular development from
1172 preantral to early antral stage. **Molecular Endocrinology**, v.20, p.2456–2468, 2006.

1173 OZGUNER, F.; BARDAK, Y.; COMLEKCI, S. Protective effects of melatonin and caffeic acid
1174 phenethyl ester against retinal oxidative stress in long-term use of mobile phone: A comparative
1175 study. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v.282, p.83–88, 2006.

1176 RODRÍGUEZ-CASTELÁN, J.; MÉNDEZ-TEPEPA, M.; CARRILLO-PORTILLO, Y.; Anaya-
1177 Hernández, A.; RODRÍGUEZ-ANTOLÍN, J.; ZAMBRANO, E.; CASTELÁN, F.; CUEVAS-
1178 ROMERO, E. Hypothyroidism Reduces the Size of Ovarian Follicles and Promotes Hypertrophy
1179 of Periovarian Fat with Infiltration of Macrophages in Adult Rabbits. **BioMed Research**
1180 **International**, v.2017, n.2, p.1-11, 2017.

1181 ROMALDINI, J.H.; SGARBI, J.A.; FARAH, C.S. Subclinical thyroid disease: subclinical
1182 hypothyroidism and hyperthyroidism. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia& Metabologia**,
1183 v.48, p.147-58, 2004.

1184 SANTOS, K.R.P.; TEIXEIRA, A.A.C.; SILVA-NETO, J.; WANDERLEY-TEIXEIRA V.;
1185 CUNHA, F.M. Morphometric analysis of the development of the ovarian follicles in
1186 pinealectomized rats. **International Journal of Morphology**, v.22, n.2, p.109-112, 2004.

1187 SERAKIDES, R.; NUNES, V.A.; SANTOS, R. L.; CASSALI, G. D.; COSTA NETO, P.P.
1188 Histomorphometry and Quantification of Nucleolar Organizer Regions in Bovine Thyroid
1189 Containing Methylthiouracil Residues. **Veterinary Pathology**, v.36, p.574–582, 1999.

1190 SHIZUMA, T. Concomitant thyroid disorders and inflammatory bowel disease: a literature
1191 review. **BioMed Research International**, v.6, p.1-12, 2016.

1192 SILVA, J.F. VIDIGAL, P.N.; GALVÃO, D.D.; BOELONI, J.N.; NUNES, P.P.; OCARINO,
1193 N.M.; NASCIMENTO, E.F.; SERAKIDES, R. Fetal growth restriction in hypothyroidism is
1194 associated with changes in proliferative activity, apoptosis and vascularization of the placenta.
1195 **Reproduction, Fertility and Development**, v.24, n.7,p.923-931, 2012.

1196 SILVA, J.F.; OCARINO, N.M.; SERAKIDES, R. Maternal thyroid dysfunction affects placental
1197 profile on inflammatory mediators and the intrauterine trophoblast migration kinetics.
1198 **Reproduction**, v.147, n.6, p.803-816, 2014.

1199 SOARES JR, J.M.;SIMÕES, R.S.;SIMÕES, M.J.;BARACAT, E.C. Aspectos moleculares dos
1200 receptores de melatonina e sua ação na reprodução. **Femina**, v.31, n.6, p.495-500, 2003.

1201 SURKS, M.I.; ORTIZ, E.; DANIELS, G.H.; SAWIN, C.T.; COL, N.F.; COBIN, R.H.;
1202 FRANKLYN, J.A.; HERSHMAN, J.M.; BURMAN, K.D.; DENKE, M.A.; GORMAN,
1203 C.; COOPER, R.S.; WEISSMAN, N.J. Subclinical thyroid disease: scientific review and
1204 guidelines for diagnosis and management. **Journal of the American Medical Association**,
1205 v.291, p.228-238, 2004.

1206 TAMURA, H.; TAKASAKI, A.; TAKETANI, T.; TANABE, M.; LEE, L.; TAMURA, I.;
1207 MAEKAWA, R.; AASADA, H.; YAMAGATA, Y.; SUGINO, N. Melatonin and female
1208 reproduction. **Obstetrics and Gynaecology Research**, v.40, n.1, p.1-11, 2014.

1209 TIAN, X.; WANG, F.; HE, C.; ZHANG, L.; TAN, D.; REITER, R.J.; XU, J.; JI, P.; LIU, G.
1210 Beneficial effects of melatonin on bovine oocytes maturation: A mechanistic approach. **Journal**
1211 **of Pineal Research**, v.57, p.239–247, 2014.

1212 TIAN, X.; WANG, F.; ZHANG, L.; HE, C.; JI, P.; WANG, J.; ZHANG, Z.; V, D.; ABULIZI,
1213 W.; WANG, X.; LIAN, Z.; LIU, G. Beneficial Effects of Melatonin on the In Vitro Maturation

1214 of Sheep Oocytes and Its Relation to Melatonin Receptors. **International Journal of Molecular**
1215 **Sciences**, v.18, n.4, p.834-848, 2017.

1216 VALENZUELA-MELGAREJO, F.J.; CARO-DÍA, C.; CABELLO-GUZMAN, G. Potential
1217 Crosstalk between fructose and melatonin: a new role of melatonin - inhibiting the metabolic
1218 effects of fructose. **International Journal of Endocrinology**, v.2018, p.1-11, 2018.

1219 WAGNER, M.S.; WAJNER, S.M.; MAIA, A.L. The Role of Thyroid Hormone in Testicular
1220 Development and Function. **Journal of Endocrinology**, v.199, n.3, p.351-365, 2008.

1221 WELSH, K.J.; SOLDIN, S.J. Diagnosis of endocrine disease: how reliable are free thyroid and
1222 total T3 hormone assays? **European Journal of Endocrinology**, v.175, n.6, p.255-263, 2016.

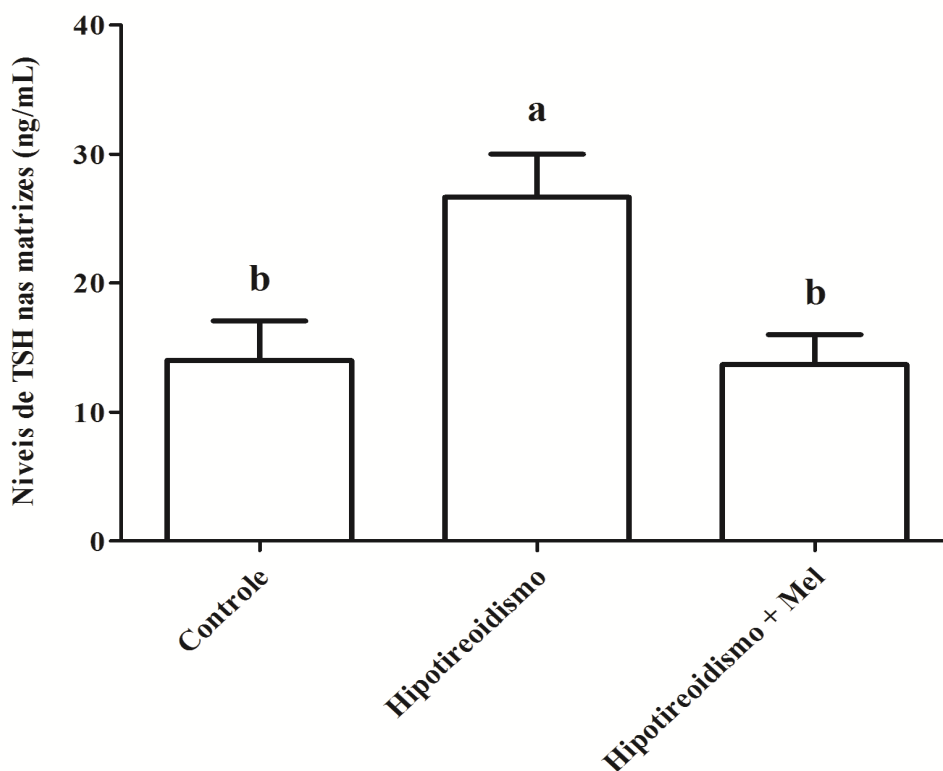
1223 YOUSEFZADEH, N.; JEDDI, S.; ALIPOUR, M.R. O efeito de hipotireoidismo fetal na
1224 expressão da miosina cardíaca de cadeia pesada em ratos macho. **Arquivo Brasileiro de**
1225 **Cardiologia**, v.107, n.2, p.147-153, 2016.

1226 ZIRKIN, B.R.; EWING, L.; KROMANN, N.; COCHRAN, R. Testosterone secretion by rat,
1227 rabbit, guinea pig, dog, and hamster testes perfused in vitro: correlation with Leydig cell
1228 ultrastructure. **Endocrinology**, v.107, p.1867–1874, 1980.

1229 Tabela 1: Média e desvio padrão do ganho de peso corporal, número de filhotes, peso dos
 1230 ovários e da tireoide das matrizes dos grupos experimentais.

| | GC | GH | GHM | P |
|-----------------------|---------------|---------------|----------------|--------|
| Ganho de Peso (g) | 57,00 ± 5,09a | 32,25 ± 4,28b | 44,00 ± 6,91ab | 0,0349 |
| Número de filhotes | 6,4 ± 0,5a | 3,6 ± 0,2b | 5,4 ± 0,4a | 0,0011 |
| Peso dos ovários (g) | 0,10 ± 0,01a | 0,04 ± 0,01b | 0,08 ± 0,02a | 0,0090 |
| Peso da tireoide (mg) | 0,19 ± 0,01a | 0,12 ± 0,01b | 0,18 ± 0,01a | 0,0102 |

1231 Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si de acordo com o teste de Wilcoxon-Mann-
 1232 Whitney (P<0,05).



1245 Figura 2: Níveis séricos do TSH nas matrizes dos grupos experimentais no 21^o dia de gestação.
 1246 Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si de acordo com o teste de Wilcoxon-
 1247 Mann-Whitney (P<0,05).

1248
1249
1250
1251
1252
1253
1254
1255
1256
1257
1258
1259
1260
1261
1262
1263

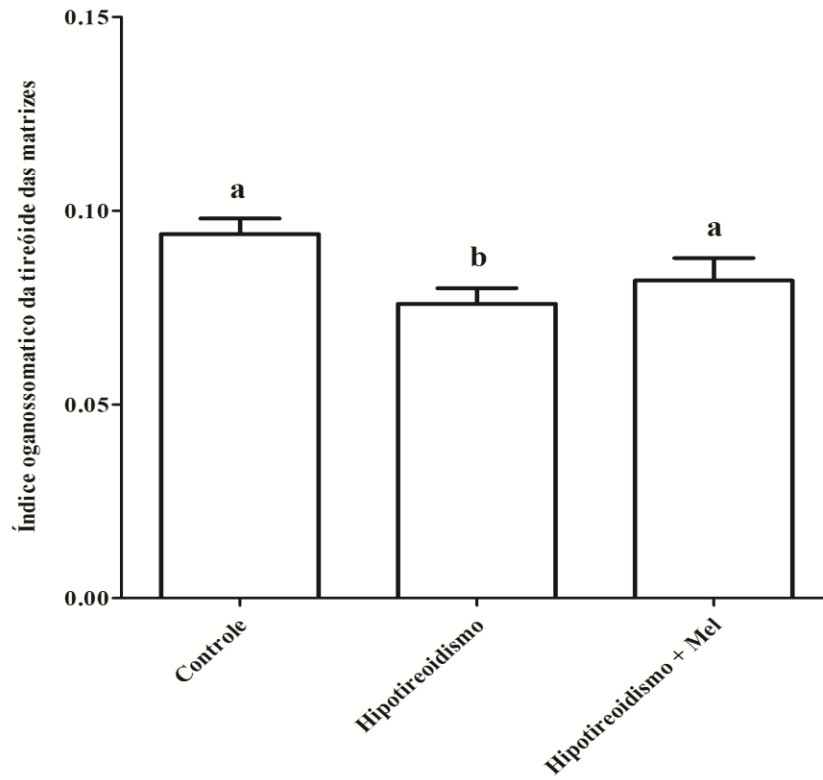


Figura 3: Índice organossomático da tireóide das matrizes dos grupos experimentais. Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si de acordo com o teste de Wilcoxon-Mann-Whitney ($P < 0,05$).

1264
1265
1266
1267
1268
1269
1270
1271
1272
1273
1274
1275
1276
1277
1278
1279
1280
1281
1282
1283
1284
1285
1286
1287
1288

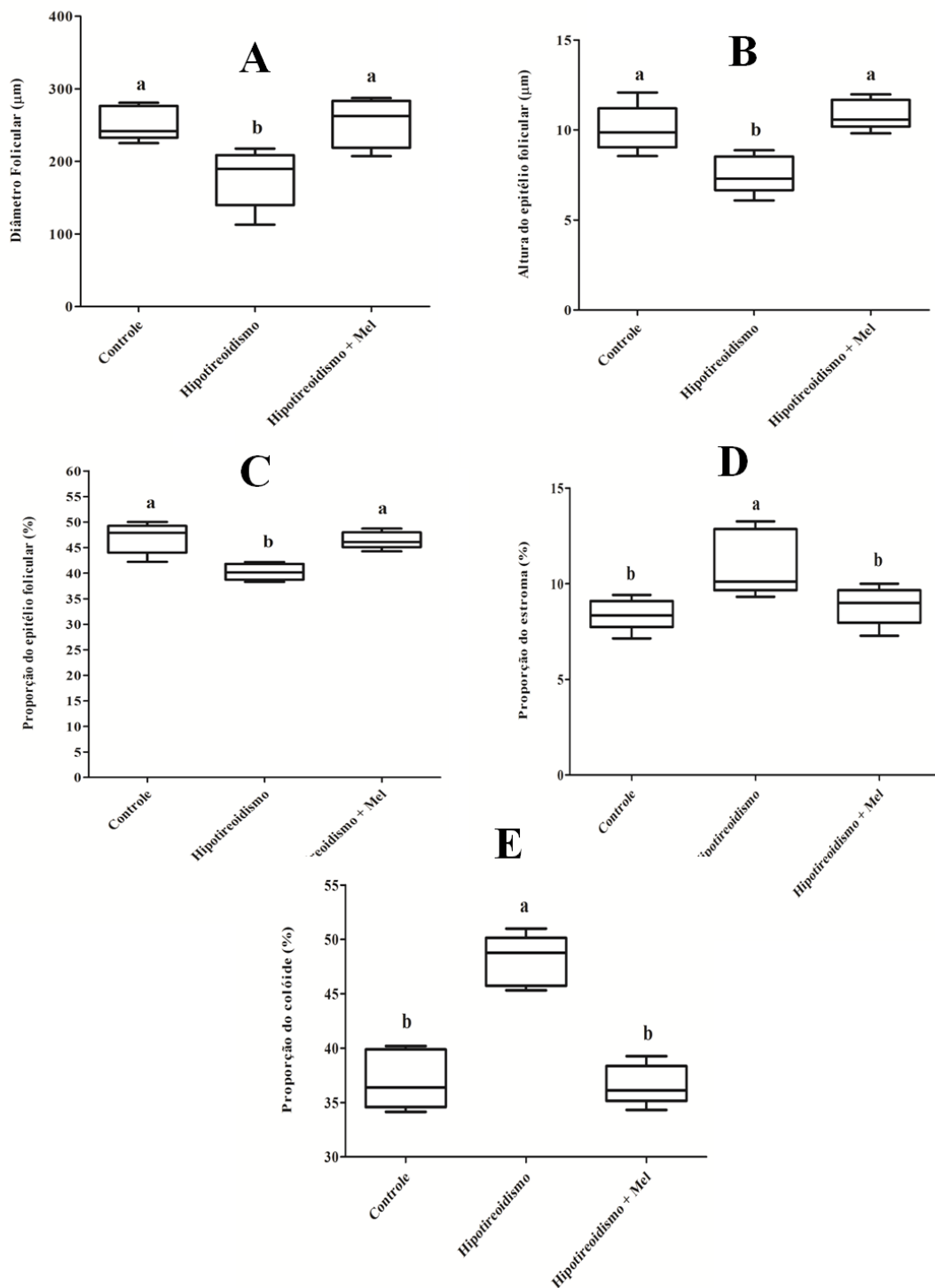


Figura 4: Morfometria da tireóide das matrizes dos grupos experimentais. A – Diâmetro folicular; B – Altura do epitélio folicular; C – Proporção do epitélio folicular; D – Proporção do estroma e E – Proporção do colóide. Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si de acordo com o teste de Wilcoxon-Mann-Whitney ($P < 0,05$).

1289 Tabela 2: Média e desvio padrão do ganho de peso corpóreo, das gônadas e tireóide dos filhotes
 1290 das matrizes dos grupos experimentais.

| | GC | GH | GHM | P |
|-----------------------|---------------|---------------|----------------|----------|
| Machos | | | | |
| Ganho de Peso (g) | 21,18 ± 2,72a | 13,44 ± 1,25b | 24,91 ± 1,059a | 0,0201 |
| Peso do testículo (g) | 0,30 ± 0,01 a | 0,15 ± 0,01b | 0,26 ± 0,03a | 0,0007 |
| Peso da tireóide (mg) | 0,09 ± 0,01a | 0,06 ± 0,01b | 0,09 ± 0,01a | 0,0036 |
| Fêmeas | | | | |
| Ganho de Peso (g) | 20,04 ± 2,22a | 10,73 ± 2,06b | 18,20 ± 2,98a | 0,0004 |
| Peso dos ovários (g) | 0,07 ± 0,01a | 0,04 ± 0,01b | 0,06 ± 0,02a | 0,0108 |
| Peso da tireóide (mg) | 0,03 ± 0,01a | 0,01 ± 0,01b | 0,03 ± 0,01a | 0,0004 |

1291 Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si de acordo com o teste de Wilcoxon-Mann-
 1292 Whitney (P<0,05).

1293

1294

1295

1296

1297

1298

1299

1300

1301

1302 Tabela 3: Média e desvio padrão do número de células de Sertoli, de Leydig, percentual do epitélio,
 1303 estroma e lúmen nos testículos dos filhotes com 30 dias de nascidos das matrizes dos grupos
 1304 experimentais.

| | GC | GH | GHM | P |
|----------------------------|---------------|---------------|---------------|--------|
| Células de Sertoli | 3,50 ± 0,42a | 2,16 ± 0,47a | 3,83 ± 0,47a | 0,0510 |
| Células de Leydig | 2,20 ± 0,58a | 2,00 ± 0,44a | 2,00 ± 0,54a | 0,9537 |
| Percentual do epitélio (%) | 46,80 ± 3,00a | 28,00 ± 4,06b | 47,40 ± 2,29a | 0,0014 |
| Percentual do estroma (%) | 7,00 ± 0,40b | 10,00 ± 0,70a | 6,50 ± 0,64b | 0,0053 |
| Percentual do lúmen (%) | 44,75 ± 1,25b | 61,25 ± 1,31a | 45,25 ± 0,85b | 0,0011 |

1305 Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si de acordo com o teste de Wilcoxon-Mann-
 1306 Whitney (P<0,05).

1307 Tabela 4: Média e desvio padrão do número de folículos primários, secundários e percentual do
 1308 estroma nos ovários dos filhotes com 30 dias de nascidos das matrizes dos grupos experimentais.

| | GC | GH | GHM | P |
|---------------------------|---------------|---------------|---------------|--------|
| Folículos primários | 15,40 ± 1,32a | 14,00 ± 1,64a | 16,40 ± 1,03a | 0,4762 |
| Folículos secundários | 27,60 ± 2,06a | 18,60 ± 0,50b | 25,00 ± 1,87a | 0,0061 |
| Percentual do estroma (%) | 47,50 ± 1,44b | 59,25 ± 1,25a | 43,25 ± 0,85b | 0,0341 |

1309 Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si de acordo com o teste de Wilcoxon-Mann-
 1310 Whitney (P<0,05).

1311

1312

1313
1314
1315
1316
1317
1318
1319
1320
1321
1322
1323
1324
1325
1326
1327
1328
1329
1330
1331
1332
1333
1334

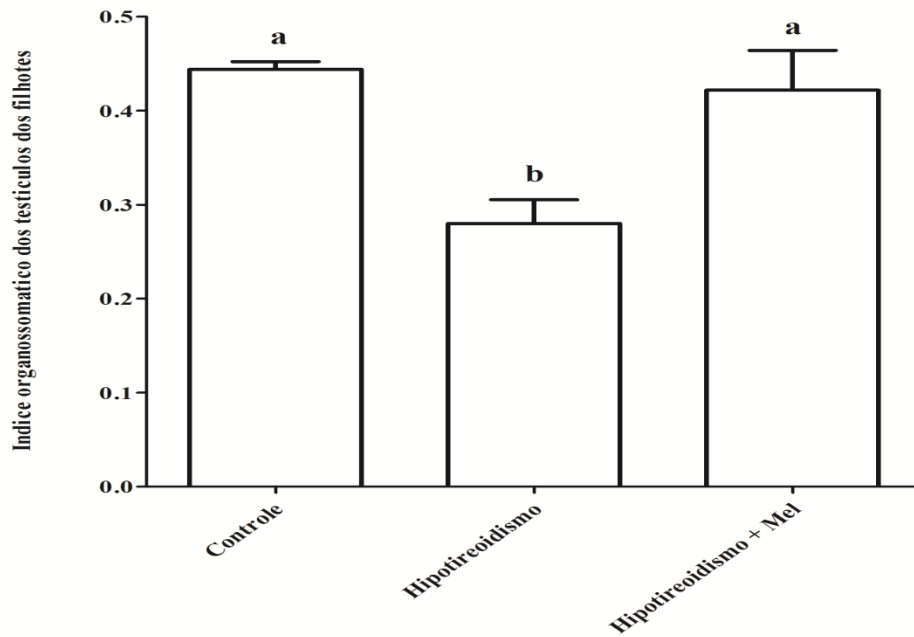


Figura 5: Índice organossomático dos testículos dos filhotes com 30 dias de nascidos das matrizes dos grupos experimentais. Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si de acordo com o teste de Wilcoxon-Mann-Whitney ($P < 0,05$).

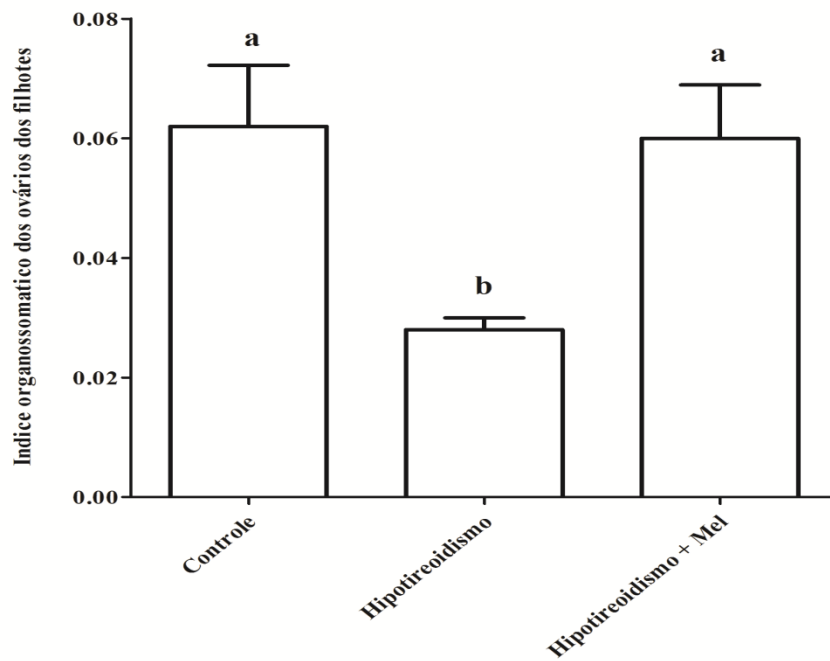
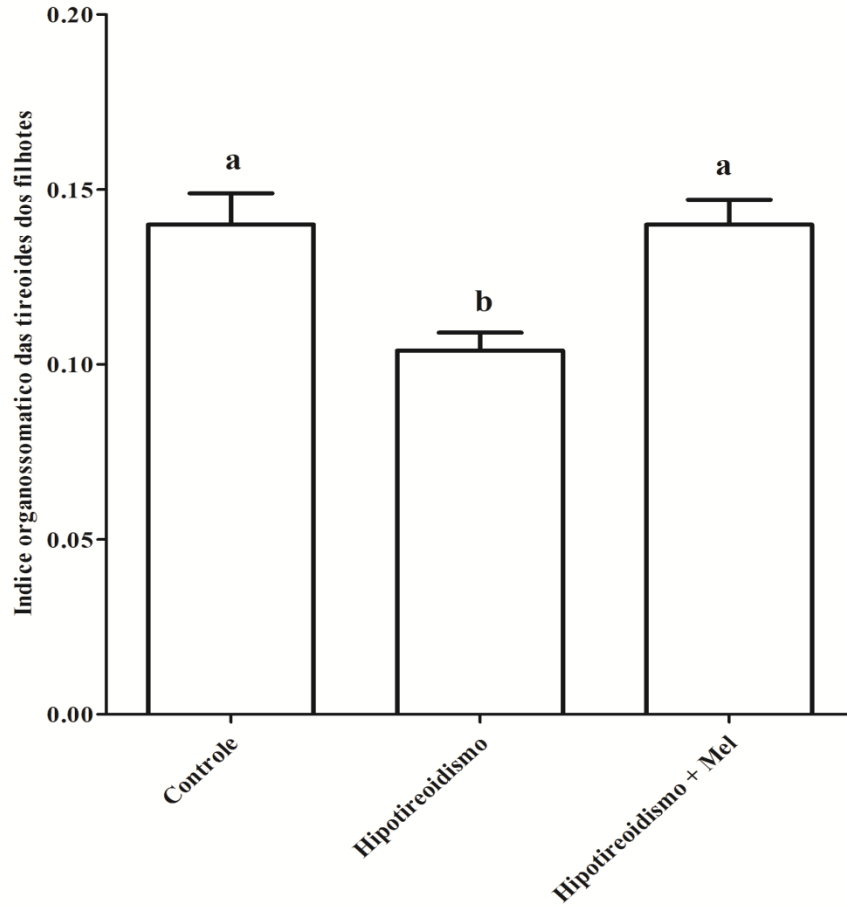


Figura 6: Índice organossomático dos ovários dos filhotes com 30 dias de nascidos das matrizes dos grupos experimentais. Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si de acordo com o teste de Wilcoxon-Mann-Whitney ($P < 0,05$).

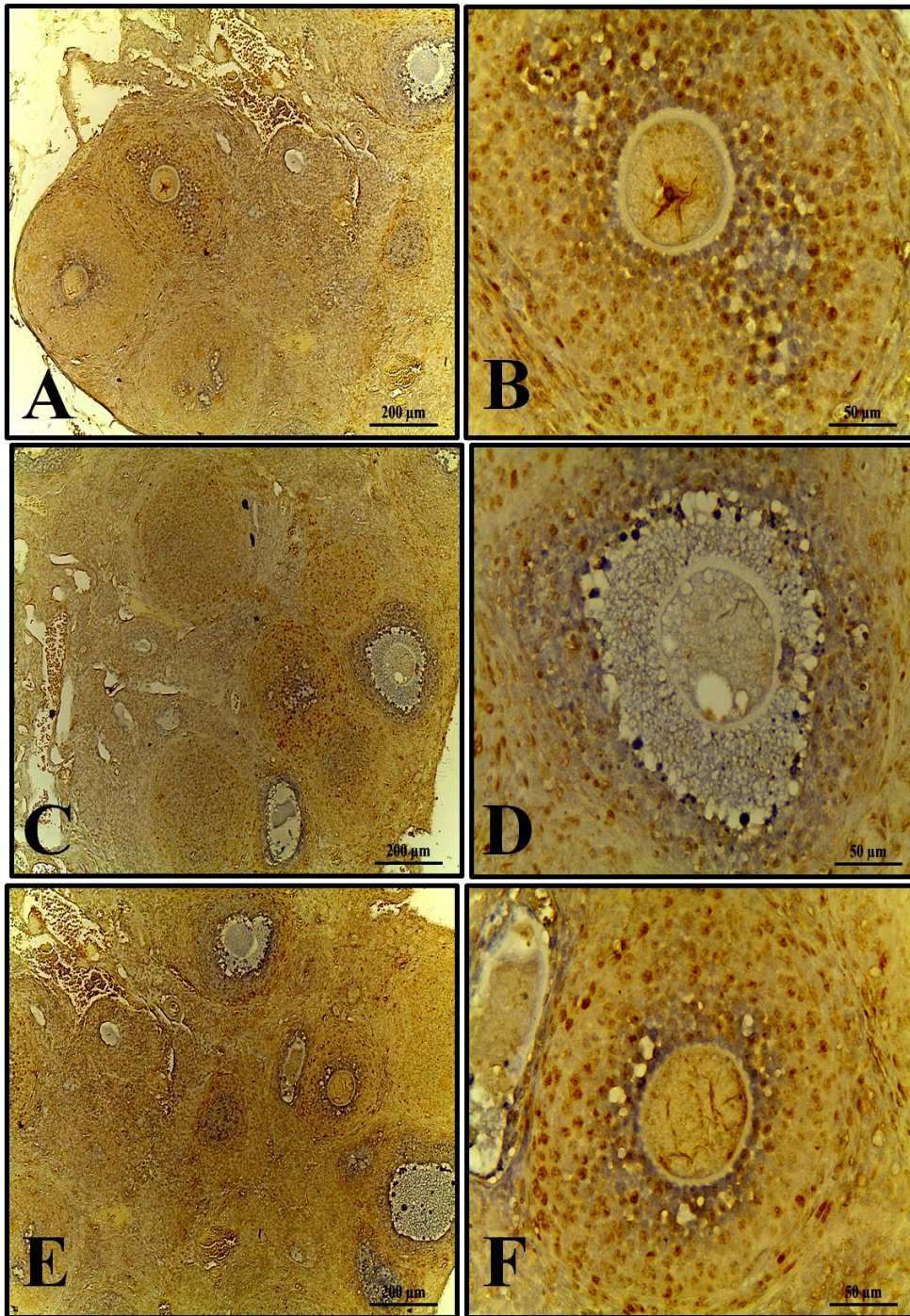
1335
1336
1337
1338
1339
1340
1341
1342
1343
1344
1345
1346
1347
1348
1349



1350 Figura 7: Índice organossomático da tireóide dos filhotes com 30 dias de nascidos das matrizes
1351 dos grupos experimentais. Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si de acordo
1352 com o teste de Wilcoxon-Mann-Whitney ($P < 0,05$).

1353

1354
1355
1356
1357
1358
1359
1360
1361
1362
1363
1364
1365
1366
1367
1368
1369
1370
1371
1372
1373
1374



1375 Figura 8: Imunohistoquímica para PCNA nos ovários dos filhotes com 30 dias de nascidos das
1376 matrizes dos grupos experimentais. A- B: GC; C – D: GH e E – F: GHM.

1377

1378

1379

1380

1381

1382

1383

1384

1385

1386

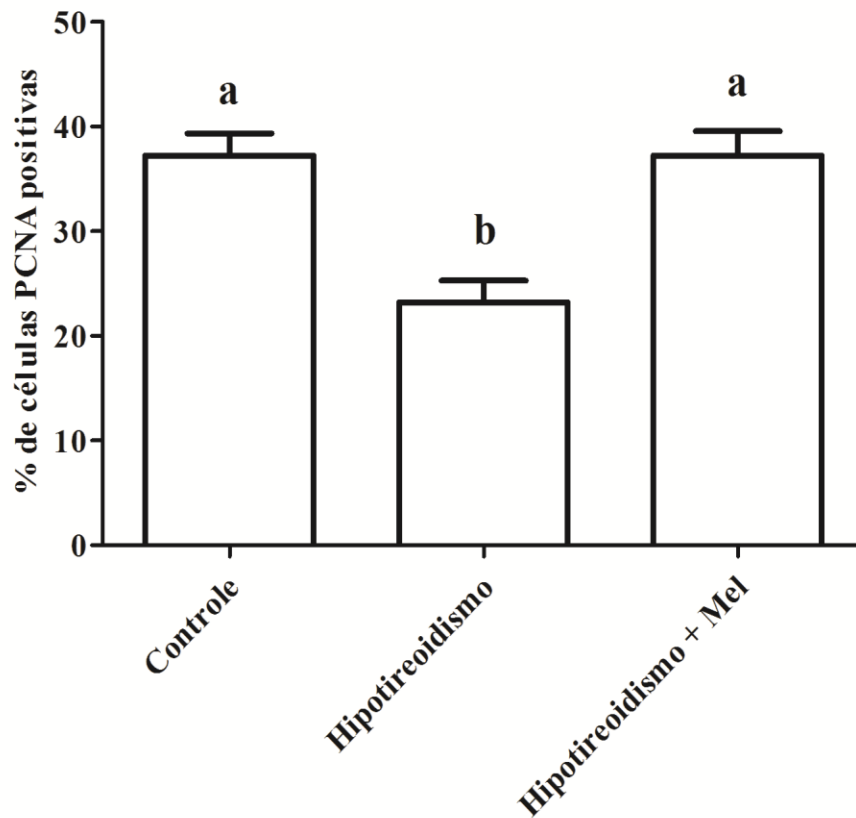
1387

1388

1389

1390

1391



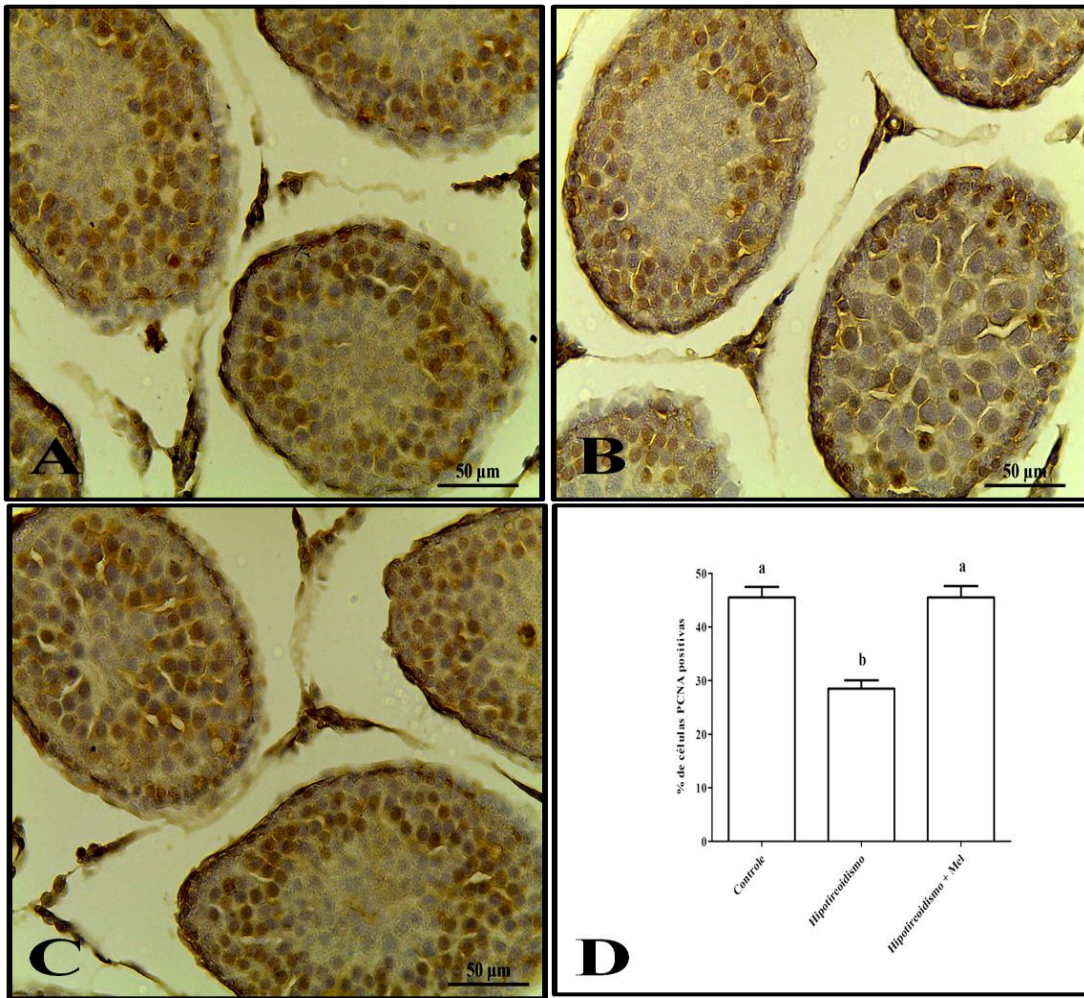
1392 Figura 9: Quantificação da marcação para o PCNA nos ovários dos filhotes com 30 dias de

1393 nascidos das matrizes dos grupos experimentais. Médias seguidas das mesmas letras não diferem

1394 entre si de acordo com o teste de Wilcoxon-Mann-Whitney ($P < 0,05$).

1395

1396
1397
1398
1399
1400
1401
1402
1403
1404
1405
1406
1407
1408
1409
1410



1411 Figura 10: Imunohistoquímica para PCNA nos testículos dos filhotes com 30 dias de nascidos
1412 das matrizes dos grupos experimentais. A- GC; B – GH; C – GHM e D - Quantificação da
1413 marcação para o PCNA. Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si de acordo com
1414 o teste de Wilcoxon-Mann-Whitney ($P < 0,05$).