



UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

HORTÊNCIA LORENA BRITO VALADARES

**A LEVOTIROXINA PODE SER UMA ALTERNATIVA PARA
SUPEROVULAR DOADORAS DE EMBRIÕES CAPRINOS?**

PETROLINA

2021

HORTÊNCIA LORENA BRITO VALADARES

**A LEVOTIROXINA PODE SER UMA ALTERNATIVA PARA
SUPEROVULAR DOADORAS DE EMBRIÕES CAPRINOS?**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Vale do São Francisco - UNIVASF, Campus de Ciências Agrárias, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Daniel Maia Nogueira

Coorientador: Prof. Dr. Edilson Soares Lopes
Júnior

PETROLINA

2021

V136I Valadares, Hortência Lorena Brito

A levotiroxina pode ser uma alternativa para superovular
doadoras de embriões caprinos? / Hortência Lorena Brito Valadares.
– Petrolina, 2021.

LVII, 57 f. il.; 29 cm.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade
Federal do Vale do São Francisco, Campus de Ciências Agrárias,
Petrolina - PE, 2021.

Orientador: Prof. Dr. Daniel Maia Nogueira.

Inclui referências.

1. Caprinocultura. 2. Caprinos – Reprodução animal. 3
Semiárido Brasileiro. I. Título. II. Universidade Federal do Vale do São
Francisco.

CDD 636.39082

UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

FOLHA DE APROVAÇÃO

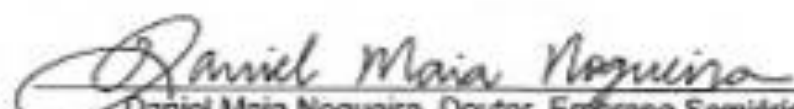
Hortência Lorena Brito Valadares

A LEVOTIROXINA PODE SER UMA ALTERNATIVA PARA SUPEROVULAR
DOADORAS DE EMBRIÕES CAPRINOS?

Dissertação apresentada como requisito
parcial para a obtenção do título de Mestre em
Ciência Animal, pela Universidade Federal do
Vale do São Francisco.

Aprovada em: 23 de junho de 2021

Banca Examinadora


Daniel Maia Nogueira, Doutor, Embrapa Semáforo


Edilson Soares Lopes Júnior, Doutor, UNIVASF


Mabel Freitas Cordeiro, Doutora, UNIVASF

*Dedico aos meus pais, amigos e
a todos que torcem por mim.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me orientar e dar forças para continuar nessa jornada, sendo o meu principal ponto de apoio.

Aos meus pais, por me incentivar com muitas palavras de afeto, me dando forças para continuar, além de me ajudar financeiramente, permitindo que eu pudesse terminar o mestrado.

Ao meu orientador e coorientador, pela oportunidade, conhecimento e colaboração na minha formação profissional.

As minhas amigas Mariana e Brenda, por todo conselho, força e risos. Principalmente, pela amizade e carinho.

Agradeço às pessoas incríveis que Deus colocou na minha vida em um momento muito difícil, me trazendo paz, através de palavras de carinho, afeto e sabedoria. Obrigada por tudo Silvan, Lays, Stayce, Leticia e Rosinha.

À Universidade Federal do Vale do São Francisco, pela oportunidade de realização de um grande sonho.

À Empresa de Pesquisa em Agropecuária – Embrapa Semiárido, pelo auxílio à pesquisa, e permitir a realização do experimento e análises, possibilitando meu profissional.

À FACEPE, pela concessão da bolsa de estudos.

Aos professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (PPGCA) / UNIVASF, especialmente à Rosangela (Rosinha), por estar sempre disponível a ajudar todos e executar o seu trabalho com excelência.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

RESUMO

A caprinocultura é uma alternativa pecuária da região semiárida do Vale do São Francisco. Existe uma demanda crescente pelo desenvolvimento e aplicação de inovações tecnológicas, que gerem melhorias nesta atividade. Com o intuito de aumentar a eficiência dos protocolos de superovulação em caprinos nativos, objetivou-se avaliar o uso da levotiroxina em protocolos de superovulação da espécie caprina, sobre o número de folículos pequenos, médios, grandes e número de ovulações em cabras Canindé. O estudo foi realizado na estação experimental da Embrapa Semiárido, utilizando-se 30 fêmeas da raça Canindé que foram divididos em três grupos experimentais (FSH/LH, LevoFSH/LH e Levo). No grupo FSH/LH, foi realizado apenas a administração de 200 UI de Pluset®, dividido em seis doses decrescentes (50/50UI; 25/25UI; 25/25UI) e por um período de três dias. No grupo LevoFSH/LH, foi administrado Pluset®, na dose de 80 UI (20/20UI; 10/10UI; 10/10UI), associado à 200 µg de levotiroxina por dia, durante três dias. Já o grupo Levo, recebeu apenas a administração de 200 µg de levotiroxina por dia e durante três dias. Para análise estatística, foi utilizado o teste de Análise de Variância (ANOVA) para avaliar os níveis de T3 no soro dos animais, teste GLM para comparar os efeitos dos tratamentos, intervalo médio entre a retirada das esponjas e o início do estro, número de folículos pequenos, médios e grandes, máximo diâmetro folicular e número de ovulações. Foi utilizado o teste Qui-quadrado para avaliação da porcentagem de animais em estro após a retirada das esponjas. O programa estatístico utilizado foi o SAS University Edition 2.8.1 (SAS, 2018) e as diferenças foram consideradas significativas quando $P < 0,05$. Os resultados demonstraram que a utilização, apenas, de levotiroxina não foi capaz de promover a superovulação em cabras, mas estimulou o recrutamento de folículos pequenos. Além disso, foi observado que a levotiroxina, quando utilizada em associação ao FSH/LH na dose de 80 UI, promoveu um aumento inicial do número de folículos pequenos e médios, mas não promoveu superovulação. Concluiu-se que, nas condições experimentais, a utilização de levotiroxina sozinha ou quando associada às gonadotrofinas hipofisárias, não foi suficiente para promover a superovulação em cabras.

Palavras-chave: Cabra. Dinâmica folicular. Gonadotrofina. Tiroxina.

ABSTRACT

Goat farming is a livestock alternative in the semiarid region of the São Francisco Valley. There is a growing demand for the development and application of technological innovations that generate improvements in this activity. In order to increase the efficiency of superovulation protocols in native goats, this study aimed to evaluate the use of levothyroxine in goat superovulation protocols, on the number of small, medium, large follicles and number of ovulations in Canindé goats. The study was carried out at the experimental station of Embrapa Semiárido, using 30 females of the Canindé breed that were divided into three experimental groups (FSH/LH, LevoFSH/LH and Levo). In the FSH/LH group, only 200 UI of Pluset® was administered, divided into six decreasing doses (50/50UI; 25/25UI; 25/25UI) and for a period of three days. In the LevoFSH/LH group, Pluset® was administered at a dose of 80 UI (20/20UI; 10/10UI; 10/10UI) associated with 200 µg of levothyroxine per day, for three days. Already the Levo group, received only the administration of 200 µg of levothyroxine per day and for three days. For statistical analysis, the Analysis of Variance (ANOVA) test was used to assess T3 levels in the serum of animals, GLM test to compare the effects of treatments, mean interval between sponge removal and the beginning of estrus, number of small, medium and large follicles, maximum follicular diameter and number of ovulations. The Chi-square test was used to assess the percentage of animals in estrus after sponge removal. The statistical program used was SAS University Edition 2.8.1 (SAS, 2018) and differences were considered significant when $P < 0.05$. The results showed that the use of levothyroxine alone was not able to promote superovulation in goats, but stimulated the recruitment of small follicles. Furthermore, it was observed that levothyroxine, when used in association with FSH/LH at a dose of 80 IU, promoted an initial increase in the number of small and medium follicles, but did not promote superovulation. It was concluded that, under experimental conditions, the use of levothyroxine alone or when associated with pituitary gonadotropins was not sufficient to promote superovulation in goats.

Keywords: Goat. Follicular dynamics. Gonadotropin. Thyroxine.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Modelo da dinâmica folicular em cabras.....	18
Figura 2 – Modelo de protocolo de superovulação em caprinos a base de Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG).....	24
Figura 3 – Modelo de protocolo de superovulação em caprinos a base de Hormônio Folículo Estimulante (FSH).....	25
Figura 4 – Camundongos utilizados para avaliação da via de administração da levotiroxina.....	32
Figura 5 – Cabras Canindé submetidas aos protocolos experimentais separadas por cor.....	33
Figura 6 – Protocolo de superovulação com detecção de estro (D.E.), avaliação ultrassonográfica e laparoscopia (USG: Ultrassonografia; D.E.: Detecção de Estro; e LEVO: Levotiroxina)	34
Figura 7 – Avaliação da dinâmica folicular de cabras Canindé por ultrassonografia.....	35
Figura 8 – Observação de cabras em estro com auxílio de um macho contido por uma corda.....	36
Figura 9 – Avaliação laparoscópica para contagem do número de corpos lúteos e cabras Canindé.....	37
Figura 10 – Média do número de a) folículos pequenos (2 a 3 mm), b) médios (>3 a <4mm) e c) grandes (≥ 4 mm) de cabras Canindé submetidas a diferentes protocolos de superovulação.....	40
Figura 11 – População folicular predominante dentro de cada grupo experimental nos dias 9, 10 e 11 do experimento.....	42
Figura 12 – Intervalo entre a retirada das esponjas e o início do estro em cabras Canindé.....	44
Figura 13 – Ovários das cabras no procedimento de laparoscopia. A) Grupo FSH/LH; B); Grupo LevoFSH/LH; e C) Grupo Levo.....	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Níveis séricos de triiodotironina (T_3) em soro de cabras Canindé.....	39
Tabela 2 – Porcentagem de cabras em estro e intervalo médio (horas) entre a retirada das esponjas e o início do estro (RE-IE)	43
Tabela 3 – Porcentagem de cabras em estro em dois intervalos após a retirada das esponjas.....	44
Tabela 4 – Número de corpos lúteos em regressão, de corpos lúteos ativos, total de corpos lúteos/ovulações e diâmetro dos maiores folículos de cabras Canindé.....	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de variância
MAP	Medroxyprogesterone acetate (Acetato de medroxiprogesterona)
CL	Corpo Lúteo
D	Dia
FG	Folículo grande
FM	Folículo médio
FP	Folículo pequeno
FPO	Folículo pré-ovulatório
FSH	Follicle Stimulating Hormone (Hormônio folículo-estimulante)
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormone (Hormônio liberador de gonadotofinas)
HT	Hormônio Tireoidiano
IGF-1	Insulin-like Growth Factor 1 (Fator de crescimento semelhante à insulina)
LH	Luteinizing Hormone (Hormônio luteinizante)
LS	Levotiroxina Sódica
MG	Miligrama(s)
MHZ	Mega-Hertz
µg	Micrograma(s)
PGF _{2α}	Prostaglandina F2-alfa
SAS	Statistical Analyses System (Sistema de análises estatísticas)
T ₃	Triiodotironina
T ₄	Tiroxina
TSH	Thyroid Stimulating Hormone (Hormônio estimulador da tireoide)
UI	Unidade internacional

SUMÁRIO

I.	INTRODUÇÃO	14
II.	DESENVOLVIMENTO	15
1.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
1.1.	CICLO ESTRAL E REGULAÇÃO HORMONAL	15
1.2.	DINÂMICA FOLICULAR	17
1.3.	BIOTECNOLOGIAS DA REPRODUÇÃO NA CAPRINOCULTURA	20
1.4.	USO DE GONADOTROFINAS EM PROTOCOLOS DE SUPEROVULAÇÃO	22
1.5.	HORMÔNIOS TIREOIDIANOS	25
1.6.	INFLUÊNCIA DOS HORMÔNIOS TIREOIDIANOS NA FOLICULOGÊNESE	26
1.7.	LEVOTIROXINA SÓDICA	27
2.	HIPÓTESE	29
3.	JUSTIFICATIVA	30
4.	OBJETIVOS	31
4.1.	GERAL	31
4.2.	ESPECÍFICOS	31
5.	MATERIAL E MÉTODOS	32
5.1.	ASPECTOS ÉTICOS	32
5.2.	LOCAL E ÉPOCA DE EXECUÇÃO	32
5.3.	PRÉ-EXPERIMENTO	32
5.4.	EXPERIMENTO	33
5.3.	ANIMAIS	33
5.4.	TRATAMENTOS HORMONAIS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	33
5.5.	AVALIAÇÃO DOS FOLÍCULOS POR ULTRASSONOGRAFIA	34
5.6.	OBSERVAÇÃO DAS FÊMEAS PARA A OCORRÊNCIA DE ESTRO	35
5.7.	NÚMERO DE OVULAÇÃO POR LAPAROSCOPIA	35
5.8.	ANÁLISE ESTATÍSTICA	36
6.	RESULTADOS	37
6.1.	PRÉ-EXPERIMENTO	37
6.2.	EXPERIMENTO	37
7.	DISCUSSÃO	44
7.1.	PRÉ-EXPERIMENTO	44

7.2. EXPERIMENTO	44
III. CONSIDERAÇÕES FINAIS	48
REFERÊNCIAS	49
ANEXO A – DECLARAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA/EMBRAPA)	59

I. INTRODUÇÃO

Na caprinocultura, assim como em outros segmentos do agronegócio brasileiro, existe uma demanda crescente pelo desenvolvimento e aplicação de inovações tecnológicas, que gerem melhorias nesta atividade (TEIXEIRA *et al.*, 2013).

O conhecimento dos mecanismos que regulam a atividade reprodutiva, é fundamental para o desenvolvimento de biotécnicas que melhorem o desempenho produtivo dos animais (LOPES JÚNIOR *et al.*, 2006). A biotécnica denominada de Múltipla Ovulação e Transferência de Embriões (MOTE) permite uma rápida multiplicação de animais de alta qualidade genética. No entanto, para a realização da MOTE, faz-se necessária uma estimulação ovariana com o intuito de elevar a resposta ovulatória das doadoras de embriões, a qual, quase sempre, é realizada pelo uso do Hormônio Folículo Estimulante (FSH) (FREITAS *et al.*, 2014).

As gonadotrofinas hipofisárias (FSH e LH) possuem função reguladora na foliculogênese e no sistema reprodutor (SARAIVA *et al.*, 2010). Além disso, vários eventos que ocorrem durante a foliculogênese e esteroidogênese estão sob a influência direta ou indireta dos hormônios tireoidianos T3 (triiodotironina) e T4 (tiroxina) (SERAKIDES *et al.*, 2001). Com isso, foram encontrados relatos na literatura, sobre o papel dos hormônios tireoidianos na regulação da foliculogênese, evidenciando a responsividade do ovário a estes hormônios (HERVAS; MORREALE; ESCOBAR, 1976; FROESH *et al.*, 1985; WOLF; HINGHAR; MOSE, 1989; GRUAZ *et al.*, 1994; YOSHIMURA *et al.*, 1994; GUYTON; HALL, 1998; SERAKIDES *et al.*, 2001; SANOFI, 2016).

Tais hormônios, tem a sua ação mimetizada pela levotiroxina, que é um hormônio sintético comumente utilizado em terapias de reposição hormonal, para pacientes com hipotireoidismo (SERAKIDES *et al.*, 2001; SANOFI, 2016). Além disso, existem alguns estudos realizados com camundongos evidenciando a atuação da levotiroxina na atividade reprodutiva destes animais (SERAKIDES *et al.*, 2001).

A partir disso, não foram encontrados estudos sobre a utilização da levotiroxina em protocolos de superovulação para caprinos, demonstrando o caráter inovador desta pesquisa.

II. DESENVOLVIMENTO

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1. CICLO ESTRAL E REGULAÇÃO HORMONAL

Segundo Nogueira *et al.* (2011), o ciclo estral é o período compreendido entre dois estros consecutivos e os ciclos estrais das cabras podem ser classificados em curtos (duração inferior a 17 dias), normais (duração entre 17 e 24 dias) e longos (duração maior que 24 dias). Esse ciclo, é dividido em cinco fases: proestro, estro, metaestro, diestro e anestro estacional (GRANADOS; DIAS; SALES, 2006; CHEMINEAU *et al.*, 1992). As fases de proestro e estro são tidas como fase folicular. Estas fases são caracterizadas pelo predomínio do estrógeno na corrente sanguínea, devido à presença de folículos terciários (FONSECA; TORRES, 2005; REECE, 2017).

O proestro é a fase que antecede o estro. Ele é caracterizado pela produção de muco na vulva e na vagina, aumento gradativo da vascularização e relaxamento da cérvix. É nesta fase que a fêmea fica mais agitada, mas ainda não aceita ser coberta pelo macho. O proestro, é o período do desenvolvimento folicular, em que há estímulo da produção de estrógeno, promovendo a indução do estro (GRANADOS; DIAS; SALES, 2006; REECE, 2017).

O estro é tido como a fase do ciclo estral em que a fêmea fica receptiva ao macho, aceitando a monta por ele, ovulando no final deste período. Os comportamentos que sinalizam esta fase incluem: inquietação, micção, berros frequentes, bem como permissão de aproximação e cobertura pelo macho. Anatomicamente, são observados: vulva edemaciada, hiperêmica e a presença de muco (variando de aquoso a denso). Geralmente, os caprinos apresentam um estro com uma duração de 36 a 48 horas (NOGUEIRA *et al.*, 2011; REECE, 2017).

O metaestro e diestro, são tidos como de fase luteal. Estas são marcadas pelo predomínio e ações da progesterona, devido à presença de corpos lúteos ativos no ovário (GRUNERT *et al.*, 2005). O metaestro tem duração de 12 a 36 horas após o início do cio. É o período em que o corpo lúteo começa a se formar e a exercer sua atividade, havendo diminuição dos níveis de estrógeno e aumento de progesterona (GRANADOS; DIAS; SALES, 2006; REECE, 2017).

O diestro é a maior fase do ciclo estral. Nele, há permanência do corpo lúteo e predomínio de progesterona. Esta fase termina após a regressão espontânea no corpo lúteo, que ocorre na ausência de prenhez, dando início a um novo ciclo (GONZALEZ, 2002; REECE, 2017).

Já a fase de anestro, é caracterizada por ser do tipo estacional, ou seja, pela ausência do estro que ocorre devido a um período de inatividade sexual (CHEMINEAU *et al.*, 1992). Nesta fase, não há inibição do crescimento das ondas foliculares. Os folículos crescem até o tamanho de pré-ovulatórios, devido à ocorrência de picos de FSH. No entanto, há uma limitação da produção de estradiol, devido à inibição da frequência dos pulsos de GnRH, fazendo com que o estímulo de LH não seja o suficiente para promover as ovulações (ROSA; BRYANT, 2003; RAWLINGS *et al.*, 2007; REECE, 2017).

Os caprinos localizados em regiões de clima tropical, como na região Nordeste do Brasil, são considerados poliétricos contínuos. No entanto, quando em exploração extensiva, e mantidos em pastagem nativa, os caprinos apresentam atividade sexual na época que coincide com o período das chuvas, estando isso relacionado à maior disponibilidade de forragem (NOGUEIRA *et al.*, 2011).

O ciclo estral é regulado pela ação do eixo hipotalâmico-hipofisário, que é responsável por regular a liberação das gonadotrofinas, que são o FSH (hormônio folículo estimulante) e o LH (hormônio luteinizante). Esses hormônios, atuam diretamente sobre as gônadas (HAFEZ; JAINUDEEN; ROSNINA, 2004; REECE, 2017).

As gonadotrofinas hipofisárias têm a sua liberação regulada pelo hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) e são moduladas por um mecanismo de feedback negativo por parte dos esteroides (estrógeno e progesterona) e de outras substâncias como a inibina e ativina, produzidas pelos ovários (GONZALEZ, 2002).

Na fêmea, o FSH é responsável por estimular o crescimento e promover a maturação dos folículos ovarianos. Já o LH, possui função de promover a ovulação, participar da formação e manutenção do corpo lúteo e atuar em conjunto com o FSH, estimulando a secreção dos hormônios esteroides pelo ovário (GONZALEZ, 2002).

O comportamento sexual e aceitação do macho, pela fêmea durante o estro, estão relacionados à produção de estradiol pelo folículo, devido à influência do FSH. Os estrógenos produzidos atuam por feedback positivo, estimulando a liberação do

FSH e LH necessários para induzir a ovulação (GONZALEZ, 2002; HAFEZ; JAINUDEEN; ROSNINA, 2004; REECE, 2017). Além disso, o FSH possibilita um aumento da responsividade das células da granulosa para o LH, devido a sua propriedade de induzir a síntese de receptores para o LH, preparando as células da granulosa para a luteinização em resposta ao pico pré-ovulatório de LH (COSTA *et al.*, 2014).

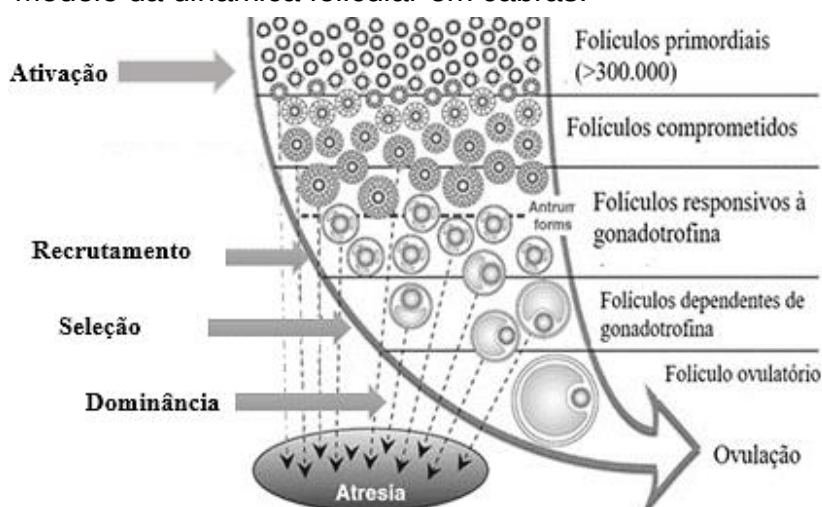
1.2. DINÂMICA FOLICULAR

A dinâmica folicular compreende o desenvolvimento folicular, desde sua formação, ativação e desenvolvimento até a sua completa maturação; sendo controlada por fatores endócrinos e parácrinos (MAGALHÃES *et al.*, 2009).

A função ovariana, na espécie caprina, tem início na fase fetal, estendendo-se da puberdade até a fase adulta (GRANADOS; DIAS; SALES, 2006). No que se refere à dinâmica folicular ovariana da espécie caprina, o desenvolvimento folicular ovariano ocorre semelhante a ondas e com a presença de dois ou mais folículos, com crescimento de até 5 mm de diâmetro, ou mais (GINTHER; KOT, 1994; PADILLA; HOLTZ, 2000; MEDAN *et al.*, 2003; SIMÕES *et al.*, 2006).

O desenvolvimento folicular, pode ser apresentado em um modelo com cinco classificações de folículos (primordiais, folículos comprometidos, folículos responsivos às gonadotrofinas, folículos dependentes de gonadotrofina e folículos ovulatórios) ou com base nas ondas de crescimento folicular (ativação, recrutamento, seleção e dominância), como pode ser observado na Figura 1 (LUCY *et al.*, 1992; SCARAMUZZI *et al.*, 1993).

Figura 1 – Modelo da dinâmica folicular em cabras.



Fonte: Adaptado de Scaramuzzi *et al.* (2011).

Na espécie caprina, os folículos primordiais possuem um diâmetro médio de 33 μm e podem ser observados a partir do 62º dia do período de desenvolvimento fetal e são caracterizados por possuírem uma camada simples de células da pré-granulosa, localizados centralmente e circundando um oócito (BEZERRA *et al.*, 1998; HAFEZ; JAINUDEEN; ROSNINA, 2004).

Os folículos primordiais, representam a maior população folicular e estes ainda não possuem a formação de um antro folicular, estando caracterizado como folículo pré-antral. As células da granulosa apresentam receptores para fatores de crescimento e não são responsivas às gonadotrofinas LH e FSH. Nesse tipo de folículo, há pouca evidência de atresia e baixa taxa de renovação celular (SAUMANDE, 1991; SCARAMUZZI *et al.*, 1993). Os folículos primordiais precisam passar pela fase de ativação folicular para iniciar o seu desenvolvimento (ARAÚJO, 2013).

A ativação folicular é a fase essencial em que os folículos primordiais saem do estágio de quiescência e iniciam o seu crescimento. Os mecanismos exatos que controlam o início e a progressão destes folículos, ainda não estão bem elucidados. No entanto, em alguns mamíferos, esta ativação é controlada pelos hormônios gonadotróficos, somatotróficos e fatores de crescimento (MARTINS *et al.*, 2008; ARAÚJO, 2013).

Segundo Scaramuzzi *et al.* (1993), os folículos saem da fase de folículo primordial em uma sequência ordenada e dispostos a crescer. As principais mudanças

que ocorrem neste período, acometem o oócito. Nele, há o desenvolvimento da zona pelúcida e a formação de duas ou três camadas de células da granulosa e diferenciação das células da teca.

Assim como os folículos primordiais, os folículos comprometidos não possuem o antro folicular e possuem o crescimento independente de gonadotrofinas. No entanto, pode ser observado a presença de receptores para o FSH nas células da granulosa e do LH, nas células da teca (SCARAMUZZI *et al.*, 2011).

Os folículos responsivos às gonadotrofinas podem ser pré-antrais grandes, ou folículos que apresentem um antro folicular com variação de 0,2 a 2,5 mm de diâmetro. Nestes folículos, há o desenvolvimento da responsividade das células da granulosa e da teca às gonadotrofinas FSH e LH, respectivamente, podendo ser observado uma maior taxa de atresia folicular. Esta fase do desenvolvimento folicular é chamada de recrutamento. No recrutamento folicular, há o início do desenvolvimento e maturação folicular, estimulados pelo aumento das concentrações plasmáticas de FSH, que permite a continuação do crescimento dos folículos e a proliferação celular, aumentando gradualmente sua capacidade de síntese de estradiol (ADAMS *et al.*, 1992). Além disso, há ativação de algumas substâncias, como do fator inibidor da maturação de oócitos, do fator inibidor de ligação do LH, produção de inibina e várias outras enzimas (SCARAMUZZI *et al.*, 1993; 2011). A produção e secreção de estradiol e inibina, pelos folículos em crescimento, promove a supressão da liberação de FSH, apesar destes folículos ainda serem dependentes de FSH para continuarem o seu crescimento (AERTS; BOLS, 2010).

Para que um folículo passe de responsivo para dependente de gonadotrofinas, é necessário que haja uma dependência exclusiva do FSH e que eles apresentem um diâmetro maior que 2,5 mm. Estes folículos, podem sofrer atresia caso os níveis de FSH não sejam suficientes. Nesta fase, a taxa de atresia folicular é alta, e, como mecanismo para evitá-la, os folículos dependentes de gonadotrofinas, passam pelo processo de seleção folicular (SCARAMUZZI *et al.*, 2011).

A seleção folicular, é o processo pelo qual alguns dos folículos desenvolvem receptores para o LH e continuam o crescimento folicular, dando origem aos folículos pré-ovulatórios ou de Graaf, para evitar o processo de atresia folicular, passando, posteriormente, pelo processo de divergência folicular (SCARAMUZZI *et al.*, 1993;

GEORGE; ALVES; CASTRO, 1998; BARUSELLI; GIMENES; SALES, 2007; SCARAMUZZI *et al.*, 2011).

A divergência folicular é um fenômeno no qual ocorre a seleção dos folículos que irão atingir a fase de dominância (FORTUNE *et al.*, 2001).

A divergência folicular é marcada pelo crescimento do maior futuro folículo dominante, com atresia dos demais subordinados. Quando o maior folículo alcança determinado estágio de desenvolvimento, há um bloqueio no crescimento do segundo maior folículo, antes deste alcançar um diâmetro similar ao do primeiro, ocasionando o processo de dominância folicular (GINTHER *et al.*, 1996; 2003).

A dominância folicular é o processo pelo qual os folículos selecionados exercem uma dominância sobre os demais folículos recrutados na mesma onda de desenvolvimento folicular, impedindo o crescimento dos mesmos e inibindo o recrutamento de um novo grupo de folículos (BARUSELLI *et al.*, 1997). Antes que haja a divergência, todos os folículos em fase de crescimento, têm potencial para se tornarem folículos dominantes. No entanto, após a divergência, o maior folículo se desenvolve até se tornar um folículo dominante, enquanto que os demais folículos regredem (AERTS; BOLS, 2010). O folículo dominante rapidamente produz inibidores de FSH, mas continua o seu desenvolvimento, mesmo em baixas concentrações deste hormônio. Esta inibição pode ocorrer de forma passiva, onde o folículo maior inibe indiretamente o crescimento dos folículos menores através da redução dos níveis de FSH abaixo do limiar necessário para manutenção destes, e, de forma ativa, quando o folículo mais maduro secreta substâncias que inibem a responsividade dos folículos menos maduros ao FSH (DRIANCOURT; MARIANA; PALMER, 1991).

Os folículos são dependentes de FSH até a ocorrência da dominância folicular e, após isso, se tornam dependentes de LH (FORTUNE *et al.*, 2001; BURATINI JÚNIOR, 2007; ARAÚJO, 2013).

Além do fenômeno de dominância, nos caprinos, foi observado que alguns animais conseguem ovular mais que um oócito. Isto ocorre devido ao processo de codominância folicular que ocorre quando há uma sincronidade no desenvolvimento folicular, fazendo com que o segundo folículo ovulatório esteja concomitante com o primeiro na maioria dos ciclos estrais, fazendo com que mais de um oócito seja ovulado (CUETO *et al.*, 2006).

Portanto, a foliculogênese é um processo bastante complexo e é influenciado por vários fatores de crescimento e hormônios esteroides que atuam diretamente nesse processo (EVANS *et al.*, 2001; VELÁSQUEZ; SOUZA; SOLARTE, 2015).

1.3. BIOTECNOLOGIAS DA REPRODUÇÃO NA CAPRINOCULTURA

Segundo Morris, Diskin e Sreenan (2001), a biotecnologia é uma “nova ciência” que guia as indústrias médicas, farmacêuticas e agroalimentar. É a manipulação ou uso de um organismo ou de seus componentes, permitindo os avanços tecnológicos e biológicos, impulsionando o desenvolvimento de várias tecnologias da reprodução assistida (inseminação artificial, criopreservação de gametas e embriões; superovulação e transferência de embriões, sexagem espermática e embrionária, recuperação de oócitos, fertilização *in vitro*, manipulação de oócitos inclusos em folículos pré-antrais - MOIFOPA, transgênese e clonagem) ou Ovário Artificial (BERTOLINI; BERTOLINI, 2009; FIGUEIREDO; RODRIGUES; SANTOS, 2013).

A múltipla ovulação e transferência de embriões (MOTE) é uma biotecnologia reprodutiva que possibilita a manipulação estratégica para a potencialização do melhoramento genético nos rebanhos (PARAMIO; IZQUIERDO, 2014). Para a realização desta biotécnica, faz-se necessário a realização de algumas etapas fundamentais, dentre elas, a sincronização do estro e superovulação; fecundação das doadoras; e colheita de embriões (LOPES JÚNIOR; MIRANDA; SILVA, 2014).

Para uma sincronização estral adequada, é necessário que todas as fêmeas entrem em estro e ovulem de forma simultânea e independente do tipo de monta utilizado. Para isto, faz-se necessário a sincronização do estro e da ovulação, com o intuito de obter o maior número possível de embriões em fases semelhantes do desenvolvimento embrionário (BARIL; BREBION; CHESNÉ, 1995). Esta etapa consiste na concentração de animais em estro, num intervalo de tempo de 24 a 72 horas, através do método de prolongamento (associação de progestágenos a hCG, eCG ou FSH) ou encurtamento da fase lútea (uso de agentes luteolíticos análogo a PGF_{2α}) (FATET; PELLICER-RUBIO; LEBOEUF, 2011). Ambos protocolos possuem o objetivo de promover o maior número de fêmeas com estro sincronizado após a retirada da fonte de progesterona/progestágeno ou após a aplicação de um luteolítico (FATET; PELLICER-RUBIO; LEBOEUF, 2011; BALARO *et al.*, 2019).

Em relação à superovulação, ela é tida como uma das fases mais importantes da MOTE e, para realizá-la, necessita-se, unicamente, da associação de um protocolo de sincronização de estro e uma estimulação hormonal ovariana, possibilitando o desenvolvimento e maturação dos folículos. Este estímulo ovariano, ocorre devido à aplicação de elevadas doses de FSH, que promove o desenvolvimento e maturação de inúmeros folículos ao mesmo tempo (LOPES JÚNIOR; MIRANDA; SILVA, 2014). No entanto, segundo Amiridis e Cseh (2012), a resposta ovariana obtida por meio dos protocolos de superovulação ainda apresentam alta variabilidade na resposta ovulatória, podendo isto, ser uma limitação para a utilização desta biotécnica.

Após a superovulação, faz-se necessário a realização da fecundação das doadoras, a qual pode ser feita pelo método de monta natural, Inseminação artificial (IA) ou Inseminação artificial em tempo fixo (IATF) (MONTENEGRO *et al.*, 2017). A seleção dos animais é de extrema importância. As fêmeas devem ser escolhidas segundo seu valor genético e os machos devem ser melhoradores, havendo a necessidade de uma atenção especial para a qualidade seminal (GIBBONS; CUETO, 2011).

A biotécnica de MOTE possui aplicações que envolvem tanto a pesquisa básica quanto a aplicada. No entanto, ainda existem etapas nesse processo que reduzem sua eficiência e restringem sua utilização, como a necessidade da realização de procedimentos cirúrgicos. Todavia, em caprinos, já é possível realizar a coleta e transferência de embriões sem a utilização de procedimentos cirúrgicos e de forma satisfatória (PINTO *et al.*, 2019). Em relação ao procedimento cirúrgico, vários inconvenientes podem ser observados, dentre eles, os riscos anestésicos, hemorragias, aderências e complicações pós-cirúrgicas. Com isso, a formação de aderências pode ser tão severa, a ponto de prejudicar as novas coletas ou, até mesmo, comprometer a fertilidade da doadora (HOLTZ, 2005; BRUNO-GALARRAGA *et al.*, 2014).

A partir disso, é observado que as biotecnologias da reprodução, quando em combinação com protocolos hormonais para promover a indução ou sincronização de cio, permitem a produção de animais para a obtenção de carne e leite, durante todo o ano.

1.4. USO DE GONADOTROFINAS EM PROTOCOLOS DE SUPEROVULAÇÃO

Várias gonadotrofinas podem ser utilizadas em protocolos hormonais de superovulação (PINHEIRO, 2002). Sua associação é recomendada com o intuito de estimular o desenvolvimento e maturação dos folículos, e, conseqüentemente, aumentar o número de ovulações (MENCHACA *et al.*, 2007; COX *et al.*, 2012; ADRIYANTO *et al.*, 2017). No entanto, existe uma variação na resposta superovulatória promovida por fatores intrínsecos ou extrínsecos ao animal, promovendo uma incapacidade na previsão do resultado (GIBBONS; CUETO, 2011).

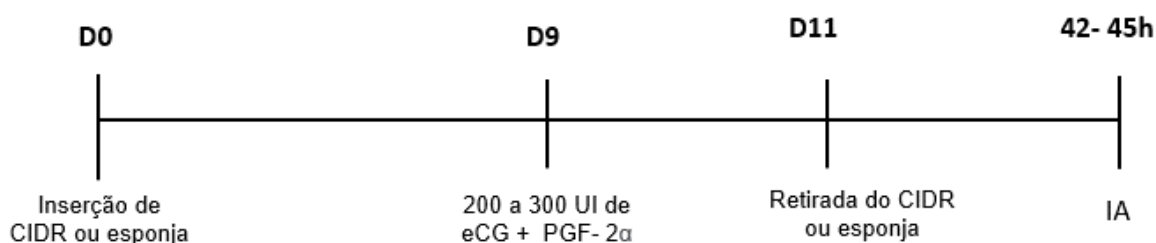
Vários são os fatores que interferem na resposta superovulatória, dentre eles, a relação FSH/LH utilizados, tipo de fármaco e imunidade (FERNANDES NETO *et al.*, 2012).

Um fator importante e que deve ser levado em consideração é a escolha do tipo de gonadotrofina, visto que, dependendo de sua origem ou espécie, as gonadotrofinas podem promover um aumento dos níveis de anticorpos (SIMPLÍCIO; SALLES; SANTOS, 2002). A gonadotrofina mais utilizada em protocolos de superovulação é a Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG). No entanto, existem protocolos com a utilização de Gonadotrofina Coriônica Humana (hCG) e Hormônio Folículo Estimulante (FSH) (FONSECA; TORRES, 2005). Todas estas gonadotrofinas vêm garantido taxas elevadas de respostas ao estro (92,5%) e desenvolvimento folicular adequado (FONSECA; TORRES, 2005; SOUZA *et al.*, 2011; PIETROSKI *et al.*, 2013; FONSECA *et al.*, 2017).

A gonadotrofina coriônica humana (hCG), é sintetizada pelas células sincitiotrofoblásticas da placenta e secretada pela urina de primatas e mulheres gestantes. O hCG vêm sendo utilizado como indutor de ovulação, pois possui função semelhante à do LH e é uma alternativa à suplementação de progesterona, pois ele promove aumento do número de corpos lúteos acessórios (SREENAN; DISKIN, 1989; JAINUDEEN; WAHID; HAFEZ, 2004).

A gonadotrofina coriônica equina (eCG) é produzida nos cálices endometriais do útero, possui meia vida longa (podendo ser de até 106 horas) e foi o primeiro hormônio utilizado para promover a superovulação em dose única de 1000 a 2000UI em um a dois dias antes da remoção da fonte de progesterona exógena (EVANS; ARMSTRONG, 1984; MURPHY, 2012; FONSECA *et al.*, 2017). No entanto, a partir da realização de vários estudos, esta dose foi reduzida como observado na Figura 2.

Figura 2 – Modelo de protocolo de superovulação em caprinos a base de Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG).



Fonte: Adaptado de Dantas e Negrão (2010).

A eCG, é amplamente utilizada em protocolo de superovulação e possui dupla atividade (FSH e LH) (MURPHY, 2012). Esse hormônio estimula o desenvolvimento de folículos adicionais, promovendo a ovulação sem a necessidade da administração de uma fonte exógena de LH (JAINUDEEN; WAHID; HAFEZ, 2004). No entanto, sua utilização frequente pode promover a diminuição na fertilidade das fêmeas, devido à formação de anticorpos anti-eCG, por se tratar de um hormônio da espécie equina e por apresentar alto peso molecular (HERVÉ *et al.*, 2004; FONSECA; TORRES, 2005; OLIVEIRA *et al.*, 2007; ALVARADO-ESPINO *et al.*, 2016).

Uma alternativa ao eCG é a utilização do FSH, que pode ser puro ou associado ao LH. Este hormônio estimula a superovulação, promovendo menor reação imunológica e sua aceitação e disponibilidade é maior dentro dos países (OLIVEIRA *et al.*, 2007). A menor eficácia do eCG para a obtenção de embriões *in vitro*, vêm contribuindo para sua substituição por preparados comerciais de pFSH (FSH suíno) e oFSH (FSH ovino) (JABBOUR; EVANS, 1991; VEIGA-LOPEZ *et al.*, 2008; MENCHACA *et al.*, 2009).

Segundo Bettencourt *et al.* (2008), o oFSH, obtido por extrato de pituitária ovino, aparenta ser mais vantajoso que o pFSH, devido ao aumento significativo do número de embriões recuperados. No entanto, esses autores não observaram diferença no número de ovulação entre os tipos de FSH, estando essa diferença associada à taxa de recuperação de embriões, que, para o oFSH, foi de 80%, enquanto, para o pFSH, 30%.

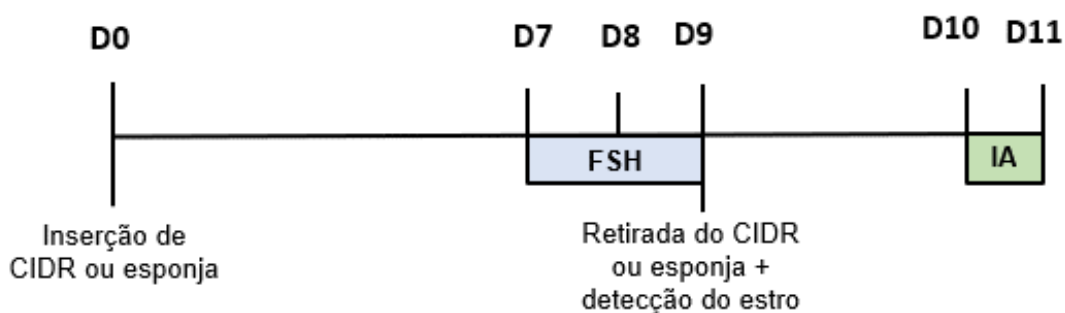
Um fator importante a ser avaliado para a obtenção de respostas superovulatórias homogêneas, é a dose administrada de FSH. Estudos demonstram

que doses muito elevadas ou muito baixas propiciam uma diminuição do número de embriões viáveis (D'ALESSANDRO *et al.*, 1996; BOSCOS *et al.*, 1997; WU *et al.*, 2011).

Um outro fator que deve ser levado em consideração é a relação entre a quantidade de FSH e LH dentro de um produto, visto que, os produtos comerciais a base FSH possuem diferentes proporções de FSH:LH em sua composição (BARIL; BREBION; CHESNÉ, 1995; KELLY *et al.*, 1997). Ainda segundo esses autores, elevadas concentrações de LH no fármaco promovem um aumento do número de folículos anovulatórios, demora no retorno da ciclicidade e a ocorrência de embriões degenerados.

O FSH é o hormônio mais utilizado atualmente e é comumente utilizado em seis a oito doses decrescentes, com intervalo de 12 horas, por um período de três a quatro dias, com dose média de 176 a 256 mg por animal, sendo iniciado dois a três dias antes da remoção da progesterona ou progestágeno como visualizado na Figura 3 (D'ALESSANDRO; MARTEMUCCI; TAIBI, 2005; VEIGA-LOPEZ *et al.*, 2005).

Figura 3 – Modelo de protocolo de superovulação em caprinos a base de Hormônio Folículo Estimulante (FSH).



Fonte: Adaptado de Aisen (2008).

Diferentes fatores, como o perfil folicular ovariano no momento da administração deste hormônio, estão associados a uma variabilidade nas doses, evidenciando a necessidade do desenvolvimento de protocolos hormonais de fácil aplicação, com o menor custo e que garanta taxas de recuperação elevadas e de forma constante (FONSECA; SOUZA; BRUSCHI, 2007).

1.5. HORMÔNIOS TIREOIDIANOS

Segundo Saraiva *et al.* (2010), o eixo hipotalâmico-hipofisário-tireoideano e o eixo hipotalâmico-hipofisário-ovariano atuam de maneira simultânea, promovendo a foliculogênese e resultando na regulação da fertilidade.

Os hormônios tireoidianos (HT), são substâncias essenciais para o desenvolvimento de órgãos e tecidos (NUNES, 2003). Os HT têm a sua síntese estimulada através da ação do hipotálamo, que promove a liberação da tireotropina (TRH) e estimula a secreção de TSH (hormônio tireoestimulante) pelos tireotropos na hipófise.

O TSH é um hormônio glicoproteico que vai atuar na glândula tireoide, regulando o seu metabolismo e crescimento, assim como a síntese e liberação de seus hormônios: T₃ (triiodotironina) e T₄ (tiroxina) (BERNE *et al.*, 2004). A secreção do TSH também pode ser regulada por estrógenos, progesterona, estresse e frio, podendo ser inibida por outros hormônios, como a somatostatina, glicocorticoides, dopamina e hormônios tireoidianos (GONZALEZ, 2002; GOFF, 2017).

Os hormônios T₃ e T₄ são iodotironinas, produzidas pela glândula da tireoide, e possuem distribuição em todas as células do corpo (GOFF, 2017; GENUTH, 2009). Tais hormônios podem atravessar a membrana das células por difusão ou por sistema de transporte de substâncias, sendo armazenado na porção extracelular da tireoide como parte da molécula glicoproteica, a tireoglobulina (GENUTH, 2009).

O principal produto de secreção da tireoide é a T₄, mas esta substância não é a forma mais ativa. A ativação desta substância ocorre pela interação da enzima desidrinase nos tecidos alvo. As variações desta isoenzima promovem a expressão e regulação das concentrações de T₃ e T₄ (GOFF, 2017; BERNE *et al.*, 2004).

As iodotironinas são pouco solúveis no sangue e precisam ser associadas a proteínas específicas para serem transportadas. A principal proteína transportadora destas moléculas é a globulina de ligação à hormônio tireoideo (TBG) (GENUTH, 2009). A porção desses hormônios que não está ligada a nenhuma proteína é denominada de fração livre, sendo metabolicamente ativa. Uma vez nos tecidos periféricos, a T₄ sofre deiodinação, convertendo-se em T₃, antes de entrar em contato com o seu receptor (GOFF, 2017; FINORA; GRECO, 2007).

Os HT apresentam meia-vida longa (tiroxina, 7 dias; e a triiodotironina, 18 horas) e são semelhantes aos hormônios esteroides, devido à localização de seus receptores (intracelulares), atuando como um fator de transcrição (GENUTH, 2009).

1.6. INFLUÊNCIA DOS HORMÔNIOS TIREOIDIANOS NA FOLICULOGÊNESE

Os hormônios da tireoide, de forma geral, atuam promovendo a transcrição gênica nuclear de inúmeros genes. Consequentemente, há um incremento em todas as células do organismo, promovendo a produção de enzimas, proteínas estruturais, proteínas transportadoras e de outras substâncias, aumentando, assim, a atividade funcional de todo o organismo (GUYTON; HALL, 1998).

Os hormônios tireoidianos exercem um efeito acentuado sobre o GH e o IGF-1, desempenhando um papel significativo no desenvolvimento folicular e maturação dos oócitos (HERVAS; MORREALE; ESCOBAR, 1976; FROESH *et al.*, 1985; WOLF; HINGHAR; MOSE, 1989; GRUAZ *et al.*, 1994; YOSHIMURA *et al.*, 1994).

O ovário é responsivo aos hormônios tireoidianos, pois vários eventos que ocorrem durante a foliculogênese e esteroidogênese estão sob a influência direta ou indireta dos hormônios T₃ e T₄ (SERAKIDES *et al.*, 2001). Tais indícios podem ser comprovados por experimentos que foram realizados *in vivo* em camundongos com hipotireoidismo. Neste experimento, foi possível perceber que, após o tratamento com a tiroxina, houve um aumento da massa ovariana dessas fêmeas (JIANG; UMEZU; SATO, 2000). Em ovinos, um experimento *in vitro* demonstrou que a tiroxina, quando associada ao FSH, promove um aumento nas taxas de desenvolvimento folicular, levando a formação de antro (ARUNAKUMARI *et al.*, 2007).

Em outro experimento, também realizado *in vivo*, foi induzido, experimentalmente, o hipotireoidismo em ratas com propiltiouracil (PTU), um agente antitireoidiano e, com isso, houve um aumento nas taxas de atresia folicular. Este distúrbio na foliculogênese foi atribuído ao decréscimo dos hormônios tireoidianos (DIJKSTRA *et al.*, 1996).

Estudos também têm avaliado os efeitos da diminuição nas concentrações de hormônios tireoidianos sobre os parâmetros reprodutivos. Após radiotireoterapia, em ratas adultas, foi observado que estes animais apresentaram o ciclo estral prolongado e irregular com aumento nas concentrações de LH na fase de pró-estro e decréscimo

do número de ovulações, devido à redução dos grandes folículos antrais, promovendo aumento da atresia folicular (MATTEIJ *et al.*, 1995).

1.7. LEVOTIROXINA SÓDICA

A levotiroxina é um medicamento sintético utilizado para terapias de reposição hormonal em pacientes diagnosticados com hipotireoidismo. Esse fármaco atua mimetizando a ação dos hormônios T_3 e T_4 que são produzidos pela glândula tireoide e é semelhante ao hormônio produzido pela tireoide. Pode ser encontrado nas apresentações de 30 comprimidos com 25, 50, 75, 88, 100, 125, 150, 175 e 200 μg , seja para administração por via oral, seja por via intramuscular (FDA, 2000; SANOFI, 2016). No entanto, a via de administração intramuscular é de uso exclusivo hospitalar.

Segundo Dollery (1999), este fármaco possui uma meia vida de 5 a 7 dias em indivíduos normais e é amplamente ligado à proteína plasmática, principalmente a proteína ligante de tiroxina. A fração livre do fármaco é a porção livre para ação periférica e para conversão do metabolito ativo, o T_3 .

A levotiroxina é parcialmente transformada em T_3 e outros metabólitos, sendo excretada pela bile, fezes e urina. Além disso, a levotiroxina pode ser secretada pelo leite (DOLLERY, 1999).

Em experimento, realizado *in vivo*, foi induzido, experimentalmente, o hipertireoidismo em ratas púberes através da administração de levotiroxina por via oral. Neste experimento, foi observado uma correlação positiva entre as concentrações de tiroxina livre e o número de folículos primários, indicando a participação dos hormônios tireoidianos no recrutamento e desenvolvimento dos folículos primordiais (SERAKIDES *et al.*, 2001).

Serakides *et al.* (2001), também relataram um aumento da atividade ovariana, resultando no aumento da foliculogênese e, por consequência, do número de folículos viáveis em decorrência da administração de levotiroxina.

Apesar dos experimentos citados deixarem claro a participação dos hormônios tireoidianos na foliculogênese, não foram encontrados trabalhos com o uso de T_3 ou T_4 em caprinos *in vivo*, para estimular a foliculogênese em tratamentos de superovulação.

2. HIPÓTESE

A levotiroxina promove recrutamento folicular e superovulação em cabras destinadas à produção *in vivo* de embriões.

3. JUSTIFICATIVA

Na região Nordeste, a Caprinocultura é uma atividade de grande importância econômica e social.

O desenvolvimento de biotecnologias e protocolos hormonais são importantes para aumentar a prolificidade e auxiliar na expansão do melhoramento genético animal. Todavia, os custos elevados com o emprego de protocolos hormonais que promovam a superovulação não estão acessíveis para todos os produtores, havendo a necessidade de encontrar alternativas que possibilitem a difusão destas biotécnicas.

Foi observado que a utilização da levotiroxina, em protocolos de superovulação, pode promover a redução desses custos, quando comparado com os valores investidos na utilização de gonadotrofinas (FSH/LH) nesses protocolos. Por exemplo, o custo de uma caixa de Pluset® ou de Folltropin® varia de R\$ 695,00 a R\$ 890,00 (valores em maio/2021), sendo que uma caixa de Pluset é, normalmente, para apenas 5 animais e uma caixa de Folltropin® serve para 2 animais, enquanto que uma caixa de Levotiroxina® (200 µg) é de R\$ 20,00 e possui 30 comprimidos, podendo ser utilizado em até 10 animais.

Além de promover a redução dos custos, acredita-se que a utilização da levotiroxina, quando em associação com o FSH, promova um melhor desenvolvimento folicular, visto que existem evidências que comprovem a responsividade dos ovários a estes hormônios devido a presença de receptores de T3 nos ovários e por estes hormônios acentuarem a ação do IGF-I e do GH, controlando o desenvolvimento folicular e a maturação dos oócitos evidenciando que esses hormônios são indispensáveis para a reprodução.

Desta forma, o uso da levotiroxina em substituição às gonadotrofinas (FSH/LH) poderá melhorar a relação custo/benefício no tratamento de superovulação em caprinos, tornando a biotecnologia mais acessível aos produtores rurais que estão investindo em melhoramento genético.

4. OBJETIVOS

4.1. GERAL

Avaliar a eficácia da levotiroxina em protocolos de superovulação da espécie caprina.

4.2. ESPECÍFICOS

Avaliar os efeitos da levotiroxina sozinha ou associada ao FSH/LH em protocolos de superovulação sobre:

- A proporção de cabras superovuladas em estro;
- A duração do estro de cabras superovuladas;
- O número de folículos pequenos, médios e grandes de cabras superovuladas;
- O número total de corpos lúteos de cabras superovuladas;
- A proporção de cabras superovuladas que apresentou regressão prematura de corpo lúteo.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. ASPECTOS ÉTICOS

O experimento foi realizado de acordo com o Comitê de Ética da Embrapa Semiárido, registrado com o nº 02/ 2019.

5.2. LOCAL E ÉPOCA DE EXECUÇÃO

O experimento foi realizado na Estação Experimental da Embrapa Semiárido em Petrolina-PE, em período chuvoso (mês de maio), com alta disponibilidade de pastagem na Caatinga.

O estudo foi realizado no Campo Experimental da Embrapa Semiárido, o Brasil. Empresa de Pesquisa Agropecuária, localizada no município de Petrolina, Pernambuco, Brasil (09° 09'S de latitude, 40° 22'O de longitude). A precipitação média anual na região é de 567 mm, média as temperaturas anuais variam de 24,2 a 28,2°C, e a umidade relativa anual varia de 66 a 71,5% (CIDADE BRASIL, 2021)

5.3. PRÉ-EXPERIMENTO

Para a realização do experimento, foi necessário realizar dois pré-experimentos. O primeiro foi realizado em camundongos com o intuito de testar se a via de administração causaria necrose tecidual, visto que não foi encontrada a levotiroxina para administração por via intramuscular. O segundo pré-experimento foi realizado em cabras com o intuito de avaliar os níveis de T₃.

Para o primeiro pré-experimento, em 6 camundongos (Figura 4), foi utilizado um comprimido de levotiroxina (50µg) macerado e posteriormente misturado à 5ml de óleo de milho. Posteriormente, foi administrado 8 µg por animal durante 3 dias. Estes animais foram eutanasiados e submetidos à necropsia.

Figura 4 – Camundongos utilizados para avaliação da via de administração da levotiroxina.



No segundo pré-experimento, foi analisada a eficácia da via de administração da levotiroxina, por via intramuscular profunda, em 6 cabras, através da mensuração dos níveis de T_3 no soro destes animais. Nas cabras foram administrados 200 μ g de levotiroxina misturados a 5mL de óleo de milho e aplicado por via intramuscular. O sangue destes animais foi coletado antes e um dia após a aplicação do fármaco sendo enviado o soro posteriormente para avaliação laboratorial.

5.4. EXPERIMENTO

5.5. ANIMAIS

No presente estudo, foram utilizadas 30 cabras da raça Canindé, com idade entre 4 e 6 anos, vacinadas, pluríparas, estando sadias, cíclicas, não gestantes e com escore corporal médio de $3,2 \pm 0,26$ (escala de 1 a 5) (Figura 5).

Durante o período do experimento, todos os animais foram desverminados e ficaram em sistema extensivo, se alimentando da vegetação da caatinga com acesso livre ao capim buffel e água.

Figura 5 – Cabras Canindé submetidas aos protocolos experimentais separadas por cor.



5.6. TRATAMENTOS HORMONAIS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

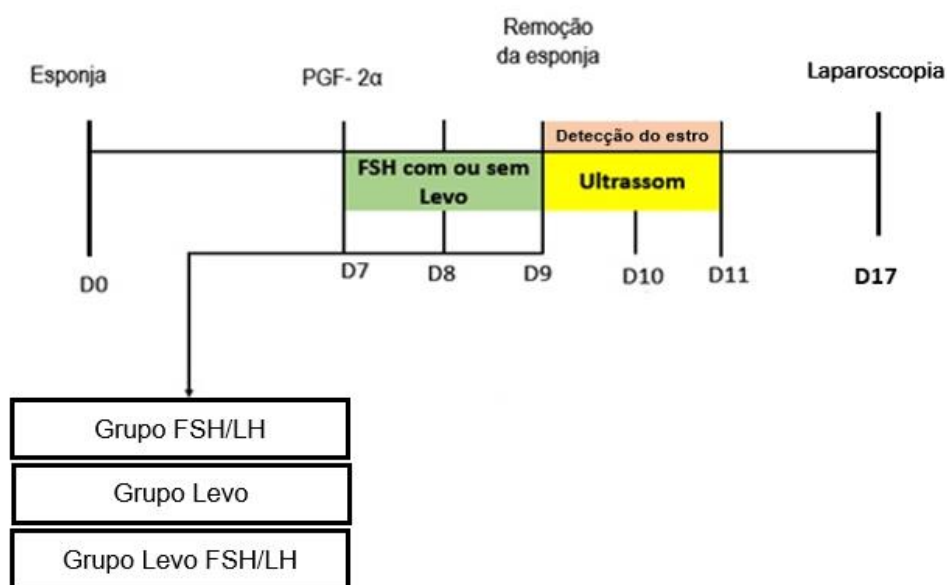
Os animais foram alocados, homogeneamente, em três grupos experimentais, contendo 10 animais em cada grupo, como a seguir:

Grupo FSH/LH: Os animais receberam, no dia 0 (D0), uma esponja intravaginal contendo 60 mg acetato de medroxiprogesterona (MAP), onde permaneceu por 9 dias (Figura 6). Nos dias 7, 8 e 9, foram feitas duas aplicações, por dia, de FSH/LH (Pluset®, Calier S.A., Espanha), por via intramuscular, que foram distribuídas em doses decrescentes, no período da manhã e no final da tarde, com intervalo de 12 horas entre as aplicações, totalizando 200 UI de FSH/LH (50/50 UI; 25/25 UI; 25/25 UI). Também no dia 7, foi administrado uma dose de prostaglandina F-2 alfa (Ciosin®, MSD Saúde Animal, Brasil), na dose de 100 µg, por via intramuscular.

Grupo Levo: Estes animais foram tratados com um protocolo similar, ao do grupo FSH/LH. No entanto, não houve a administração de FSH/LH neste grupo, sendo substituído pela administração de levotiroxina sódica, por via intramuscular, em três dias consecutivos (D7, D8 e D9), na dose de 200 µg/animal/dia.

Grupo LevoFSH/LH: Assim como nos demais grupos, foi utilizado um tratamento similar ao do grupo FSH/LH. No entanto, a levotiroxina sódica foi administrada em três doses diárias de 200 µg/animal/dia, pela manhã, sendo utilizada em associação às doses reduzidas e decrescentes de Pluset® (FSH/LH) (20/20UI; 10/10UI; 10/10UI), pela manhã e tarde, perfazendo um total de 80 UI/animal.

Figura 6 – Protocolo de superovulação com detecção de estro (D.E.), avaliação ultrassonográfica e laparoscopia (USG: Ultrassonografia; D.E.: Detecção de Estro; e LEVO: Levotiroxina).



5.7. AVALIAÇÃO DOS FOLÍCULOS POR ULTRASSONOGRAFIA

Durante os Dias 9, 10, 11 (considerando como Dia Zero o dia da colocação da esponja intravaginal), a dinâmica folicular ovariana foi monitorada por ultrassonografia, adaptando a metodologia de Nogueira *et al.* (2016), para atender as necessidades da avaliação da dinâmica folicular na superovulação. As imagens ultrassonográficas ovarianas foram obtidas com um equipamento de ultrassonografia modo-B (SAEVO, modelo: FP 102, Alliage S/A, São Paulo, 2019), equipado com uma probe transvaginal setorial de 6 MHz. Após o esvaziamento da ampola retal e a deposição de 20 mL de gel condutor no local, permitindo maior contato do transdutor com a mucosa retal e, assim, melhor visualização dos ovários e suas estruturas (Figura 7).

Figura 7 – Avaliação da dinâmica folicular de cabras Canindé por ultrassonografia.



Os folículos ovarianos foram classificados após a sua mensuração devido à grande quantidade de folículos em desenvolvimento, sendo necessário realizar uma nova classificação para esta avaliação. Desta forma, os folículos foram classificados em três categorias: pequenos (2 a 3 mm), médios (>3 e <4 mm) e grandes (≥ 4 mm). Além disso, houve também a mensuração e contabilização do diâmetro máximo dos folículos pré-ovulatórios.

Os vídeos dos exames foram gravados e avaliados em um software próprio (MicroDICOM v.0.7.8) para avaliação de imagens ultrassonográficas.

5.8. OBSERVAÇÃO DAS FÊMEAS PARA A OCORRÊNCIA DE ESTRO

O comportamento estral foi observado por meio de uso um macho adulto inteiro e de libido comprovada, iniciando às 12 horas após a retirada das esponjas, por um período de 30 minutos, a cada quatro horas e finalizando às 44 horas após a retirada das esponjas.

Os machos foram contidos por uma corda no momento da observação do estro e passado em cada fêmea. A fêmea foi considerada em estro quando apresentou reflexo de imobilidade para aceitação da monta pelo macho (Figura 8).

Figura 8 – Observação de cabras em estro com auxílio de um macho contido por uma corda.



5.9. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE OVULATÓRIA POR LAPAROSCOPIA

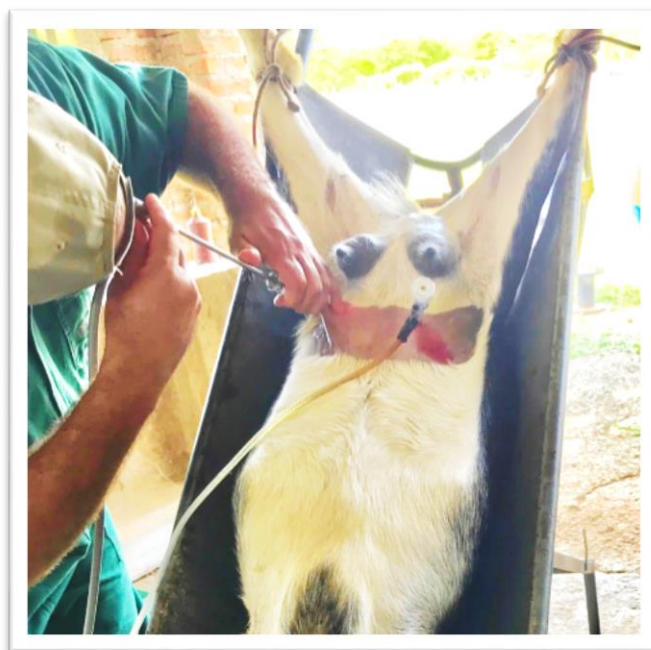
A contagem do número de corpos lúteos foi realizada por laparoscopia, 7 dias após a realização da última avaliação por ultrassonografia, em torno de 7 a 8 dias após as ovulações. Para a realização deste procedimento, os animais foram submetidos a jejum hídrico e sólido por 24 horas e tricotomia prévia da região abdominal, preparando a área para o procedimento cirúrgico.

Para que o procedimento fosse iniciado, houve a administração de um protocolo de anestesia dissociativa, que consistiu na utilização de uma solução contendo cloridrato de xilazina a 2% (3 mL), cloridrato de ketamina 10% (10 mL) e 13 mL de solução fisiológica. Desta mistura, foi administrado 0,5 mL IV, por animal.

Para a realização do procedimento, os animais passaram por antissepsia local previa com clorexidina 2% (Vic Pharma, Alemanha) e uma solução de álcool iodado a 2% na região, onde houve a inserção dos trocâteres, laparoscópio e o inflador que irá promover o pneumoperitônio.

Antes que houvesse a da inserção dos trocâteres e laparoscópio, foram realizadas duas pequenas incisões para permitir a inserção do endoscópio e de uma cânula, permitindo a visualização do interior da cavidade abdominal, seguido da contagem do número de corpos lúteos e corpos lúteos em regressão. Ao final do procedimento, fez-se a sutura na pele, com fio nylon, nos pontos de inserção dos trocâteres e foi administrado de 2mL do antibiótico Pencimax (Noxon, Brasil) em cada fêmea, por via intramuscular. (Figura 9).

Figura 9 – Avaliação laparoscópica para contagem do número de corpos lúteos e cabras Canindé.



6.0. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi utilizado um delineamento experimental inteiramente casualizado, com três tratamentos e 10 repetições por tratamento, totalizando 30 animais. Foi utilizado o teste de Análise de Variância (ANOVA) para os resultados dos níveis de T3 no soro dos animais do pré-experimento e teste GLM para comparar os efeitos dos

tratamentos para as seguintes variáveis: intervalo médio entre a retirada das esponjas e o início do estro, número de folículos pequenos, médios e grandes, máximo diâmetro folicular e número de ovulações. Além disso, foi utilizado o teste Qui-quadrado para avaliação da porcentagem de animais em estro em diferentes intervalos após a retirada das esponjas.

Os dados também foram submetidos a avaliação de normalidade pelo teste de Shapiro Willk, adotando-se o nível de 5% de significância. Foi utilizado o programa estatístico SAS University Edition 2.8.1 (SAS, 2018) e as diferenças foram consideradas significativas quando $P < 0,05$.

7. RESULTADOS

7.1. PRÉ-EXPERIMENTO

Para a presente avaliação, não foi observado a presença de necrose tecidual em decorrência da administração da levotiroxina em nenhum dos seis camundongos avaliados.

Os resultados obtidos a partir da mensuração dos níveis de T₃ total no soro de 6 cabras, antes e depois da administração de levotiroxina, podem ser observados na Tabela 1. A partir desta mensuração, foi observado que não houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre as concentrações de T₃, antes e um dia após uma única aplicação de levotiroxina (Tabela 1).

Tabela 1 – Níveis séricos de triiodotironina (T₃) em soro de cabras Canindé.

Animais	Administração de 200 µg de Levotiroxina	
	Antes	Depois*
1	1,13	1,01
2	0,86	1,18
3	1,29	1,4
4	0,99	1,32
5	1,4	1,23
6	1,27	1,14
Média ± e.p.	(1,15 ± 0,08)	(1,21 ± 0,05)

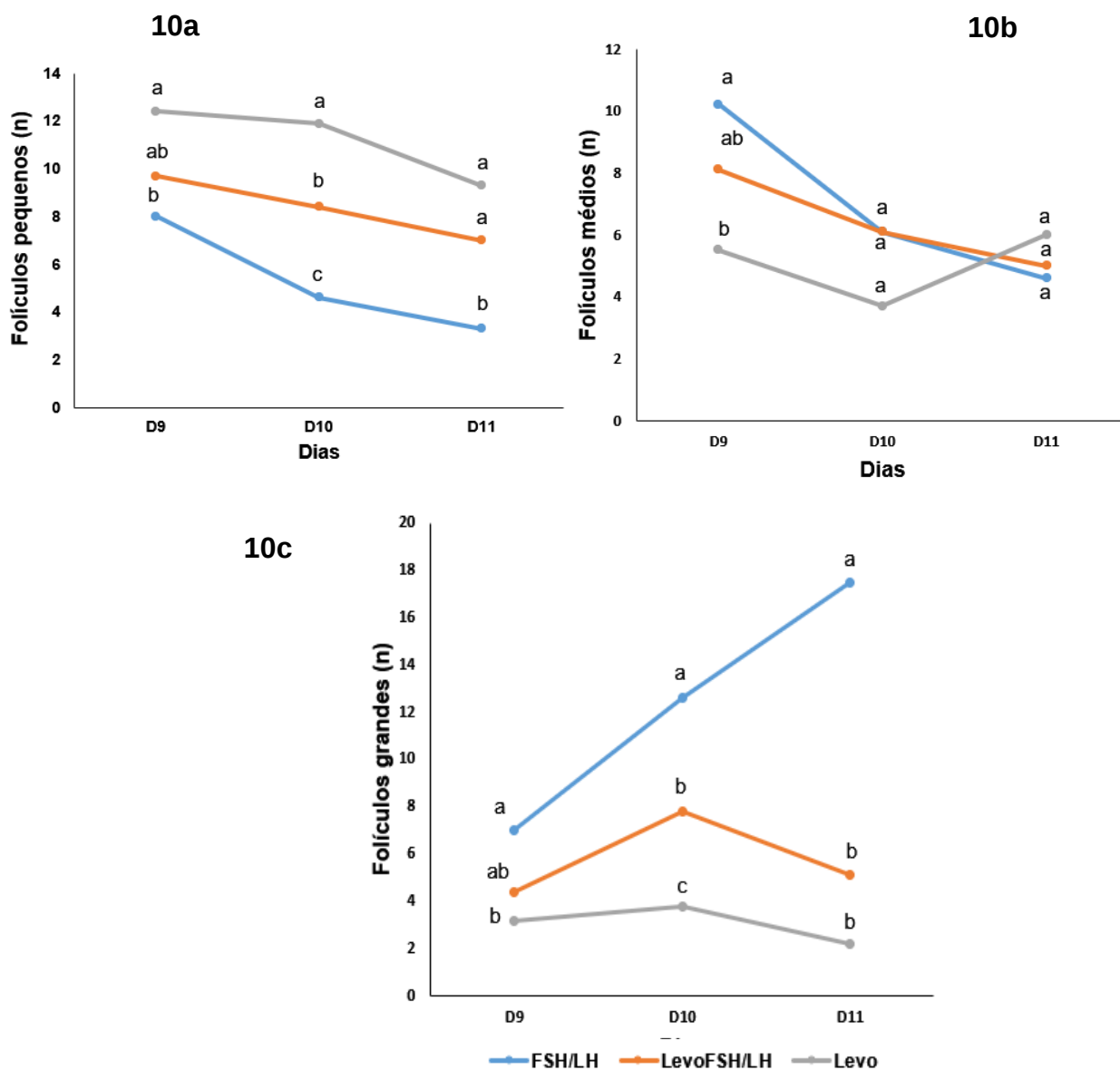
* Um dia após aplicação da Levotiroxina.

7.2. EXPERIMENTO

No Dia 9 (considerando como Dia Zero o dia da colocação da esponja intravaginal), foi observado que o número de folículos pequenos ($P < 0,05$) foi maior no grupo Levo em comparação ao grupo FSH/LH. Além disso, foi observado que o grupo LevoFSH/LH apresentou-se estatisticamente semelhante ($P > 0,05$) ao grupo Levo no número de folículos pequenos (Figura 10a).

Em relação ao número de folículos médios, foi encontrado um aumento significativo no grupo FSH/LH em comparação ao grupo Levo, embora o número de folículos médios do grupo LevoFSH/LH tenha sido semelhante ao do grupo FSH/LH e Levo ($P > 0,05$) (Figura 10b).

Figura 10 – Média do número de a) folículos pequenos (2 a 3 mm), b) médios (>3 a <4mm) e c) grandes (≥ 4 mm) de cabras Canindé submetidas a diferentes protocolos de superovulação.



a, b, c Médias com letras minúsculas sobrescritas distintas indicam diferença significativa entre curvas ($P < 0,05$).

De forma semelhante, foi observado que o número de folículos grandes do grupo FSH/LH foi maior do que o grupo Levo ($P < 0,05$) e semelhante ao grupo LevoFSH/LH e Levo ($P > 0,05$) (Figura 10c).

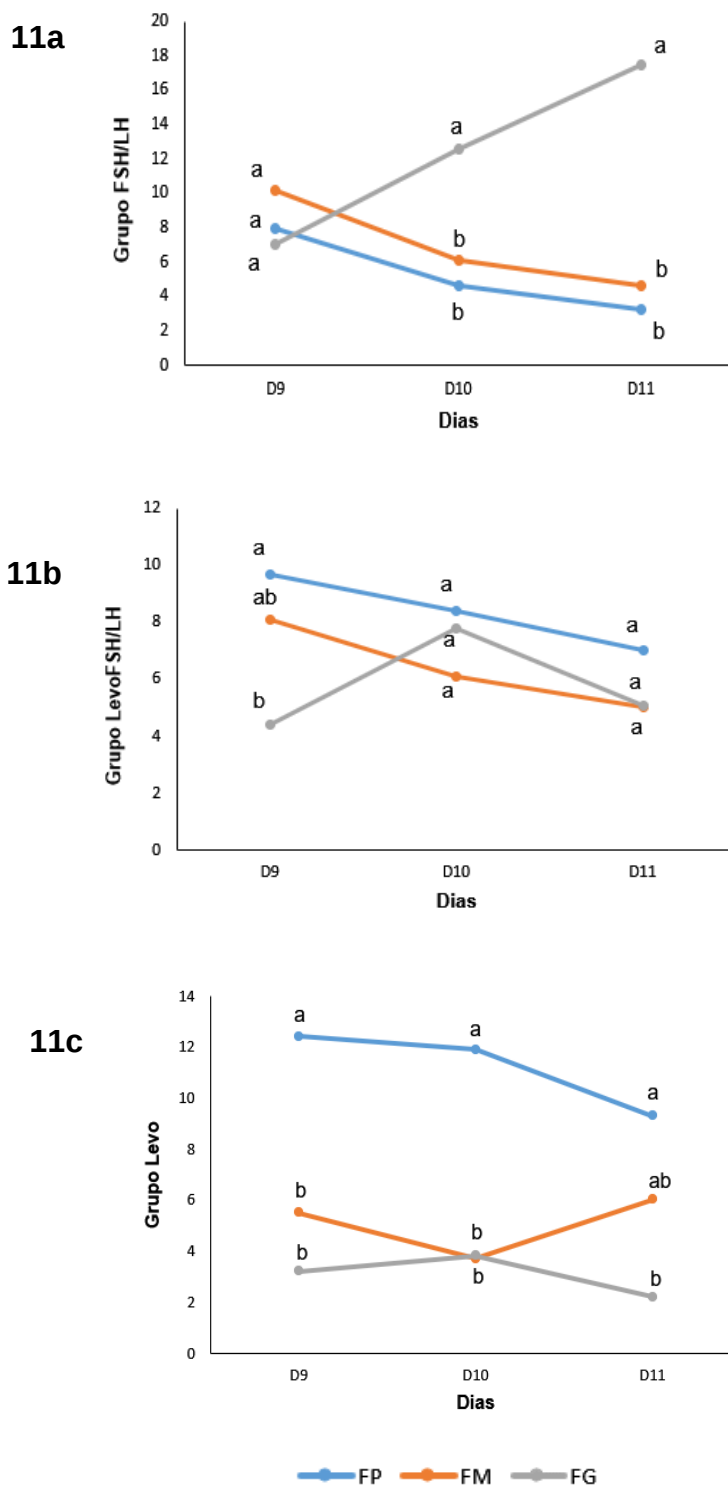
No Dia 10, foi observado que o número de folículos pequenos continuou sendo significativamente maior no grupo Levo em comparação aos demais tratamentos (Figura 10a). Já a população de folículos médios se manteve estatisticamente igual entre os grupos (Figura 10b). Em relação ao número de folículos grandes, foi observado um maior número ($P<0,05$) no grupo FSH/LH quando em comparação aos grupos LevoFSH/LH e Levo exclusivamente. Além disso, foi observado que a população de folículos grandes foi maior ($P<0,05$) no grupo LevoFSH/LH quando em comparação ao grupo Levo (Figura 10c).

No Dia 11, foi observado que o grupo FSH/LH apresentou uma menor ($P<0,05$) população de folículos pequenos em comparação demais grupos (Figura 10a). Foi observado também que o grupo LevoFSH/LH apresentou uma população de folículos pequenos estatisticamente igual ao grupo Levo (Figura 10a). Em relação ao número de folículos médios, estes foram estatisticamente iguais entre os grupos de tratamento.

No que se refere a população de folículos grandes, o grupo que apresentou a maior população ($P<0,05$) foi o grupo FSH/LH, em comparação aos demais grupos. Além disso, foi observado que a população de folículos grandes se manteve igual ($P>0,05$) entre os grupos Levo e LevoFSH/LH.

Quando analisados dentro de cada grupo experimental, dados da população folicular predominante podem ser observados na Figura 11.

Figura 11 – População folicular predominante dentro de cada grupo experimental nos dias 9, 10 e 11 do experimento.



a, b, c Médias com letras minúsculas sobrescritas distintas indicam diferença significativa entre curvas ($P < 0,05$).

No que se refere à população folicular predominante no Dia 9, foi observado que, no grupo FSH/LH, não houve diferença significativa entre a população de folículos pequenos, médios e grandes (Figura 11a). Já no grupo LevoFSH/LH, foi observado que o número de folículos pequenos foi superior ($P < 0,05$) ao número de folículos grandes. Todavia, o número de folículos médios foi semelhante ao número de folículos grandes e pequenos (Figura 11b). No grupo Levo, observou-se que a população de folículos pequenos foi, significativamente, maior que o número de folículos médios e grandes no D9 (Figura 11c).

No Dia 10 do grupo FSH/LH, houve um aumento ($P < 0,05$) do número de folículos grandes em comparação as demais populações foliculares (Figura 11a). Ainda neste grupo, foi observado que o número de folículos pequenos e médios foram estatisticamente iguais entre eles. No grupo LevoFSH/LH, não houve diferença estatística significativa entre os folículos de diferentes tamanhos (Figura 11b). Já no grupo Levo, a população de folículos pequenos se manteve maior ($P < 0,05$) em relação aos demais folículos (Figura 11c).

No Dia 11, foi observado a prevalência do maior número de folículos grandes no grupo FSH/LH (Figura 6a). O grupo LevoFSH/LH, não apresentou diferença estatística entre a sua população folicular no D11 (Figura 11b). No entanto, no grupo Levo, foi observado que o número de folículos pequenos foi maior que o de folículos grandes ($P < 0,05$), mas foi semelhante ao de folículos médios. Contudo, também foi observado que o número de folículos médios foi semelhante ao de folículos grandes (Figura 11c).

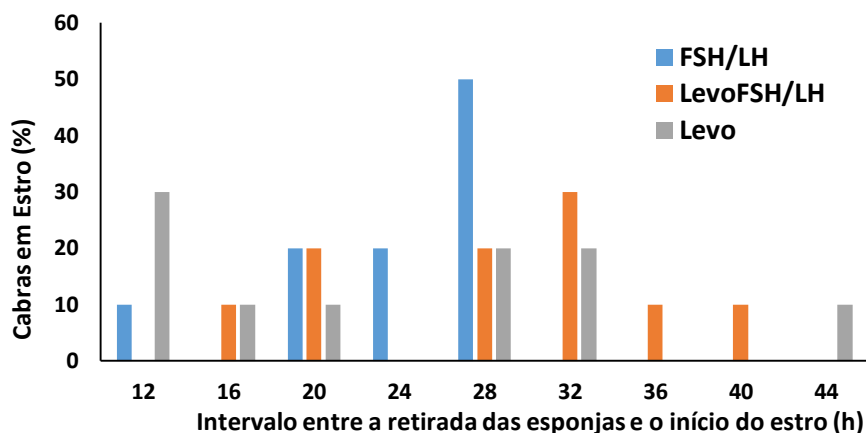
Foi observado que 100% dos animais, em todos os grupos, apresentaram estro, não havendo diferença significativa entre grupos experimentais para o intervalo médio entre a retirada das esponjas e o início do estro (Tabela 2).

Tabela 2 – Porcentagem de cabras em estro e intervalo médio (horas) entre a retirada das esponjas e o início do estro (RE-IE).

Variáveis	Grupos experimentais			Valor de P
	FSH/LH	LevoFSH/LH	Levo	
Fêmeas em estro (%)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	$P > 0,05$
Intervalo médio RE-IE (h)	$24,0 \pm 1,6$	$28,4 \pm 2,4$	$23,6 \pm 3,4$	0,0003

Os dados obtidos para a distribuição do intervalo entre a retirada das esponjas e o início do estro, podem ser observados na Figura 12.

Figura 12 – Intervalo entre a retirada das esponjas e o início do estro em cabras Canindé.



Nos que se refere aos dados de dispersão, o grupo FSH/LH apresentou uma menor dispersão para o início do estro, visto que 100% ($P < 0,05$) das cabras apresentaram estro até 28 horas após a retirada das esponjas (Figura 12), apresentando, até nesse intervalo, uma maior ($P < 0,05$) concentração de estros que o grupo LevoFSH/LH e mostrando-se, estatisticamente, igual ao grupo Levo (Tabela 3). Já a dispersão para o início do estro no grupo Levo foi, estatisticamente, igual à do grupo FSH/LH e ao grupo LevoFSH/LH para o intervalo entre 12 e 28 horas após a retirada das esponjas (Tabela 3).

Para o grupo Levo, foi observada uma porcentagem de 70% de animais em estro no intervalo entre 12 e 28 h e de 30% em estro para o intervalo entre 32 e 44 horas, todavia sem diferença significativa (Tabela 3). De forma geral, um maior número de animais ($P < 0,05$) apresentaram estro no intervalo entre 12 e 28 horas após a retirada das esponjas (73,3 % das cabras), enquanto apenas 26,7% apresentaram estro entre o intervalo de 36 a 44 horas (Tabela 3).

Tabela 3 – Porcentagem de cabras em estro em dois intervalos após a retirada das esponjas.

RE-IE (h)	FSH/LH	LevoFSH/LH	Levo	Total
12 a 28	100% (10/10) ^{aA}	50% (5/10) ^b	70% (7/10) ^{abA}	73,3% (22/30) ^{A*}
32 a 44	0% (0/10) ^B	50% (5/10)	30% (3/10) ^A	26,7% (8/30) ^B

^{a, b} Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo Qui-quadrado ($P < 0,05$). ^{A, B} Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna diferem pelo Qui-quadrado ($P < 0,05$) e * ($P < 0,001$).

Não foram observadas diferenças significativas ($P>0,05$) entre os grupos FSH/LH, LevoFSH/LH e Levo para o número de corpos lúteos e tamanho máximo dos folículos, como pode ser observado na Tabela 4. Além disso, pode ser observado que o número de corpos lúteos em regressão e o número total de ovulações foi significativamente maior para o grupo FSH/LH em comparação aos demais grupos (Tabela 4; Figura 13).

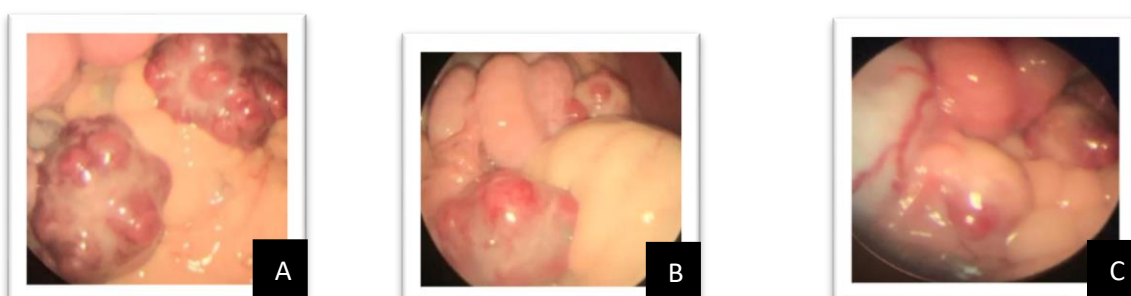
Tabela 4 – Número de corpos lúteos em regressão, de corpos lúteos ativos, total de corpos lúteos/ovulações e diâmetro dos maiores folículos de cabras Canindé.

Variáveis	Grupos Experimentais			Valor de P
	FSH/LH	LevoFSH/LH	Levo	
Animais (n)	10	10	10	
Nº de corpos lúteos em regressão (n)	$6,7 \pm 1,9^a$	$0,3 \pm 0,3^b$	0^b	0,0003
Nº de corpos lúteos ativos (n)	$6,6 \pm 3,3^a$	$3,3 \pm 0,8^a$	$2,0 \pm 0,2^a$	0,257
Total de corpos lúteos(n)	$13,3 \pm 2,3^a$	$3,6 \pm 0,7^b$	$2,0 \pm 0,21^b$	< 0,001
Folículo pré-ovulatório de maior tamanho (mm)	$5,9 \pm 0,2^a$	$5,5 \pm 0,7^a$	$5,5 \pm 0,0^a$	0,100

^{a, b} Valores com letras diferentes na mesma linha são significativamente diferentes.

Na Figura 8 pode ser observado os corpos lúteos encontrados nos ovários das cabras avaliadas durante o procedimento de laparoscopia.

Figura 13 – Ovários das cabras no procedimento de laparoscopia. A) Grupo FSH/LH; B); Grupo LevoFSH/LH; e C) Grupo Levo.



8. DISCUSSÃO

8.1. PRÉ-EXPERIMENTO

A levotiroxina mostrou-se segura para administração intramuscular nos camundongos e nas cabras. Foi observado que não houve diferença estatística significativa dos níveis séricos de T_3 após a administração de Levotiroxina, sugerindo a necessidade de maior dose/animal da Levotiroxina, para promover o aumento dos níveis séricos de T_3 , quando aplicado por via intramuscular, visto que foi realizada apenas uma aplicação na dose de 200µg. Outra explicação é que pode ter ocorrido uma metabolização tardia da Levotiroxina no organismo, visto que a Levotiroxina é o equivalente a tiroxina (T_4) e necessita ser convertida em triiodotironina (T_3) que é a forma ativa (KÖHRLE, 1996; LEONARD; KÖHRLE, 1996; NUNES, 2003). Além disso, a meia vida da Levotiroxina é de 6 a 7 dias no plasma normal e o intervalo de coleta após aplicação foi de apenas 1 dia e, provavelmente, essa conversão necessita de mais tempo (GENUTH, 2009).

8.2. EXPERIMENTO

Este é o primeiro estudo relatado na literatura que descreve a utilização da levotiroxina em protocolos de superovulação, com ou sem a utilização de gonadotrofinas (FSH/LH suína) em cabras Canindé.

No presente estudo, no D9 do protocolo hormonal, observou-se que os maiores números de folículos pequenos foram encontrados nos grupos em que houve a administração somente de levotiroxina (grupo Levo), indicando que a levotiroxina, isoladamente, promove um maior estímulo no recrutamento de folículos pequenos (DIJKSTRA *et al.*, 1996).

Ainda no D9, observou-se que o maior número de folículos grandes, foi encontrado no grupo FSH/LH em comparação ao grupo Levo (Figura 10c). Neste dia, o grupo LevoFSH/LH foi semelhante ao grupo FSH/LH, indicando que o protocolo LevoFSH/LH foi suficiente para promover o desenvolvimento folicular até o tamanho de folículos médios (Figura 10b) e grandes (Figura 10c) no D9 do experimento.

A partir do D10, foi observado um aumento progressivo no número de folículos grandes no grupo FSH/LH, mas não foi observado no grupo LevoFSH/LH. Isto pode ser relacionado à dose de FSH/LH utilizada neste grupo (LevoFSH/LH), indicando que

a mesma não foi o suficiente para evitar a atresia folicular ou possivelmente, o não desenvolvimento dos receptores para o LH nas células da granulosa (SCARAMUZZI *et al.*, 1993; 2011).

Ainda no D10, o número de folículos grandes foi, significativamente, menor para o grupo Levo quando em comparação ao grupo FSH/LH (Figura 10c), indicando que a levotiroxina sozinha não estimula a esteroidogênese, precisando estar associada a uma fonte exógena de gonadotrofinas, já que estas exercem um papel importante no desenvolvimento folicular (GREGORASZCZUK; SKALKA, 1996; ARUNAKUMARI *et al.*, 2007).

Em relação ao número de folículos pequenos, médios e grandes, dentro de cada grupo experimental e no D9, foi encontrado uma maior quantidade de folículos pequenos e médios no grupo LevoFSH/LH (Figura 11b) e um maior número de folículos pequenos no grupo Levo (Figura 11c), reforçando a atuação da levotiroxina no recrutamento de folículos pequenos (Figura 11b) (DIJKSTRA *et al.*, 1996).

Em relação aos dias D10 e D11 do grupo LevoFSH/LH, o número de folículos médios e grandes não diferiram estatisticamente, como observado no grupo FSH/LH (Figura 11b). Esta variação na dinâmica folicular reforça a atuação das gonadotrofinas na diferenciação dos receptores para ligação do LH no pico pré-ovulatório e na sobrevivência do folículo quando há baixas concentrações de FSH (SCARAMUZZI *et al.*, 1993; 2011).

No D11 do grupo Levo (Figura 11c), foi observado que o número de folículos pequenos foi estatisticamente semelhante ao de folículos médios, indicando uma possível interação da levotiroxina (T_4), após sua conversão em T_3 , com os receptores para T_3 presentes nos folículos pequenos (MARUO *et al.*, 1992). Esses mesmos autores observaram que as células da granulosa dos folículos pequenos apresentam maior número de receptores para T_3 do que os folículos bem desenvolvidos.

No presente trabalho, foi avaliado o momento para o início do estro após a retirada das esponjas, e foi observado que todos os protocolos de sincronização do estro e superovulação utilizados foram eficientes na indução e sincronização do estro em cabras Canindé, já que 100% dos animais apresentaram estro, inclusive aqueles em que foram administrados a levotiroxina. Tais resultados, corroboram os encontrados por Dahl *et al.* (1995), os quais não observaram situação de anestro decorrente da administração exógena de T_4 , mas diferem dos encontrados por

O'Callaghan *et al.* (1993), que observaram anestro nos animais que receberam aplicações de tiroxina.

Em relação aos dados de dispersão para o início do estro entre os grupos experimentais, foi observado que os grupos LevoFSH/LH e Levo apresentaram maior dispersão para o início do estro quando comparado ao grupo FSH/LH. Afinal, 100% das cabras do grupo FSH/LH apresentaram estro até às 28 h após a retirada das esponjas. Desta forma, quanto menor é a dispersão para o início do estro, menor será o intervalo entre as ovulações e melhor será o momento para realizar as inseminações ou cobertura dos animais (GREGORY; ROCHA, 2004).

No que se refere ao intervalo médio entre a RE-IE, foi observado que este intervalo foi curto (24 a 28 h), ou seja, os tratamentos superovulatórios promoveram a manifestação do estro de forma rápida e homogênea entre os grupos experimentais (Tabela 2). De forma geral e independente do grupo experimental, foi observado que a maioria dos animais (73,3%) apresentaram o estro entre 12 a 28 horas (Tabela 3), demonstrando os bons resultados na sincronização do estro após a retirada da esponja, visto que uma sincronização homogênea e uniforme, melhora as taxas reprodutivas do rebanho (GREGORY; ROCHA, 2004).

No que se refere à presença de corpos lúteos em regressão, foram observados maiores números no grupo FSH/LH, quando em comparação com o grupo Levo e LevoFSH/LH, indicando que, neste grupo, houve uma regressão prematura do corpo lúteo, ocasionado por uma possível queda precoce dos níveis de progesterona (MCCRACKEN; CUSTER; LAMSA, 1999), visto que não foi utilizado nenhuma droga que pudesse evitar a regressão precoce do corpo lúteo. Os motivos pelos quais ocorrem a regressão precoce do CL, ainda, não estão bem elucidados (CHRISTENSEN; HARESIGN; KHALID, 2014). Okada *et al.* (2000) sugerem que esse fenômeno não ocorre por regressão luteal prematura de corpo lúteo funcionalmente competente, mas por formação anormal de corpo lúteo promovendo uma “hipoplasia lútea” devido ao processo inadequado de luteinização.

No que se refere ao número total de ovulações, observou-se que este foi maior para o grupo FSH/LH, quando comparado aos grupos Levo e LevoFSH/LH. Este resultado obtido no grupo FSH/LH pode estar relacionado pela maior concentração das gonadotrofinas FSH/LH utilizadas para superovulação. Já no grupo LevoFSH/LH, houve a administração de gonadotrofinas hipofisárias, no entanto, em dose 60%

inferior àquela utilizada no grupo FSH/LH (80 UI vs. 200 UI, respectivamente), podendo, assim, ter interferido na resposta do desenvolvimento folicular e ovulação. Afinal, o FSH e o LH são importantes para os estágios finais da foliculogênese e também atuam na determinação do número de ovulações, pois os folículos antrais dependentes de gonadotrofinas podem sofrer atresia, caso os níveis de FSH diminuam antes que as células da granulosa desenvolvam receptores para o LH (SCARAMUZZI *et al.*, 1993; 2011).

Existem vários fatores que podem influenciar no número de ovulações e, por consequência, na produção de embriões, como a quantidade de aplicações, intervalo entre as doses, a proporção de FSH/LH do produto e, principalmente, a dose total utilizada (BOSCOS *et al.*, 1997; D'ALESSANDRO *et al.*, 2005; MARTINEZ; IZAGUIRRE; SÁNCHEZ, 2007; MAGALHÃES *et al.*, 2009).

No que se refere à redução da dose de gonadotrofinas de 200 UI para 80 UI, foi realizada na intenção de identificar se 40% da dose padrão de FSH/LH (LOIOLA FILHO, 2013), em associação à levotiroxina, seria o suficiente para promover a superovulação nos animais avaliados. No entanto, acredita-se que o momento da aplicação da levotiroxina deveria ter ocorrido dias antes da administração de FSH, visto que a levotiroxina precisa ser convertida em T3 para obter a sua forma ativa. (SANOFI, 2019). Além disso, outra explicação é que pode ter ocorrido uma interferência causada pela gonadotrofina utilizada, visto que os produtos comerciais a base de FSH, possuem LH em sua composição e utilizam diferentes proporções FSH:LH. O Pluset® apresenta uma proporção FSH e LH próxima de 1:1, enquanto o Folltropin® apresenta baixa concentração de LH, com uma proporção FSH:LH de 5,25:1 (KELLY *et al.*, 1997).

No presente estudo, a administração da levotiroxina isoladamente (grupo Levo) ou em associação com pequena dose de gonadotrofina (grupo LevoFSH/LH) promoveu um maior estímulo no recrutamento de folículos pequenos, corroborando os dados encontrados por Dijkstra *et al.* (1996).

Portanto, a hipótese que o uso da levotiroxina em protocolos de superovulação em caprinos promove um maior desenvolvimento folicular, com aumento do número de ovulação, foi rejeitada nesta condição experimental.

III. CONCLUSÕES

Nas condições utilizadas para a execução do presente experimento, a utilização de levotiroxina sozinha ou em associação às gonadotrofinas hipofisárias não é o suficiente para promover a superovulação em cabras.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, G. P *et al.* Association between surges of follicle stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. **Reproduction, Fertility and Development.**, v.94, p.177-188, 1992.
- ADRIYANTO, A. *et al.* Optimum dose and time of pregnant mare serum gonadotropin. **Small Ruminant Research**, v.149, p.147-153, 2017.
- AERTS, J. M. J.; BOLS, P. E. J. Ovarian follicular dynamics: a review with emphasis on the bovine species. Part II: Antral development, exogenous influence and future prospects. **Reproduction in Domestic Animals.**, v.45, p.180-187, 2010.
- AISEN, E. **Reprodução Ovina e Caprina**. 1 ed. São Paulo: MedVet, 203p., 2008.
- ALVARADO-ESPINO, A. S. *et al.* Reproductive outcomes of Alpine goats primed with progesterone and treated with human chorionic gonadotropin during the anestrus-to-estrus transition season. **Animal Reproduction Science**, v.167, p.133-138, 2016.
- AMIRIDIS, G. S.; CSEH, S. Assisted reproductive technologies in the reproductive management of small ruminants. **Animal Reproduction Science**, v. 130, p. 152-161, 2012.
- ARAÚJO, V.R. **Estudo dos fatores que afetam a eficiência do cultivo in vitro de folículos pré-antrais caprinos e bovinos**: efeito do regime de troca, meios de cultivo de base e suplementos. (Tese Doutorado) -Universidade Estadual do Ceará. Faculdade de Veterinária. Fortaleza. 290 p., 2013.
- ARUNAKUMARI, G. *et al.* Effect of hormones and growth factors on in vitro development of sheep preantral follicles. **Small Ruminant Research**, v.70, p. 93-100, 2007.
- BALARO, M. F. A. *et al.* Sincronização e indução do estro em caprinos leiteiros. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.41, p.330-339, 2019.
- BARIL, G.; BREBION, P.; CHESNÉ, P. Manual de Formación Práctica para el Trasplante de Embriones en Ovejas y Cabras. **FAO**, p. 182, 1995.
- BARUSELLI, P.S *et al.* Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in buffalo (*Bubalus bubalis*). **Theriogenology**, v.47, p.1531-1547, 1997.
- BARUSELLI, P.S.; GIMENES, L.U.; SALES, J.N.S. Fisiologia reprodutiva de fêmeas taurinas e zebuínas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, n. 2, p.205-211, 2007.
- BERNE, R. M. *et al.* **Fisiologia**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004
- BERTOLINI, M.; BERTOLINI, L.R. Advances in reproductive technologies in cattle from artificial insemination to cloning. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e de Zootecnia**, v.56, p. 184-94, 2009.

BETTENCOURT, E. M. *et al.* Effect of season and gonadotrophin preparation on superovulatory response and embryo quality in Portuguese Black Merinos. **Small Ruminant Research**, v.74, p.134-139, 2008.

BEZERRA, M. B. *et al.* Aspectos quantitativos e qualitativos da foliculogênese na fase pré-natal na espécie caprina. **Ciência Animal**, v. 8, p. 47-56, 1998.

BOSCOS, C. *et al.* Superovulatory Response of Chios and Friesian Ewes to Two FSHP Dose Levels. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 32, p. 195-198, 1997.

BRUNO-GALARRAGA, M. M. *et al.* Repeatability of superovulatory response to successive FSH treatments in Merino sheep. **Small Ruminant Research**, v.124, p.84-89, 2014.

BURATINI JÚNIOR., J. Controle endócrino e local da foliculogênese em bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, p.190-196, 2007.

CHEMINEAU, P *et al.* Control of sheep and goat reproduction: use of light and melatonin. **Animal Reproduction Science**, v.30, p.157-184, 1992.

CHRISTENSEN, A. C.; HARESIGN, W.; KHALID, M. Progesterone exposure of seasonally anoestrous ewes alters the expression of angiogenic growth factors in preovulatory follicles. **Theriogenology**, p. 358-367, 2014.

COSTA, S. L. *et al.* Caracterização estrutural do hormônio folículo estimulante e seu papel na fisiologia de células ovarianas. **Ciência Animal**, v. 24, p. 11-23, 2014.

COX, J. F. *et al.* Follicular Dynamics, Interval to Ovulation and Fertility After AI in Short-Term Progesterone and PGF_{2α}. Oestrous Synchronization Protocol in Sheep. **Reproduction in Domestic Animals**, v.47, p.946-951, 2012.

CUETO, M. *et al.* of emergence of ovulatory follicles in polyovulatory goats. **Animal Reproduction Science**, v.91, p.275-284, 2006.

D'ALESSANDRO, A. *et al.* Superovulation and embryo production in ewes using a commercial p-FSH. **Small Ruminant Research**, v.19, p. 255-261, 1996.

D'ALESSANDRO, A.; MARTEMUCCI, G.; TAIBI, L. How the FSH/LH ratio and dose numbers in the p-FSH administration treatment regimen, and insemination schedule affect superovulatory response in ewes. **Theriogenology**, v.63, p. 1764–1774, 2005.

DAHL, G. E. *et al.* Thyroxine is Permissive to Seasonal Transitions in Reproductive Neuroendocrine Activity in the Ewe. **Biology of Reproduction**, v. 52, p. 690–696, 1995.

DANTAS, C. C. O.; NEGRÃO, F. M. Biotecnologias na reprodução de caprinos. **Pubvet**, v.4, n. 29, p.907, 2010.

DIJKSTRA, G. *et al.* Effect of hypothyroidism on ovarian follicular development, granulosa cell proliferation and peripheral hormone levels in the prepubertal rat. **European Endodonic Journal**, n. 134, p. 649-54, 1996.

DOLLERY, C. **Therapeutic drugs**. 2nd. ed. London: Churchill Livingstone, 1999.

DRIANCOURT, M. A.; MARIANA, J. C.; PALMER, E. Effect of the stage of the oestrus cycle on the follicular population in pony mares. **Reproduction Nutrition Development**, v.22, n. 5, p. 803-8012, 1991.

EVANS, A. O. C. *et al.* Follicular waves are associated with transient fluctuations in FSH but not oestradiol or inhibin-A concentrations in anoestrous ewes. **Animal Science**, v.72, p.547-554, 2001.

EVANS, G.; ARMSTRONG, D. T. Reduction of sperm transport in ewes by superovulation treatments. **Journal of reproduction and fertility**, v.70, p.47-53, 1984.

FATET, A.; PELLICER-RUBIO, M. T.; LEBOEUF, B. Reproductive cycle of goats. **Animal Reproduction Science**, v.124, p.211-219, 2011.

FERNANDES NETO, V. P. *et al.* Técnicas de superovulação em ruminantes. **Pubvet**, v. 6, n. 12, Ed. 199, Art. 1332, 2012.

FIGUEIREDO, J. R.; RODRIGUES, A. P.R.; SANTOS, R.R. Manipulação de oócitos inclusos em folículos ovarianos pré-antrais: MOIFOPA. In: Oliveira, Teixeira e Vicente. **Bioteχνicas reprodutivas em ovinos e caprinos**. Editora: MedVet, p. 211-233, 2013.

FINORA, K.; GRECO, D. Hypothyroidism and myxedema coma. **Compendium: Continuing Education For Veterinarians**, v. 29, n.1, p.19-31, 2007.

FONSECA, J. F. *et al.* Evaluation of cervical mucus and reproductive efficiency of seasonally anovular dairy goats after short-term progestagen-based estrous induction protocols with different gonadotropins. **Reproductive Biology**, v.17, p.363-369, 2017.

FONSECA, J. F.; SOUZA, J. M. G.; BRUSCHI, J. H. Sincronização De Estro e superovulação em ovinos e caprinos. **Embrapa Caprinos e ovinos**, p.167- 195, 2007.

FONSECA, J. F.; TORRES, C. A. A. Administration of hCG 5 days after breeding and reproductive performance in nulliparous dairy goats. **Reproduction in Domestic Animals**, v.40, p. 495-499, 2005.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). General considerations for the clinical evaluation of drugs. U.S. **Department for Health and Wellbeing**, 2000.

FORTUNE, J.E. *et al.* Differentiation of dominant versus subordinate follicles in cattle. **Reproductive Biology**, v.65, p.648-654, 2001.

FREITAS, V. J. F. *et al.* **Produção, criopreservação e transferência de embriões em pequenos ruminantes**. In: GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. *Biotécnicas aplicadas à reprodução animal*. 2. ed. São Paulo: Editora Roça. p. 241-260, 2014.

FROESH, E. R *et al.* Action of insulin-like growth factors. **Annual Review of Physical Chemistry**, v. 47, p.443–467, 1985.

GENUTH, S.M. **The hypothalamus and pituitary gland**. In: BERNE *et al.* *Physiology*. 5th ed. 2009.

GEORGE, L. L.; ALVES, C. E. R.; CASTRO, R. R. L. **Histologia Comparada**. 2aed. São Paulo: Roca, p.186, 1998.

GIBBONS, A.; CUETO, M. Reproductive biotechnologies for genetic improvement in sheep. **Revista Brasileira de Reprodução Animal.**, v.35, n.2, p.180-185, 2011.

GINTHER, O. J. *et al.* Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. **Animal Reproduction Science**, v.78, p.239-257, 2003.

GINTHER, O. J. *et al.* Selection of the dominant follicle in cattle. **Biology of Reproduction**, v.55, p.1187-1194, 1996.

GINTHER, O. J.; KOT, K. Follicular dynamics during the ovulatory season in goats. **Theriogenology**, v.42, n.6, p. 987-1001, 1994.

GOFF, J. P. Endocrinologia, Reprodução e Lactação. In :REECE, O. **Fisiologia dos animais domésticos**. 13ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara.1594p. 2017.

GONZALEZ, F. H. D. **Introdução a endocrinologia reprodutiva e veterinária**. 1ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, p. 87, 2002.

GRANADOS, L. B. C.; DIAS, A. J. B.; SALES, M. P. Aspectos gerais da reprodução de caprinos e ovinos. 1º ed. Campos dos Goytacazes. **Projeto PROEX/UENF**, 54p. 2006.

GREGORASZCZUK, E. L.; SKALKA, M. Thyroid hormone as a regulator of basal and human chorionic gonadotropin-stimulated steroidogenesis by cultured porcine theca and granulosa cells isolated at different stages of the follicular phase. **Reproduction, Fertility and Development**, p.1-7, 1996.

GREGORY, R.M; ROCHA, D.C. Protocolos de sincronização e indução de estros em vacas de corte no Rio Grande do Sul. In: 1º SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA, 2004, Londrina, PR. **Anais...**Londrina: Hotel Sumatra, 2004. p.56-81.

GRUAZ, N. M *et al.* Growth hormone (GH) deprivation induced by passive immunization against rat GH-releasing factor does not disturb the course of sexual maturation and fertility in the female rat. **Endocrinology**, v.135, p.509–519, 1994.

GRUNERT, E.; BIRGEL, E.H.; VALE, W.G.; BIRGEL JÚNIOR, E. H. **Patologia e Clínica da Reprodução dos Animais Mamíferos Domésticos: Ginecologia**. São Paulo: Livraria Varela, 2005.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Fisiologia humana e mecanismos de doenças**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.

HAFEZ, E.S.E.; JAINUDEEN, M. R.; ROSNINA, A. **Hormônios, fatores de crescimento e reprodução**. Reprodução Animal. 7 ed. São Paulo: Manole, p. 33-53, 2004.

HERVAS, F.; MORREALE, D. E. G.; ESCOBAR, D. R. F. Conversion of thyroxine to triiodothyronine and biological activity of thyroxine as measured by changes in growth hormone. **Endocrinology**, v.98, p.77–83, 1976.

HERVÉ, V. *et al.* Antiequine Chorionic Gonadotropin (eCG) Antibodies Generated in Goats Treated with eCG for the Induction of Ovulation Modulate the Luteinizing Hormone and Follicle-Stimulating Hormone Bioactivities of eCG Differently. **Endocrinology**, v. 145, p.294-303, 2004.

HOLTZ, W. Recent developments in assisted reproduction in goats. **Small Ruminant Research**, v.60, p.95-110, 2005.

JABBOUR, H. N.; EVANS, G. Ovarian and endocrine responses of Merino ewes following treatment with PMSG and GnRH or PMSG antiserum. **Animal Reproduction Science**, v.24, p.259-270, 1991.

JAINUDEEN, M. R.; WAHID, H.; HAFEZ, E. S. E. Indução da ovulação, produção e transferência de embriões. In: HAFEZ, E. S. E. & HAFEZ, B. **REPRODUÇÃO ANIMAL**, 7ª ed. Barueri, Ed. Manole, p.413-419. 2004.

JIANG, J. Y.; UMEZU, M.; SATO, E. Improvement of follicular development rather than gonadotrophin secretion by thyroxine treatment in infertile immature hypothyroid rdw rats. **Reproduction and Fertility**, v. 119, p. 193-99, 2000.

KELLY, P. *et al.* Superovulation in cattle: effect of FSH type and method of administration on follicular growth, ovulatory response and endocrine patterns. **Animal Reproduction Science**, v.46, p.1-14, 1997.

KÖHRLE, J.; KÖHRLE. Deiodinases hormonais da tireoide: uma família de selenozzimos agindo como guardiões da ação hormonal da tireoide **Acta Med Austriaca**, n. 23, p. 17-30, 1996.

LEONARD, J.L., KÖHRLE, J. Vias intracelulares do metabolismo da iodothyronina. In: Braverman, L.E., Utiger, R.D. (Eds.), WERNER; INGBAR'S. **The Thyroid: A Fundamental and Clinical Text**, 7th ed. (8). Lippincott-Raven, Filadélfia, p.125-161, 1996.

LOIOLA FILHO, J. B. **Efeito da dose de pfsh na produção in vivo de embriões em ovelhas dorper pertencentes a duas categorias de peso corporal**. 65f. 2013.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina, PE, 2013.

LOPES JÚNIOR, E. S. *et al.* Effect of age of donor on embryo production in Morada Nova (white variety) ewes participating in a conservation programme in Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, v. 38, p. 555-561, 2006.

LOPES JÚNIOR, E. S.; MIRANDA, M. S.; SILVA, A. A. A. Múltipla ovulação e transferência de embriões em ovinos. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.8, p. 351-360, 2014.

LUCY, M.C. *et al.* Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. **Journal of Animal Science**, v.70, p.3615-3626, 1992.

MAGALHÃES, D. M. *et al.* Role of Follicle Stimulating Hormone in folliculogenesis in vivo and in vitro. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.33, n.4, p.171-182, 2009.

MARTINEZ, J.J.; IZAGUIRRE, F.; SÁNCHEZ, L. Comportamiento reproductivo de ovejas Barbados Barriga Negra sincronizadas con MPA y diferentes tiempos de aplicación de eCG durante la época de baja fertilidad. **Revista Científica**, v.17, p.47-52, 2007.

MARTINS, F. S *et al.* Fatores reguladores da foliculogênese em mamíferos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.32, n.1, p.36-49. 2008.

MARUO, T *et al.* Increase in the expression of thyroid hormone receptors in porcine granulosa cells early in follicular maturation. **Acta Endocrinologica**, v. 127, p.152-60. 1992.

MATTEIJ, J. A. M. *et al.* Effects of hypothyroidism on the pituitary-gonadal axis in the adult female rat. **Journal of the Endocrine Society**., v.146, p. 87-94, 1995.

MCCRACKEN, J.A.; CUSTER, E.E.; LAMSA, J.C. Luteolysis: a neuroendocrine-mediated event. **Physiological Reviews**., v.79, p.263-323, 1999.

MEDAN, S. M. *et al.* Ovarian dynamics and their associations with peripheral concentrations of gonadotropins, ovarian steroids, and inhibin during the estrous cycle in goats. **Biology of Reproduction**, v.69, n.1, p. 57– 63, 2003.

MENCHACA, A. *et al.* Endocrine, luteal and follicular responses after the use of the Short-Term Protocol to synchronize ovulation in goats. **Animal Reproduction Science**, v.102, p.76-87, 2007.

MENCHACA, A. *et al.* Progesterone treatment, FSH plus eCG, GnRH administration, and Day 0 protocol for MOET programs in sheep. **Theriogenology**, v.72, p.477-483, 2009.

MONTENEGRO *et al.*, 2017. Maneio reprodutivo em ovinos e caprinos. **Revista Técnico Científica**, v. 25, p. 20-24, 2017.

MORRIS, DG; DISKIN, M.G.; SREENAM, J.M. Biotechnology in cattle reproduction. **agriculture and food development authority**, nº 39, 13p. 2001.

MURPHY, B. D. Equine chorionic gonadotrophin: an enigmatic but essential tool. **Animal Reproduction Science.**, v.9, p.223-230, 2012.

NOGUEIRA, D. M. *et al.* Produção de caprinos e ovinos no Semiárido. Manejo reprodutivo (Capítulo 16). **Embrapa Semiárido**, 2011.

NOGUEIRA, D. M. *et al.* Effect of hormonal synchronisation and/or short-term supplementation with maize on follicular dynamics and hormone profiles in goats during the non-breeding season. **Animal Reproduction Science**, p. 87-97, 2016.

NUNES, M. T. Hormônios tiroideanos: Mecanismo de Ação e Importância Biológica. **Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia**, v. 47, p. 639-643, 2003.

O'CALLAGHAN, D. *et al.* Effect of exogenous thyroxine on timing of seasonal reproductive transitions in ewe. **Biology of Reproduction.**, v. 49, n. 2, p. 311-315, 1993.

OKADA, A. *et al.* Incidence of abnormal corpus luteum in superovulated ewes. **Journal of Reproduction and Development.**, v.46, p.397-402, 2000.

OLIVEIRA, A. F. *et al.* Dinâmica folicular na sincronização de ovulação associada à administração de FSH-p em vacas da raça Nelore. **Acta Scientiae Veterinariae.**, v.35, p.1119, 2007.

PADILLA, G.; HOLTZ W. Follicular dynamics in cycling Boer goats. In: 7 th International Conference on Goats. Tours. **Proceedings**, 2000, p.479, 2000.

PARAMIO, M. T.; IZQUIERDO, D. Current status of in vitro embryo production in sheep and goats. **Reproduction in Domestic Animals**, v.49, p. 4:37-48, 2014.

PIETROSKI, A. C. C. A. *et al.* Short, medium or long term hormonal treatments for induction of synchronized estrus and ovulation in Saanen goats during the nonbreeding season. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.42, p.168–173, 2013.

PINHEIRO, A. A. Biotecnias da reprodução e o impacto na produção de ovinos e caprinos: In SEMINÁRIO NORDESTINO DE PECUÁRIA. **Embrapa caprinos**, 22p. 2002.

PINTO, P. H. N. *et al.* Colheita transcervical de embriões em ovelhas e cabras. (**Anais**) XXIII Congresso Brasileiro de Reprodução Animal., 2019.

RAWLINGS, N. C. *et al.* Clinical reproductive physiology of ewes. Current Therapy in Large Animal. **Theriogenology**. p. 642-649. 2007.

REECE, O. W. Reprodução Feminina Dos Mamíferos. In: REECE, O. **Fisiologia dos animais domésticos**. 13ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara.1594p. 2017.

ROSA, H. J. D.; BRYANT, M. J. Seasonality of reproduction in sheep. **Small Ruminant Research**, v. 48, p. 155-171, 2003.

SANOFI. **Levotiroxina sódica**: Bulário de remédios comerciais. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=18552872016&pIdAnexo=3548704. Acesso em: 24 jun. 2019.

SARAIVA, M. V. A. *et al.* Hormônios hipofisários e seu papel na foliculogênese. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, p. 206-221, 2010.

SAUMANDE, J. Folliculogenesis in the ruminants. **Recueil de Medecine Veterinaire**, v. 167, p. 205-218, 1991.

SCARAMUZZI, R. J. *et al.* A model for follicle selection and the determination of ovulation rate in the ewe. **Journal of reproduction and fertility**, v.5, 459-478, 1993.

SCARAMUZZI, R. J. *et al.* Regulation of folliculogenesis and the determination of ovulation rate in ruminants. **Reproduction, Fertility and Development**, p. 44-67, 2011.

SERAKIDES, R. *et al.* Foliculogênese e Esteroidogênese Ovarianas em Ratas Adultas Hipertireóideas. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia**, p. 258-264, 2001.

SIMÕES, J. *et al.* Follicular dynamics in Serrana goats. **Animal Reproduction Science**, v.95, n.1-2, p. 16-26, 2006.

SIMPLÍCIO, A.A.; SALLES, H.O.; SANTOS, D.O. Transferência de embriões nos pequenos ruminantes domésticos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.1, p.17-22, 2002.

SOUZA, R. S. *et al.* Sincronização da ovulação utilizando FSH em substituição à eCG em cabras. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, p.753–756, 2011.

SREENAN, J. M.; DISKIN, M. G. Effect of a unilateral or bilateral twin embryo distribution on twinning and embryo survival rate in the cow. **Journal of reproduction and fertility**, v. 87, p. 657-664, 1989.

TEIXEIRA, I. A. M. *et al.* Inovações tecnológicas na caprinocultura. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.14, n.1, p. 104-120, 2013.

VEIGA-LOPEZ, A. *et al.* Features of follicle-stimulating hormone stimulated follicles in a sheep model: keys to elucidate embryo failure in assisted reproductive technique cycles. **Fertility and Sterility**, v.89, p.1328-1337, 2008.

VEIGA-LOPEZ, A. *et al.* The effects of previous ovarian status on ovulation rate and early embryo development in response to superovulatory FSH treatments in sheep. **Theriogenology**, v.63, p.1973-1983, 2005.

VELÁSQUEZ, L. F. U.; SOUZA, M. I. L.; SOLARTE, W. N. Desenvolvimento folicular em cabras Alpinas durante a estação reprodutiva. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, V. 10, n. 1, p. 38-44, 2015.

WOLF, M.; HINGHAR, S. H.; MOSE, A. C. Thyroid hormone and growth hormone interact to regulate insulin-like growth factor-1 messenger ribonucleic acid and circulating levels in the rat. **Endocrinology**, v.125, p.2905–2914, 1989.

WU, W. *et al.* Effect of two follicle stimulating hormone (FSH) preparations and simplified superovulatory treatments on superovulatory response in Xinji fine-wool sheep. **African Journal of Biotechnology**, v.10, n.70, p.15834-15837, 2011.

YOSHIMURA, Y.; IWASHITA, M.; KARUBE, M.; ODA, T.; AKIBA, M.; SHIOKAWA, S.; ANDO, M.; YOSHINAGA, A.; NAKAMURA, Y. Growth hormones stimulates follicular development by stimulating ovarian production of insulin like growth factor I. **Endocrinology**, v.135, p.887–894, 1994.

ANEXO A – DECLARAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA/EMBRAPA)

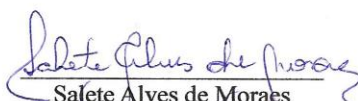


EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA CENTRO DE PESQUISAS DO TRÓPICO SEMIÁRIDO – EMBRAPA SEMIÁRIDO COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Uso de levotiroxina em protocolo de superovulação para caprinos", registrada com o nº **02/2019**, sob a responsabilidade de Daniel Maia Nogueira e - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Embrapa Semiárido, em reunião de 04/10/2019.

Finalidade	() Ensino (x) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	04/10/2019 a 10/06/2021
Espécie/linhagem/raça	<i>Capra hircus</i> – raça Canindé
Nº de animais	30
Peso/Idade	25 a 45 kilos / 2,5 a 5 anos
Sexo	femeas
Origem	Campo Experimental da Caatinga, Poço 5 – Caprinos – Embrapa Semiárido


Salette Alves de Moraes
Coordenadora
CEUA Embrapa Semiárido

Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro de Pesquisa do Trópico Semiárido
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Pesquisa Agropecuária do Trópico Semiárido, C. P. 23
R. São Carlos, 428, km 152, Zona Rural, CEP 56302-970, Petrolina-PE
Telefone (87) 3866 3600 Fax (87) 3866 3815
EMBRAPA
www.embrapa.br/semiarido
Centro de Pesquisa do Trópico Semiárido
Agropecuária do Trópico Semiárido
CPATSA

Fone: (87) 3866-3600
Fax: (87) 3866-3815
sac@cpatsa.embrapa.br