

Foliculogênese e Esteroidogênese Ovarianas em Ratas Adultas Hipertireóideas

***Rogéria Serakides
Vera Alvarenga Nunes
Ernane F. do Nascimento
Ana Flávia C. Ribeiro
Cristiana M. da Silva***

*Setor de Patologia do Departamento
de Clínica e Cirurgia Veterinárias da
Universidade Federal de Minas
Gerais, Belo Horizonte, MG.*

*Recebido em 10/08/00
Revisado em 06/11/00
Aceito em 22/12/00*

RESUMO

A foliculogênese e a esteroidogênese ovarianas foram estudadas em ratas adultas hipertireóideas. O hipertireoidismo foi induzido em 27 ratas Wistar com cinco meses de idade pela administração diária de 50µg de L-tiroxina. Outras 27 ratas foram mantidas em estado eutireóideo e serviram como controle. Aos 30, 60 e 90 dias após o início do tratamento, nove ratas de cada grupo foram sacrificadas, os ovários inspecionados, pesados e processados para avaliação histomorfométrica e o plasma sanguíneo colhido para dosagem de T4-livre, estradiol e progesterona. As concentrações plasmáticas de T4-livre foram significativamente maiores nas ratas hipertireóideas aos 30, 60 e 90 dias, e o peso médio dos ovários foi significativamente maior somente aos 90 dias. Já o número de folículos secundários e terciários e de corpos lúteos foi significativamente maior aos 60 ou aos 90 dias, mas a taxa percentual de atresia folicular só foi diferente aos 90 dias. O número de folículos primários e pré-ovulatórios, assim como as concentrações plasmáticas de estradiol e progesterona, não diferiram entre grupos e entre períodos. Concluiu-se que o hipertireoidismo estimula a foliculogênese ovariana em ratas sexualmente maduras e diminui a atresia folicular. (**Arq Bras Endocrinol Metab 2001;45/3:258-264**)

Unitermos: Rata; Hipertireoidismo; Ovário; Foliculogênese; Esteroidogênese

ABSTRACT

Ovarian folliculogenesis and steroidogenesis were studied in hyperthyroid adult rats. Hyperthyroidism was induced in 27 five month-old Wistar rats by daily administration of 50µg L-thyroxin. Other 27 rats were maintained in euthyroid state as controls. At 30, 60 and 90 days after the beginning of the treatment, nine rats from each group were sacrificed. The ovaries were weighed, inspected and processed for histomorphometric evaluation. Plasmatic levels of free T4, estradiol and progesterone were determined. The levels of T4 were significantly higher in the hyperthyroid rats at 30, 60 and 90 days, but significant differences on the ovarian weight were detected only at 90 days. The number of secondary and tertiary follicles and of corpus luteum was greater at 60 or 90 days, but the rate of follicular atresia was different only at 90 days. No significant differences were observed on the number of primary and pre-ovulatory follicles and on the concentrations of estradiol and progesterone. Our data suggest that hyperthyroidism stimulates ovarian folliculogenesis in sexually mature rats. Furthermore, there is a reduction on the rate of follicular atresia. (**Arq Bras Endocrinol Metab 2001;45/3:258-264**)

Keywords: Rat; Hyperthyroidism; Ovary; Folliculogenesis; Steroidogenesis

O OVÁRIO É RESPONSIVO AOS HORMÔNIOS da tireóide e dos eventos que ocorrem durante a foliculogênese e a esteroidogênese, vários estão sob a influência direta ou indireta dos hormônios tireoidianos. Sendo assim, as disfunções tireoidianas podem influenciar o desempenho reprodutivo (1), conduzindo a distúrbios menstruais na mulher (2), redução da fertilidade e ao aborto (3).

Mulheres com níveis elevados de hormônios tireoidianos apresentam oligomenorréia e redução da fertilidade (2), mas o hipertireoidismo discreto ou moderado parece não afetar a fertilidade, podendo haver ovulação seguida de gestação normal (4). Somente em poucos casos tem sido descrita a existência de ciclos anovulatórios com amenorréia (3).

Frente a esses achados contraditórios, o estudo da relação entre hormônios tireoidianos e função ovariana tem despertado a atenção dos pesquisadores, mas a maior parte das pesquisas está voltada para o hipotireoidismo, considerado como causa de cistos foliculares (5-7).

Apesar da influência comprovada dos hormônios tireoidianos na foliculogênese de ratas pré-púberes, promovendo a diferenciação das células da granulosa (8), e de fêmeas púberes, estimulando a ovulação (9), o mecanismo pelo qual as disfunções tireoidianas alteram a função ovariana ainda não foi totalmente elucidado. A definição se a ação desses hormônios sobre a foliculogênese e a esteroidogênese ovarianas é direta ou indireta ainda não foi conseguida. Postula-se que a redução e/ou aumento da secreção tireoidiana atue indiretamente sobre o ovário, alterando sua responsividade às gonadotropinas (9). No entanto, a presença de receptores para triiodotironina nas células da granulosa (10) sugere uma ação direta (11).

A grande maioria dos efeitos dos hormônios da tireóide sobre o ovário foi elucidada em pesquisas *in vitro* e as respostas do ovário de animais e da mulher ao hipertireoidismo ainda carecem de estudos. Este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos do hipertireoidismo na foliculogênese e esteroidogênese ovarianas de ratas púberes.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 54 ratas Wistar púberes com cinco meses de idade. As ratas foram alojadas em caixas plásticas, numa densidade de cinco ratas/caixa, e recebiam ração comercial (22% de proteína bruta, 1,4% de cálcio, e 0,6% de fósforo, além de micronutrientes em concentrações adequadas) e água destilada *ad libitum*.

Os animais eram mantidos em regime de 12 horas com luz e 12 horas sem luz e com controle da temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$).

Após um período de trinta dias de adaptação, as ratas foram separadas, ao acaso, em dois grupos, tratado e controle, cada um com 27 ratas. No grupo tratado, foi induzido o hipertireoidismo pela administração diária de L-tiroxina (Amersham International, Buckinghamshire, England), por sonda gástrica na dose de 50 μg /animal (12), diluída em 5ml de água destilada. O grupo controle foi mantido em estado eutireóide, recebendo apenas água destilada como placebo. Nove animais de cada grupo foram sacrificados aos 30, 60 e 90 dias após o início do experimento, sendo os ovários inspecionados, pesados e destinados à avaliação histomorfométrica e o plasma colhido, para dosagem de T4 livre, estradiol e progesterona.

Os ovários esquerdo e direito foram colhidos e pesados separadamente, em balança de precisão, sendo obtida a média das duas gônadas. Após a pesagem, foram fixados em formalina a 10% neutra e tamponada e processados pela técnica rotineira de inclusão em parafina e microtomia seriada. A cada 20 ou 30 secções histológicas, foram selecionadas cinco secções de cada ovário, totalizando 10 secções por animal, que foram coradas pela técnica da hematoxilina-eosina (HE) e submetidas à análise morfológica e morfométrica. Na área total abrangida pela secção histológica, foi quantificado o número total de folículos não atrésicos, o de folículos primários, secundários, terciários e pré-ovulatórios e o de corpos lúteos, bem como a porcentagem de folículos atrésicos. Para cada variável foi obtida a média das 10 secções.

A classificação histológica dos folículos ovarianos foi realizada segundo aquela já previamente preconizada (13), ou seja, folículo primário: oócito revestido por epitélio cúbico simples de células da granulosa; folículo secundário: oócito circundado por várias camadas de células da granulosa e células da teca; folículo terciário: oócito circundado por várias camadas de células da granulosa e com a presença do antro; folículo pré-ovulatório: oócito excêntrico, circundado pela coroa radiada (*corona radiata*) e contido pelo *cúmulus ooforus*, antro folicular amplo; folículo atrésico: oócito degenerado e circundado por células da granulosa com no mínimo dois núcleos picnóticos ou fragmentados.

As concentrações plasmáticas de T4 livre e progesterona foram determinadas pela técnica da quimioluminescência (Access Immunoassay System, Sanofi Diagnostics Pasteur Inc., Chaska, MN, USA), seguindo o protocolo do fabricante, com CV intra-

ensaio de 4% e 7% e com CV inter-ensaio de 7% e 11% respectivamente. As concentrações plasmáticas de estradiol foram realizadas pela técnica da fluorimetria (Delphia, Wallac Oy, Turku, Finland), seguindo também o protocolo do fabricante, com CV intra-ensaio de 10% e CV inter-ensaio de 9%. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, em esquema fatorial 2x3 (2 grupos e 3 períodos). Para cada variável estudada foram determinadas a média e o desvio padrão. A significância da diferença entre as médias foi verificada pela análise de variância e a comparação entre médias, pelo teste t de Student. Também foi verificada a correlação entre níveis plasmáticos de T4-livre e todas as variáveis paramétricas (14).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A concentração plasmática de T4-livre no grupo tratado foi significativamente maior já aos 30 dias (tabela 1), permanecendo mais elevada aos 60 e 90 dias (tabelas 2 e 3), o que confirma o estado hipertireóide das ratas em todo o período experimental.

Somente aos 90 dias, os ovários das ratas com hipertireoidismo eram maiores à inspeção macroscópica e seu peso médio, significativamente mais ele-

vado (tabela 3). No entanto, o número total de folículos viáveis (não atrésicos) por ovário já era significativamente maior aos 60 dias (tabela 2), assim permanecendo até os 90 dias (tabela 3), isto em decorrência do aumento do número de folículos secundários e terciários.

Já os folículos primários, embora aparentemente mais numerosos, não mostraram diferença numérica estatisticamente significativa em relação aos das ratas controle. No entanto, ficou demonstrada correlação positiva e significativa entre a população de folículos primários e as concentrações plasmáticas de T4-livre (tabela 4), sugerindo haver participação ativa dos hormônios tireoidianos no desenvolvimento dos folículos primordiais. Isso parece ser verídico, pois já havia sido determinado que as células da granulosa dos pequenos folículos apresentam maior número de receptores para T3 do que os folículos bem desenvolvidos (15). Por outro lado, como o desenvolvimento dos folículos primordiais até folículos secundários independe da ação das gonadotropinas (16), a participação dos hormônios da tireóide no recrutamento de folículos primordiais não deve ser descartada, embora sejam sugeridos alguns fatores de crescimento e neurotrofinas como determinantes desse processo (17).

Tabela 1. Média, desvio padrão e resultado da análise estatística das variáveis estudadas por grupo aos 30 dias.

Variáveis	Grupo Hipertireóide (n= 9)	Grupo Controle (n= 9)	CV%
Concentração plasmática de tiroxina livre (ng/dl)	3,11 ± 0,77 ^a	2,18 ± 0,48 ^b	25
Peso do ovário (mg)	34,96 ± 7,92	30,05 ± 6,62	18
Número total de folículos não atrésicos	10,39 ± 2,44	8,49 ± 2,34	23
Número de folículos primários	1,57 ± 0,39	1,28 ± 0,57	49
Número de folículos secundários	4,52 ± 0,95	3,74 ± 1,16	26
Número de folículos terciários	4,04 ± 1,58	3,22 ± 1,24	33
Número de folículos pré-ovulatórios	0,26 ± 0,44	0,24 ± 0,20	127
Número de corpos lúteos	7,73 ± 2,74	5,79 ± 1,53	43
Porcentagem de folículos atrésicos	33,91 ± 3,87	38,20 ± 8,90	25
Concentração plasmática de progesterona	21,33 ± 15,93	27,49 ± 10,01	54
Concentração plasmática de estradiol	0,13 ± 0,06	0,13 ± 0,08	47

* Médias com letras minúsculas diferentes na linha diferem estatisticamente entre si (P<0,05).

Tabela 2. Média, desvio padrão e resultado da análise estatística das variáveis estudadas por grupo aos 60 dias.

Variáveis	Grupo Hipertireóide (n= 9)	Grupo Controle (n= 9)	CV%
Concentração plasmática de tiroxina livre (ng/dl)	3,45 ± 1,28 ^a	1,64 ± 0,40 ^b	25
Peso do ovário (mg)	31,63 ± 4,2	27,92 ± 3,18	18
Número total de folículos não atrésicos	12,29 ± 2,85 ^a	9,52 ± 2,18 ^b	23
Número de folículos primários	1,23 ± 0,86	0,89 ± 0,29	49
Número de folículos secundários	6,30 ± 1,76 ^a	4,97 ± 1,14 ^b	26
Número de folículos terciários	4,50 ± 0,95 ^a	3,28 ± 1,29 ^b	33
Número de folículos pré-ovulatórios	0,26 ± 0,21	0,39 ± 0,50	127
Número de corpos lúteos	7,30 ± 3,43 ^a	4,64 ± 2,01 ^b	43
Porcentagem de folículos atrésicos	27,01 ± 8,85	26,24 ± 6,42	25
Concentração plasmática de progesterona	25,14 ± 13,99	30,08 ± 9,49	54
Concentração plasmática de estradiol	0,12 ± 0,05	0,12 ± 0,06	47

* Médias com letras minúsculas diferentes na linha diferem estatisticamente entre si (P<0,05).

Tabela 3. Média, desvio padrão e resultado da análise estatística das variáveis estudadas por grupo aos 90 dias.

Variáveis	Grupo Hipertireóideo (n= 9)	Grupo Controle (n= 9)	CV%
Concentração plasmática de tiroxina livre (ng/dl)	4,18 ± 0,93 ^a	1,71 ± 0,39 ^b	25
Peso do ovário (mg)	39,55 ± 6,39 ^a	28,46 ± 5,43 ^b	18
Número total de folículos não atrésicos	9,29 ± 1,19 ^a	6,92 ± 1,44 ^b	23
Número de folículos primários	0,97 ± 0,62	0,79 ± 0,37	49
Número de folículos secundários	4,27 ± 1,13	3,66 ± 0,75	26
Número de folículos terciários	3,71 ± 0,87 ^a	2,28 ± 0,68 ^b	33
Número de folículos pré-ovulatórios	0,34 ± 0,40	0,20 ± 0,29	127
Número de corpos lúteos	6,16 ± 3,02	4,73 ± 2,35	43
Porcentagem de folículos atrésicos	22,42 ± 5,18 ^a	32,13 ± 10,35 ^b	5
Concentração plasmática de progesterona	18,16 ± 12,34	21,08 ± 13,84	54
Concentração plasmática de estradiol	0,13 ± 0,08	0,12 ± 0,05	47

* Médias com letras minúsculas diferentes na linha diferem estatisticamente entre si (P<0,05).

O número de folículos secundários, como dito anteriormente, foi significativamente maior somente aos 60 dias (tabela 2), enquanto o de folículos terciários o foi tanto aos 60 quanto aos 90 dias (tabelas 2 e 3). Isto demonstra um estímulo do crescimento folicular pelo hipertireoidismo, provavelmente pelo efeito dos hormônios tireoidianos na diferenciação das células foliculares, tal como aventado por outros autores (8). Assim, a diferenciação celular, que é essencial à esteroidogênese e conseqüente formação do antro folicular, característica dos folículos terciários (18), parece ser altamente influenciada pelos hormônios tireoidianos.

Interessante é que o número de folículos pré-ovulatórios não foi diferente, mas o número maior de corpos lúteos nas ratas com hipertireoidismo (tabela 2) e a correlação positiva e significativa entre T4-livre e número de corpos lúteos (tabela 4) sugerem ter havido aumento do número de folículos aptos a ovular. Dado o curto período de estro da rata (13), é possível que a visualização do estágio de folículos pré-ovulatórios tenha sido comprometida.

Assim, os indícios indiretos são de aumento da taxa de ovulação no hipertireoidismo, o que está de acordo com os resultados obtidos por outros autores que relatam ter ocorrido aumento significativo do número de fetos, em ratas gestantes induzidas ao hipertireoidismo (19). Além disso, contrastando com os resultados ora obtidos, no hipotireoidismo os ovários de ratas pré-púberes apresentam menor população de folículos antrais, ausência de ovulação e de corpos lúteos e maior número de folículos atrésicos (8).

Morfologicamente, os ovários das ratas do grupo tratado, aos 90 dias, apresentaram células intersticiais hipertrofiadas com núcleo redondo e cromatina frouxa e citoplasma vacuolizado, provavelmente uma resposta ao aumento da foliculogênese, já que um

número maior de folículos não atrésicos e de corpos lúteos requer maior volume de estroma de suporte.

Algumas pesquisas *in vitro* demonstram que a ação isolada da tiroxina não estimula a diferenciação das células da granulosa (9) e a esteroidogênese (20), sendo necessária a associação com FSH. No entanto, a presença de receptores para T3 nas células da granulosa (10) e a proliferação dessas células *in vitro* em resposta à T3 (21) sugerem uma ação direta desse hormônio sobre a função ovariana. Alguns autores, ao observarem menor peso e menor quantidade de receptores para FSH e LH nos ovários de ratas com hipertireoidismo, sugerem que a hiperfunção tireoidiana induz a menor responsividade do ovário às gonadotropinas, exatamente o contrário dos resultados obtidos *in vitro* (22). Nestes, a conclusão foi de que o aumento da função ovariana é promovido pelo sinergismo dos hormônios da tireóide com o FSH.

Pelos resultados obtidos no presente trabalho, não é fácil inferir o real mecanismo pelo qual ocorreu aumento da foliculogênese, mas a correlação positiva e significativa das concentrações plasmáticas de T4-livre e número total de folículos não atrésicos e de folículos primários, secundários e terciários (tabela 4) aponta para a participação direta dos hormônios tireoidianos no desenvolvimento folicular.

Apesar da função ovariana ter aumentado a partir dos 60 dias, claramente demonstrada pelo aumento do número de folículos não atrésicos (viáveis), o peso dos ovários não refletiu este aumento, provavelmente em decorrência do percentual de folículos atrésicos ter sido semelhante ao do grupo controle (tabela 2). Já aos 90 dias, quando também era maior o número de folículos não atrésicos, mas menor a porcentagem de folículos atrésicos, o peso dos ovários foi maior (tabela 3). No entanto, o aumento do número de folículos não atrésicos parece não guardar relação com a

Tabela 4. Coeficientes de correlação para os contrastes entre as variáveis estudadas.

VARIÁVEIS	T4 Livre
Peso do ovário	0,49**
Número total de folículos não atrésicos	0,42**
Número de folículos primários	0,31**
Número de folículos secundários	0,28*
Número de folículos terciários	0,36**
Número de folículos pré-ovulatórios	0,07
Número de corpos lúteos	0,27*
Porcentagem de folículos atrésicos	-0,24
Níveis plasmáticos de progesterona	-0,18
Níveis plasmáticos de estradiol	0,01

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$;

diminuição da atresia folicular, visto que a foliculogênese estava mais evidente aos 60 dias, momento em que ainda não havia diminuição significativa da porcentagem de folículos atrésicos (tabela 2). Além disso, não houve correlação significativa entre níveis de T4-livre e porcentagem de folículos atrésicos (tabela 4), indicando que a diminuição da atresia folicular não é um evento mediado pela ação direta dos hormônios tireoidianos. Entretanto, mais estudos são necessários a fim de comprovar essa hipótese e de elucidar os mecanismos pelos quais a atresia folicular se reduz no hipertireoidismo.

Os sinais clínicos que retratam a função ovariana na mulher hipertireóideia são variados, indo desde ciclos ovulatórios até ciclos anovulatórios com amenorréia (3). Não se conhece, ainda, a razão pela qual, na mulher, pode ocorrer infertilidade no hipertireoidismo e o porquê da variação de sinais clínicos. Talvez, estejam relacionados com o tempo de duração do hipertireoidismo. Assim, seria importante verificar se o aumento da foliculogênese, observado nas ratas com hipertireoidismo, levaria à exaustão da reserva gonádica e da função ovariana no hipertireoidismo crônico e verificar se esse fato poderia contribuir para a infertilidade e mesmo para a menopausa precoce em mulheres com hipertireoidismo, já que o número de folículos primordiais aptos a crescer e ovular, é limitado (23).

Apesar de não ter ocorrido diferença estatisticamente significativa nas concentrações plasmáticas de estradiol e progesterona entre os grupos, devido à variação individual dentro do mesmo grupo, os níveis de progesterona, no grupo hipertireóideio, foram menores ao longo de todo o período experimental. Tem sido postulado que o hipotireoidismo afeta o metabolismo dos esteróides no corpo lúteo, prolongando a fase lútea (24). Em ratas, a fase lútea é curta porque a progesterona é rapidamente convertida em

20 α hidroxiprogesterona, pela ação da desidrogenase específica (13). De forma contrária, no hipertireoidismo, há encurtamento da fase lútea, provavelmente pelo aumento na síntese da 20 α hidroxiprogesterona desidrogenase (24). Caso isso seja verdade, a diminuição dos níveis de progesterona pode ser decorrência do aumento de sua conversão em 20 α hidroxiprogesterona, encurtando a fase lútea. Cabe ressaltar que em outras espécies e na mulher, experimentos *in vitro* demonstram que a T3 estimula a síntese de progesterona pelo corpo lúteo (25,26).

Como não foi realizada a sincronização do cio no início do experimento, cada grupo continha ratas em diferentes fases do ciclo estral. É provável que as respostas do ovário das ratas ao hipertireoidismo, no que concerne ao número de folículos e de corpos lúteos, pudessem ter sido ainda mais significativas caso tivesse sido adotado esse procedimento. No entanto, o aumento da função ovariana com maior número de folículos viáveis não está consubstanciado pelos níveis de estrógeno e de progesterona, que não apresentaram diferenças entre grupos. Isso pode ter ocorrido pela variação nas concentrações desses hormônios entre ratas do mesmo grupo, já que o CV das dosagens plasmáticas de estradiol e progesterona está acima do ideal. Além do mais, o aumento da foliculogênese não necessariamente implica em elevação das concentrações periféricas dos hormônios sexuais, já que o metabolismo periférico desses hormônios também poderia estar afetado. Isso parece de fato ocorrer já que não há correlação entre o número das estruturas ovarianas quantificadas e os valores do estradiol ou da progesterona (dados não demonstrados). Embora a sincronização do cio pudesse amenizar essas variações hormonais dentro do grupo, diminuindo o desvio padrão, sabe-se que as disfunções da tireóide também podem alterar a ciclici-

dade, prolongando ou encurtando as fases do ciclo estral (24). Sendo assim, posteriormente poderia haver perda da ciclicidade induzida pelo hipertireoidismo, resultando em variações nas concentrações dos hormônios sexuais dentro do grupo de animais tratados. Assim, o ideal seria avaliar as concentrações dos hormônios sexuais em todas as fases do ciclo estral, observando o efeito do hipertireoidismo sobre os valores plasmáticos de estrógeno e de progesterona nas fases de proestro, estro, metaestro e diestro, a fim de verificar se os resultados dos estudos *in vitro* que demonstram haver estímulo da esteroidogênese folicular pelos hormônios da tireóide (25,26) são compatíveis com os efeitos do hipertireoidismo *in vivo*.

Conclui-se que o hipertireoidismo estimula a foliculogênese ovariana em ratas sexualmente maduras e diminui a atresia folicular.

AGRADECIMENTO

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

1. Thomas R, Reid RL. Thyroid disease and reproductive dysfunction: a review. **Obstet Gynecol** 1987;70:789-98.
2. Koutras DA. Disturbances of menstruation in thyroid disease. **Ann NY Acad Sci** 1997;17:280-4.
3. Larsen PR, Ingbar SH. The thyroid gland. In: Wilson JD, Foster DW, Kronenberg HM, eds. **Williams Textbook of Endocrinology**. Philadelphia: WB Saunders, 1998:357-487.
4. Becks GP, Burrow GN. Diagnosis and treatment of thyroid disease during pregnancy. In: Degroot LJ, ed. **Endocrinology**. London: WB Saunders, 1995:799-820.
5. Ghosh S, Kabir SN, Pakrashi A, Chatterjee S, Chakravarty B. Subclinical hypothyroidism: a determinant of polycystic ovary syndrome. **Horm Res** 1993;39:61-6.
6. Fitko R, Kucharski J, Szlezynghier B. The importance of thyroid hormone in experimental ovarian cyst formation in gilts. **Anim Reprod Sci** 1995;39:159-168.
7. Chen CH, Tiu CM, Chou YH, Chen WYK, Hwang B, Niu DM. Congenital hypothyroidism with multiple ovarian cysts. **Eur J Pediatr** 1999;158:851-2.
8. Dijkstra G, Rooij DG, Jong FH, Van Der Hurk R. Effect of hypothyroidism on ovarian follicular development, granulosa cell proliferation and peripheral hormone levels in the prepubertal rat. **Eur J Endocrinol** 1996;134:649-54.
9. Maruo T, Katayama K, Barnea ER, Mochizuki M. A role for thyroid hormone in the induction of ovulation and corpus luteum function. **Horm Res** 1992;37:12-8.
10. Wakim AN, Polizotto SL, Buffo MJ, Mrrero MA, Burholt DR. Thyroid hormones in human follicular fluid and thyroid hormone receptors in human granulosa cells. **Fertil Steril** 1993;59:1187-90.
11. Wakim AN, Paljug WR, Jasnosz KM, Alhakim N, Brown AB, Burholt DR. Thyroid hormone receptor messenger ribonucleic acid in human granulosa and ovarian stromal cells. **Fertil Steril** 1994;62:531-4.
12. Allain TJ, Thomas MR, McGregor AM, Salisbury JR. A histomorphometric study of bone changes in thyroid dysfunction in rats. **Bone** 1995;16:505-9.
13. Freeman ME. The neuroendocrine control of the ovarian cycle of the rat. In: Knobil E, Neill JD, eds. **The Physiology of Reproduction**. New York: Raven Press, 1994:613-58.
14. Sampaio IBM. **Estatística Aplicada à Experimentação Animal**. Belo Horizonte: FEP/MVZ, 1998.
15. Maruo T, Hiramatsu S, Otani T, Hayashi M, Mochizuki M. Increase in the expression of thyroid hormone receptors in porcine granulosa cells early in follicular maturation. **Acta Endocrinol** 1992;127:152-60.
16. Salha O, Abusheika NA, Sharma V. Dynamics of human follicular growth and in vitro oocyte maturation. **Hum Reprod** 1998;4:816-32.
17. Dissen GA, Dees WL, Ojeda SR. Neural and neurotrophic control of ovarian development. In: Adashi EY, Leung PCK, eds. **The Ovary**. New York: Raven Press, 1993:1-17.
18. Guyton AG, Hall JE. **Textbook of Medical Physiology**. 9th ed. Philadelphia: WB Saunders, 1996.
19. Rosato RR, Gimenez MS, Jahn GA. Effects of chronic thyroid hormone administration on pregnancy, lactogenesis and lactation in the rat. **Acta Endocrinol** 1992;127:547-54.
20. Gregoraszczuk EL, 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. **Reprod Fertil Dev** 1996;8:961-7.
21. Goldman S, Dirnfeld M, Abramovici H, Kraiem Z. Triiodothyronine (T3) modulates hCG-regulated progesterone secretion, cAMP accumulation and DNA content in cultured human luteinized granulosa cells. **Mol Cell Endocrinol** 1993;96:125-31.
22. Fitko R, Szlezynghier B. Role of thyroid hormone in controlling the concentration of luteinizing hormone/human chorionic gonadotropin receptors in rat ovaries. **Eur J Endocrinol** 1994;130:378-80.
23. Eppig JJ. Regulation of mammalian oocyte maturation. In: Adashi EY, Leung PCK, eds. **The Ovary**. New York: Raven Press, 1993:185-208.
24. Mattheij JAM, Swarts JJM, Lokerse P, Van Kampen JT, Van Der Heide D. Effect of hypothyroidism on the pituitary-gonadal axis in the adult female rat. **J Endocrinol** 1995;146:87-94.

25. Datta M, Roy P, Banerjee J, Bhattacharya S. Thyroid hormone stimulates progesterone release from human luteal cells by generating a proteinaceous factor. **J Endocrinol** **1998**;158:319-25.
26. Gregoraszcuk EL, Kolodziejczyk J, Rzyasa J. Triiodothyronine stimulates 3beta-hydroxysteroid dehydrogenase activity in the porcine corpus luteum. **Endocr Regul** **1999**;33:155-60.

Endereço para correspondência:

Rogéria Serakides
Setor de Patologia do Departamento de
Clínica e Cirurgia Veterinárias da UFMG
Av. Antônio Carlos 6627 / Caixa Postal 567
31.270-901 Belo Horizonte, MG
Fax: (031) 3499-2230
e.mail: serakide@dedalus.lcc.ufmg.br