

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Veterinária



Dissertação

**Função tireoidiana de potros nascidos de éguas com placentite ascendente
induzida experimentalmente**

Vitória Müller

Pelotas, 2018

Vitória Müller

**Função tireoidiana de potros nascidos de éguas com placentite ascendente
induzida experimentalmente**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área de concentração: Sanidade Animal).

Orientador: Carlos Eduardo Wayne Nogueira

Pelotas, 2018

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

M111f Müller, Vitória

Função tireoidiana de potros nascidos de éguas com
placentite ascendente induzida experimentalmente /
Vitória Müller ; Carlos Eduardo Wayne Nogueira, orientador.
— Pelotas, 2018.
62 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação
em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade
Federal de Pelotas, 2018.

1. Tri-iodotironina. 2. Tiroxina. 3. Cortisol. 4. Potros
doentes. I. Nogueira, Carlos Eduardo Wayne, orient. II.
Título.

CDD : 636.1

Vitória Müller

Função tireoidiana de potros nascidos de éguas com placentite ascendente induzida experimentalmente

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 23/02/2018

Banca examinadora:

Prof. Dr. Carlos Eduardo Wayne Nogueira (Orientador)
Doutor em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Santa Maria

Prof. Dra. Cristina Gevehr Fernandes
Doutor em Patologia pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

Prof. Dr. Eduardo Schmitt
Doutor em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal de Pelotas

Dra. Josiane de Oliveira Feijó
Doutora em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Pelotas

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus, pela saúde e perseverança concedidas.

Ao meu avô Arno Theodoro Müller, por ter sido o meu maior incentivador. Estarás sempre em meu coração.

Ao meu pai Marcos, pelo amor, suporte, educação e por ser meu maior exemplo. À minha mãe Jussara, pelo amor, força, orações e por acreditar em mim. Aos meus irmãos, Beno, Juliana e Maria Augusta, que me acompanharam em tantas etapas da vida e que hoje, mesmo longe, não estão ausentes.

Ao meu orientador Carlos Eduardo Wayne Nogueira, pelo exemplo, paciência, conselhos, conhecimentos compartilhados e oportunidades concedidas durante o período de graduação e mestrado. Agradeço também à professora Bruna da Rosa Curcio, pela sua dedicação e disponibilidade, e a todos os professores que foram fundamentais na minha formação.

Aos colegas do ClinEq durante esses oito anos, pelos ensinamentos, momentos compartilhados e por terem auxiliado na realização deste trabalho. Agradeço em especial às amigas Alice Correa Santos, Bruna Suñé dos Santos Moraes e Mariana Andrade Mousquer pela amizade, respeito, companheirismo e exemplo.

A todos que de alguma forma colaboraram para o meu crescimento profissional e pessoal.

Muito obrigada a todos vocês!

***“O futuro é o passado em preparação.”
Pierre Dac***

Resumo

MÜLLER, Vitória. **Função tireoidiana de potros nascidos de éguas com placentite ascendente induzida experimentalmente**. 2018. 62f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2018.

O artigo 1 teve como objetivo abordar as principais alterações clínicas relacionadas à glândula tireoide em neonatos equinos. Foram abordadas alterações devido à doença tireoidiana primária, como o hipotireoidismo congênito e a síndrome da hiperplasia da glândula tireoide e deformidades musculoesqueléticas (TH-MSD), e secundárias a outras doenças, como a síndrome da doença não tireoidiana (NTIS), além dos métodos diagnósticos e perspectivas de tratamento. O artigo 2 teve como objetivo determinar as concentrações de cortisol e hormônios tireoidianos (tri-iodotironina total: T_3 ; tri-iodotironina livre: fT_3 ; tiroxina total: T_4 ; tiroxina livre: fT_4) em potros nascidos de éguas com placentite ascendente induzida experimentalmente e sua relação com a mortalidade. Nossas hipóteses eram que (i) potros doentes nascidos de éguas com placentite apresentam menores concentrações de cortisol e de hormônios tireoidianos no momento do nascimento, (ii) estas alterações endócrinas estão associadas a mortalidade e (iii) a mensuração de hormônios tireoidianos nas primeiras horas de vida pode ser utilizada como ferramenta auxiliar para determinar o prognóstico neonatal. Vinte e nove éguas gestantes e seus potros foram utilizados neste estudo. Aos 300 dias de gestação 24 éguas foram submetidas à indução experimental de placentite ascendente através da inoculação intracervical de *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*, enquanto que 5 éguas mantiveram gestações saudáveis e foram classificadas como controle. Todas as éguas submetidas à indução de placentite foram tratadas a partir das 48 horas após a inoculação bacteriana. Os potros nascidos das éguas com placentite foram classificados como Baixo risco (n=14) ou Doentes (n=10), baseado no comportamento adaptativo, parâmetros clínicos e hematológicos dos potros durante a primeira semana de vida, enquanto que os potros nascidos de éguas com gestações saudáveis foram classificados como Controles (n=5). Os potros também foram classificados como Nascidos a termo (n=13), Dismaturos (n=7) e Prematuros (n=9), de acordo com o tempo de gestação e a presença de sinais de imaturidade. A taxa de sobrevivência foi registrada até os 60 dias de vida. Seis (6/10) potros do grupo Doentes não sobreviveram, enquanto que todos os potros dos grupos Baixo risco e Controles sobreviveram. As concentrações de cortisol e hormônios tireoidianos foram mensuradas imediatamente após o nascimento (0 h), e nas 12, 24, 48 e 168 h de vida. Potros Doentes apresentaram concentrações inferiores de cortisol quando comparados aos potros Controles e de Baixo risco no momento 0 h. As concentrações séricas de T_3 e fT_3 foram inferiores em potros Doentes em relação aos potros Controles e de Baixo risco entre as 0 e 48 h. Já as concentrações de fT_4 foram inferiores em potros Doentes e de Baixo risco quando comparados aos

Controles no momento 0 h, porém, entre as 12 e 168 h de vida, potros Doentes apresentaram concentrações inferiores aos demais grupos. Os potros classificados como Prematuros apresentaram concentrações inferiores de cortisol (0 h), T_3 (0 a 48 h), $F T_3$ (12 a 48 h) e $F T_4$ (0 a 168 h) quando comparados aos potros Nascidos a termo e Dismaturos. Não foram detectadas diferenças nas concentrações de cortisol e hormônios tireoidianos entre potros sobreviventes e não sobreviventes. Como conclusão, potros doentes nascidos de éguas com placentite ascendente induzida experimentalmente apresentaram concentrações inferiores de cortisol no momento do parto e de T_3 , $F T_3$ e $F T_4$ que persistiram até 48 a 168 h de vida, o que é compatível com a presença da síndrome da doença não tireoidiana (NTIS). As concentrações de cortisol e hormônios tireoidianos não foram associadas à mortalidade neste estudo e, portanto, não apresentaram valor prognóstico nas primeiras horas de vida.

Palavras-chave: tri-iodotironina, tiroxina, cortisol, potros doentes

Abstract

MÜLLER, Vitória. **Thyroid function in foals born from mares with experimentally induced ascending placentitis**. 2018. 62f. Dissertation (Master degree in Sciences) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2018.

The aim of the manuscript 1 was to address the main clinical alterations related to the thyroid gland that affect equine neonates. There were addressed alterations in the thyroid function that occur either due to primary thyroid disease, such as congenital hypothyroidism and thyroid hyperplasia and musculoskeletal deformities (TH-MSD), or due to secondary diseases, such as nonthyroidal illness syndrome (NTIS), besides the diagnostic methods and treatment perspectives. The aim of the manuscript 2 was to determine cortisol and thyroid hormone concentrations (total thyroxine: T₄; free thyroxine: fT₄; total tri-iodothyronine: T₃; and free tri-iodothyronine: fT₃) in foals born from mares with experimentally-induced ascending placentitis and to determine their association with survival. We hypothesized that (i) foals born to mares with experimentally-induced ascending placentitis will have lower cortisol and thyroid hormone concentrations at birth, (ii) that these endocrine alterations will be associated with mortality, and (iii) that cortisol and thyroid hormone concentrations in the first hours of life will have prognostic value for survival. Twenty-nine pregnant mares and their foals were enrolled in this study. At 300 days of gestation, mares were assigned to a healthy control group (n=5) or were submitted to experimental induction of ascending placentitis (n=24) through intracervical inoculation of *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*. Medical treatment was initiated 48 h post bacterial inoculation. Foals born to inoculated mares were assigned to Low-risk (n=14) or Sick (n=10) groups based on adaptive behavior, clinical and hematological findings during the first week of life. Foals were also classified as Term (n=13), Dismature (n=7) or Premature (n=9) according to gestation length and presence of signs of immaturity. Survival rate was recorded until day 60 post-foaling. Six (6/10) foals from the Sick group did not survive, while all foals from Low-risk and Control groups survived. Cortisol and thyroid hormone concentrations were measured immediately after birth (0 h) and at 12, 24, 48 and 168 h of life. Serum cortisol concentrations were lower in Sick compared to Low-risk and Control foals at 0 h. Serum T₃ and fT₃ concentrations were lower in Sick compared to Control and Low-risk foals from 0h to 48 h. Serum fT₄ concentrations were lower in Sick and Low-risk than in Control foals at 0 h, while Sick foals had lower concentrations than Control and Low-risk foals from 12 h to 168 h. Premature foals had lower serum cortisol (0 h), T₃ (0 h to 48 h), fT₃ (12 h to 48 h), and fT₄ (0 h to 168 h) concentrations compared to Term and Dismature foals. No differences were found in cortisol and thyroid hormone concentrations between sick survivor and sick non-survivor foals. In conclusion, sick foals delivered by mares with experimentally-induced ascending placentitis had decreased concentrations of T₃, fT₃ and fT₄ that persist for 48 to 168

h, which is consistent with euthyroid sick syndrome or nonthyroidal illness syndrome (NTIS). Cortisol and thyroid hormone concentrations were not associated with foal mortality in this study. Cortisol and thyroid hormones did not have prognostic value in the first hours of life.

Keywords: tri-iodothyronine, thyroxine, cortisol, critical ill foals

Lista de Figuras

Artigo 1

- Figura 1 Ilustração do eixo hipotálamo-pituitária-tireoide demonstrando a liberação do hormônio liberador da tireotrofina (TRH) pelo hipotálamo, que por sua vez estimula a liberação do hormônio estimulador da tireoide (TSH) pela pituitária, resultando na secreção de triiodotironina (T₃) e tiroxina (T₄) pela glândula tireoide..... 20

Artigo 2

- Figura 1 Cortisol and thyroid hormone concentrations in foals assigned to Control (n=5), Low-risk (n=14) and Sick (n=10) group. Statistical difference (p<0.05) among groups is represented by different Greek characters at each time point. T₃: total tri-iodothyronine; _FT₃: free tri-iodothyronine; T₄: total thyroxine; _FT₄: free thyroxine..... 50
- Figura 2 Cortisol and thyroid hormone concentrations in Term (n=13), Dysmature (n=7) and Premature (n=9) foals. Statistical difference (p<0.05) among groups is represented by different Greek characters at each time point. T₃: total tri-iodothyronine; _FT₃: free tri-iodothyronine; T₄: total thyroxine; _FT₄: free thyroxine..... 51

Lista de Tabelas

Artigo 1

Tabela 1	Valores de referência de hormônios tireoidianos para neonatos equinos.....	27
----------	--	----

Artigo 2

Tabela 1	Technique, catalog number, standard range, sensitivity and specificity of the assays used to measure hormone concentrations in foals.....	52
Tabela 2	Cortisol and thyroid hormone concentrations in survivor (n=4) and non-survivor (n=6) Sick foals.....	53

Lista de Abreviaturas e Siglas

µg	Micrograma
ANOVA	Análise de variância
CTUP	Junção útero-placentária
D ₁	Deiodinase 1
D ₂	Deiodinase 2
DIT	Diiidotirosina
dL	Decilitros
DPM	Desvio padrão da média
ELISA	Ensaio de imunoabsorção enzimática
EPM	Erro padrão da média
fT ₃	Tri-iodotironina livre
fT ₄	Tiroxina livre
g	Gramas
h	Horas
HPTA	Eixo hipotálamo-pituitária-tireoide
HT	Hormônios da tireoide
IC	Intervalo de confiança
IFN-γ	Interferon gama
IgG	Imunoglobulina G
IL	Interleucina

IM	Intramuscular
IV	Intravenoso
Kg	Quilograma
L	Litros
mg	Miligrama
MIT	Monoiodotirosina
mL	Mililitro
mRNA	Ácido ribonucleico mensageiro
ng	Nanograma
nmol	Nanomol
NTIS	Síndrome da doença não tireoidiana
pg	Picograma
pmol	Picomol
RIA	Radioimunoensaio
SEM	Erro padrão da média
T ₃	Tri-iodotironina
T ₄	Tiroxina
TH-MSD	Síndrome da hiperplasia da glândula tireoide e deformidades musculoesqueléticas
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
TRH	Hormônio liberador da tireotrofina
TSH	Hormônio estimulador da tireoide

Lista de Símbolos

°C	Grau Celsius
-	Menos
%	Percentual
*	Asterisco
<	Menor
=	Igual
>	Maior
±	Mais e menos
×	Vezez
≥	Maior ou igual
®	Registrado
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama

Sumário

1 Introdução.....	15
2 Objetivos.....	16
3 Artigos.....	17
3.1 Artigo 1.....	17
3.1.1 Introdução.....	18
3.1.2 Revisão Bibliográfica.....	18
3.1.3 Conclusões.....	29
3.2 Artigo 2.....	35
3.2.1 Introdução.....	38
3.2.2 Material e métodos.....	39
3.2.3 Resultados.....	42
3.2.4 Discussão.....	43
3.2.5 Conclusão.....	45
4 Considerações Finais.....	54
Referências.....	55
Anexos.....	62
Anexo I - Documento da Comissão de Ética e Experimentação Animal...	63

1 Introdução

A ascensão de algumas raças de equinos no cenário brasileiro traz consigo a valorização dos animais e o aquecimento do mercado ligado à equinocultura. Devido aos investimentos com genitores, coberturas e biotécnicas aplicadas à reprodução, o nascimento de potros debilitados e comprometidos representam prejuízos para os criadores. Muitos dos problemas que resultam no nascimento de potros doentes iniciam durante a gestação, devido a desordens maternas ou placentárias.

O ambiente intrauterino interfere diretamente no crescimento e desenvolvimento pós-natal no neonato equino (MORESSEY, 2005). Alterações placentárias, como a placentite bacteriana, cursam com a redução do aporte de nutrientes e oxigênio para o feto (HONG et al., 1993). Como consequência, o potro pode apresentar alterações como imaturidade, retardo no desenvolvimento e sepse (LESTER, 2005; SANCHEZ, 2007). Portanto, diversos estudos têm sido realizados visando o diagnóstico precoce e tratamento de alterações gestacionais em equinos, assim como a avaliação do neonato nas primeiras horas de vida buscando ferramentas que auxiliem no diagnóstico, além de novas abordagens clínicas, terapêuticas e marcadores de prognóstico neonatal.

Alterações endócrinas podem influenciar no desenvolvimento e progressão da doença em neonatos equinos, além de ter implicações no diagnóstico e prognóstico (DEMBEK et al, 2017). O desequilíbrio nos níveis de hormônios tireoidianos secundário à doença tem sido amplamente estudado na medicina humana, principalmente para determinar suas causas e consequências. Nos últimos anos, pesquisas sobre o tema têm sido realizadas em equinos adultos e neonatos. Contudo, algumas dúvidas permanecem à cerca do tema.

2 Objetivos

2.1 Objetivo geral

- Abordar as principais alterações clínicas relacionadas à glândula tireoide em neonatos equinos e avaliar a concentração de hormônios tireoidianos em potros nascidos de éguas com placentite ascendente induzida experimentalmente e sua relação com a mortalidade.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a concentração de cortisol e hormônios tireoidianos (triiodotironina total, triiodotironina livre, tiroxina total e tiroxina livre) em potros classificados como doentes e de baixo risco;

- Avaliar a concentração de cortisol e hormônios tireoidianos (triiodotironina total, triiodotironina livre, tiroxina total e tiroxina livre) em potros classificados como prematuros, dismaturos e nascidos a termo;

- Verificar a existência de correlação entre as concentrações de cortisol e de hormônios tireoidianos no momento do nascimento;

- Verificar se as concentrações de cortisol e hormônios tireoidianos estão relacionadas à viabilidade dos potros e se podem ser utilizadas como ferramenta para determinar o prognóstico neonatal.

3 Artigos

3.1 Artigo 1

Alterações na função tireoidiana de neonatos equinos

Vitória Müller, Natália Ribeiro Pinto, Carlos Eduardo Wayne Nogueira

Submetido à revista Científica Rural

ALTERAÇÕES NA FUNÇÃO TIREOIDIANA DE NEONATOS EQUINOS

RESUMO: A glândula tireoide é responsável pela síntese e secreção de hormônios tireoidianos, como a triiodotironina (T_3), triiodotironina reverso (T_3 reverso) e tiroxina (T_4). Em sua maioria, moléculas de T_3 e T_4 presentes na circulação sanguínea se encontram ligadas à proteínas. As frações hormonais que não estão ligadas à outras moléculas são denominadas frações livres e correspondem as porções biologicamente ativas. Em neonatos equinos, as concentrações adequadas de hormônios tireoidianos são essenciais para o crescimento e maturação de diferentes órgãos, além de exercer papel fundamental na manutenção da termogênese logo após o nascimento. Alterações na função tireoídiana podem ocorrer devido à doença tireoídiana primária, como o hipotireoidismo congênito e a síndrome da hiperplasia da glândula tireoide e deformidades musculoesqueléticas (TH-MSD), ou secundárias à outras doenças, como a síndrome da doença não tireoídiana (NTIS). A mensuração de hormônios tireoidianos e o teste de estimulação da glândula tireoide podem auxiliar no diagnóstico destas alterações. A suplementação hormonal de neonatos equinos pode ser benéfica, contudo, alguns danos causados pelos níveis reduzidos de hormônios tireoidianos podem ser irreversíveis.

Palavras-chave: potros, tireoide, tiroxina, triiodotironina.

ALTERATIONS IN THE THYROID FUNCTION OF EQUINE NEONATES

ABSTRACT: The thyroid gland is responsible for the synthesis and secretion of thyroid hormones, such as triiodothyronine (T_3), reverse triiodothyronine (reverse T_3) and thyroxine (T_4). Molecules of T_3 and T_4 present in the bloodstream are usually bound to proteins. Hormonal fractions that are not bound to other molecules are known as free fractions and correspond to the hormone biologically active portion. Adequate concentrations of thyroid hormone are essential to foals' growth and organ maturation. Besides, these hormones play a key role in the maintenance of thermogenesis immediately after birth. Alterations in the thyroid function can occur either due to primary thyroid disease, such as congenital hypothyroidism and Thyroid Hyperplasia and Musculoskeletal Deformities (TH-MSD), or due to secondary

diseases, such as Nonthyroidal Illness Syndrome (NTIS). The measurement of thyroid hormones and the thyrotropin-releasing hormone (TRH) stimulation test may help in the diagnosis of thyroid dysfunctions. Hormonal supplementation may benefit equine neonates with low thyroid hormone concentrations. However, some damages caused by reduced levels of these hormones may not be reversible.

Keywords: foals, thyroid, thyroxine, triiodothyronine.

INTRODUÇÃO

Os hormônios tireoidianos possuem importantes funções na espécie equina, assim como em outras espécies. Em indivíduos adultos as principais funções destes hormônios estão relacionadas ao consumo de oxigênio, síntese e catabolismo proteico, regulação do metabolismo lipídico e produção de calor. No feto e neonato equino sabe-se que os hormônios tireoidianos são fundamentais na maturação orgânica de diferentes sistemas, como o sistema nervoso, musculoesquelético e respiratório. Além disso, estes hormônios exercem papel fundamental na adaptação extrauterina dos potros pela sua atuação na produção de calor e manutenção da temperatura.

Devido à importância dos hormônios tireoidianos na adaptação extrauterina e desenvolvimento dos neonatos, torna-se necessário conhecer as alterações primárias e secundárias que cursam com a diminuição das concentrações de hormônios tireoidianos em neonatos equinos. Apesar da gama de informações sobre o tema em indivíduos adultos, existe uma carência de informações a respeito de alterações tireoidianas em potros. Portanto, esta revisão tem como objetivo abordar as alterações tireoidianas em neonatos equinos, seus métodos diagnósticos e tratamento.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Hormônios tireoidianos

A glândula tireoide do equino localiza-se dorsal a traqueia, entre o terceiro e sexto anel traqueal, próximo a laringe (Sojka et al., 1995). Histologicamente, a tireoide é composta por células epiteliais cuboides à colunares, arranjadas em folículos, os quais são responsáveis pela produção de hormônios tireoidianos (Breuhaus, 2011). Nestes folículos, moléculas de iodeto são oxidadas via peróxido

de hidrogênio resultando em iodo, o qual se liga a resíduos de tirosina formando a monoiodotirosina (MIT) e a diiodotirosina (DIT). Estas moléculas se combinam e formam os hormônios tireoidianos (TH), a tiroxina (T_4) e a tri-iodotironina (T_3), os quais permanecem ligados a proteínas e armazenados nos folículos da glândula tireoide (Barrett et al., 2010). A secreção dos hormônios da tireoide é estimulada pelo hormônio estimulador da tireoide (TSH), também denominado de tireotrofina, o qual é produzido pela glândula pituitária anterior. Por sua vez, o TSH tem sua secreção regulada pelo hormônio liberador da tireotrofina (TRH), o qual é produzido pelo hipotálamo (Figura 1) (Barrett et al., 2010). Portanto, a secreção satisfatória de hormônios tireoidianos depende não só da disponibilidade de iodo nos folículos da glândula tireoide, mas também das concentrações sanguíneas adequadas de TRH e TSH (Frank et al. 2002).

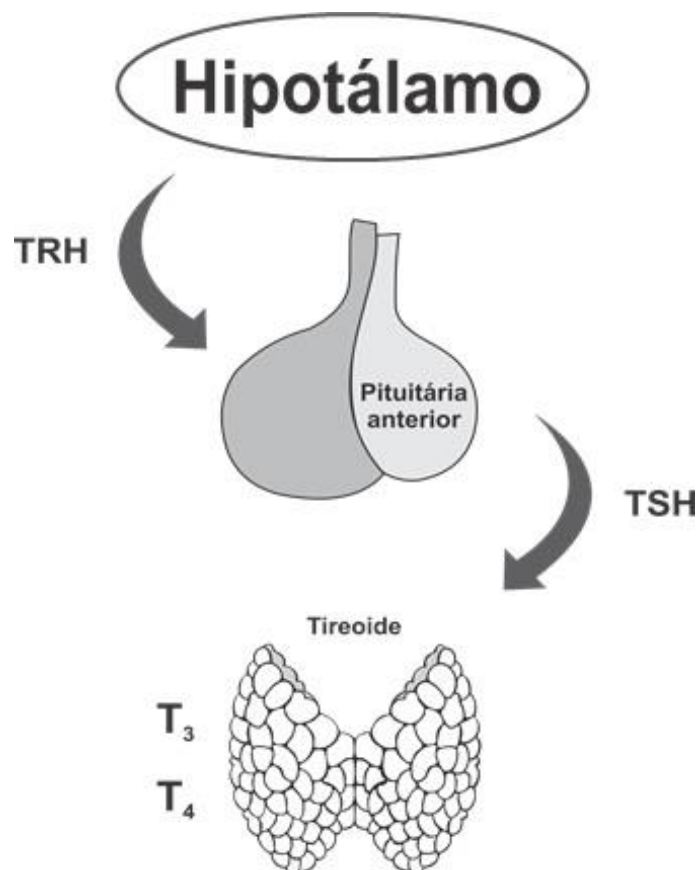


Figura 1. Ilustração do eixo hipotálamo-pituitária-tireoide demonstrando a liberação do hormônio liberador da tireotrofina (TRH) pelo hipotálamo, que por sua vez estimula a liberação do hormônio estimulador da tireoide (TSH) pela pituitária, resultando na secreção de triiodotironina (T_3) e tiroxina (T_4) pela glândula tireoide.

Em sua maioria, os hormônios tireoidianos presentes na corrente sanguínea estão ligados a proteínas, como a globulina de ligação do hormônio da tireoide, a transtirretina, a albumina e as apolipoproteínas (Kaptein et al., 1994). As frações hormonais que não se encontram ligadas a outras moléculas são denominadas frações livres e correspondem as porções biologicamente ativas (Irvine & Evans, 1975). As frações livres dos hormônios tireoidianos encontram-se em equilíbrio com os níveis intracelulares, os quais regulam o metabolismo. Além disso, a porção livre pode atravessar a membrana de capilares rapidamente, diferente das porções ligadas a proteínas (Irvine & Simpson-Morgan, 1974; Irvine & Evans, 1975). Portanto, a mensuração da fração livre dos hormônios tireoidianos é um indicador mais fidedigno das concentrações destes hormônios nos tecidos (Irvine & Evans, 1975). Apesar de não serem metabolicamente ativas, as frações hormonais que se encontram ligadas a proteínas podem se tornar acessíveis rapidamente quando necessárias e não são excretadas pelos rins, pois somente as frações livres de T_4 e T_3 são excretadas via renal (Barret et al., 2010).

O T_4 caracteriza-se por apresentar uma aderência maior as proteínas de ligação, resultando em uma remoção metabólica menor e uma meia-vida de aproximadamente sete dias, enquanto que a do T_3 é de apenas um dia. Além disso, o T_4 não se liga a receptores com a mesma intensidade que o T_3 . Em conjunto, estas propriedades fazem com que o T_3 tenha uma atividade metabólica maior do que o T_4 , apesar da glândula tireoide secretar concentrações consideravelmente maiores de T_4 (Breuhaus, 2011). Em sua maioria, o T_3 é derivado da monodeionização do anel externo da molécula de T_4 pela ação das enzimas deiodinases tipo 1 (D1) e tipo 2 (D2). Já a conversão de T_4 para T_3 reverso, o isômero inativo da tri-iodotironina, ocorre pela deionização de um átomo de iodo do anel interno da molécula de T_4 em órgãos como fígado, rins e nos músculos (Irvine, 1984).

As ações dos hormônios tireoidianos podem ser divididas em genômicas e não genômicas. Ações genômicas são mediadas por receptores que atuam como fatores de transcrição nuclear e controlam a expressão de genes que regulam a função celular. Já as ações não genômicas, como a divisão celular, a angiogênese, o transporte de proteínas e a migração celular, entre outras, podem iniciar através da atuação dos hormônios tireoidianos nos receptores presentes na membrana

plasmática, no citoplasma ou na mitocôndria da célula (Cheng et al., 2010; Breuhaus, 2011).

Funções dos hormônios tireoidianos no neonato equino

Neonatos de diferentes espécies possuem tecido adiposo marrom, o qual é oxidado e utilizado como principal fonte de energia nas primeiras horas de vida (Hull, 1966). O neonato equino possui pouca quantidade de tecido adiposo marrom, motivo pelo qual necessita de outros mecanismos de produção de calor para manter a termorregulação nas primeiras horas de vida. Em sua maioria, estes mecanismos são dependentes de concentrações adequadas de hormônios tireoidianos (Irvine, 1984).

Durante quase toda a gestação o T_4 é deionizado a T_3 reverso. Como consequência, os níveis de T_3 encontram-se consideravelmente mais baixos que os níveis de T_4 e T_3 reverso (Fisher et al., 1977; Irvine, 1984). Poucos dias antes do parto, os níveis de T_3 apresentam um pequeno aumento através da deionização de moléculas de T_4 e diminuição da remoção metabólica de T_3 pela placenta (Fraser & Liggins, 1989; Silver et al., 199; Fowden et al., 2012).

Para a termogênese, o T_3 é três vezes mais potente do que o T_4 e T_3 reverso. Devido a este fato, a exposição ao ambiente extrauterino no momento do nascimento faz com que o T_4 seja deionizado a T_3 biologicamente ativo, enquanto que a produção de T_3 reverso reduz consideravelmente. Como consequência, o plasma de potros recém-nascidos possui baixa concentração de T_3 reverso, enquanto que a concentração de T_3 aumenta nas primeiras 24-48 horas após o nascimento e, assim como a concentração de T_4 , diminui gradativamente durante as duas primeiras semanas de vida (Irvine & Evans, 1974; Irvine, 1984).

Além da ação termorregulatória, os hormônios da tireoide atuam diretamente no metabolismo e estimulação celular, sendo essenciais para o crescimento e maturação de diferentes órgãos (Irvine, 1984; Toribio, 2011). O T_3 , bem como o cortisol, tem ação fundamental na maturação do epitélio pulmonar e reabsorção de líquidos presentes nas vias aéreas inferiores no pós-parto imediato (Mashiach et al., 1978; Wallace et al., 1996). No sistema nervoso, os hormônios tireoidianos possuem importante função regulatória na diferenciação celular (Grave et al., 1973).

Em relação ao sistema musculoesquelético, os hormônios tireoidianos possuem ação importante no crescimento e desenvolvimento dos tecidos que o compõem. Deformidades musculoesqueléticas congênitas têm sido relatadas em neonatos equinos com quadros compatíveis com hipotireoidismo. Foram relatadas alterações como ruptura de tendões extensores, hiperflexão dos membros anteriores, prognatismo mandibular e ossificação incompleta, entre outras (McLaughlin & Doige, 1881; McLaughlin & Doige, 1982; Allen, 1995). Além disso, verificou-se baixo grau de coordenação e agilidade neuromuscular nos neonatos equinos que apresentaram níveis reduzidos de T_4 nas primeiras horas de vida (Irvine & Evans, 1977).

Disfunções da glândula tireoide no neonato equino

Hipotireoidismo congênito (bócio congênito)

Por conceito, o hipotireoidismo é definido como uma situação na qual o paciente apresenta concentrações plasmáticas de hormônios tireoidianos abaixo do necessário para sustentar a função celular normal (Irvine, 1984). O neonato equino diferencia-se de outras espécies por apresentar níveis de hormônios tireoidianos 10 a 20 vezes mais altos no momento do nascimento do que indivíduos adultos (Irvine & Evans, 1975). Potros que apresentam um período de hipotireoidismo durante a gestação ou no momento do nascimento podem manifestar sinais clínicos semanas após o parto, quando os níveis plasmáticos de T_3 e T_4 são fisiologicamente mais baixos, dificultando o diagnóstico desta alteração (Irvine, 1984).

São citadas como causas de hipotireoidismo congênito a ingestão de plantas bociogênicas, a deficiência e o excesso de iodo na dieta de éguas gestantes. Supostamente, o excesso de iodo é capaz de atravessar a barreira placentária e inibir a síntese de iodo na glândula tireoide fetal (Osame et al., 1994; Drew et al., 1975; Durham, 1995; Breuhaus 2011). Em equinos adultos, o excesso de iodo inibe temporariamente a formação de peróxido de hidrogênio, limitando a disponibilidade de iodo e impedindo a síntese de T_3 e T_4 . Como resultado, ocorre a hipertrofia da glândula tireoide. Contudo, em poucos dias a tireoide se adapta e reestabelece a síntese de hormônios tireoidianos. Já o feto equino não possui a capacidade de auto regulação na presença de concentrações anormais de iodo, resultando no hipotireoidismo congênito e, conseqüentemente, em alterações no seu

desenvolvimento orgânico (Frank et al., 2002). Além destas causas, Irvine (1984) sugere que eventos durante a gestação que cursem com alterações na permeabilidade da placenta podem causar perda de T_4 fetal, levando ao quadro de hipotireoidismo.

Como citado anteriormente, os hormônios sintetizados pela tireoide possuem papel fundamental no crescimento e maturação orgânica, portanto, potros com hipotireoidismo congênito apresentam anormalidades no seu desenvolvimento (Irvine, 1984; Toribio, 2011). Os sinais clínicos podem variar de leves a severos incluindo hiperplasia da glândula tireoide, fraqueza, reflexo posturais fracos ou ausentes, hipotermia, pelagem áspera e alterações musculoesqueléticas como hiperflexão dos membros anteriores, ruptura de tendões extensores e ossificação incompleta (Breuhaus, 2011). Em um estudo realizado por McLaughlin & Doige (1982), a tireoidectomia de potros no momento do nascimento resultou na redução da taxa de ossificação durante o primeiro mês de vida, principalmente no segundo e quarto osso carpiano (McLaughlin & Doige, 1982). Já no estudo realizado por Lowe et al. (1974), potros submetidos a tireoidectomia apresentaram redução no crescimento, atraso no fechamento das placas epifisárias e erupção dentária, letargia, insensibilidade ao frio, pelagem áspera, diminuição da temperatura retal e redução das concentrações séricas de colesterol e fósforo.

Síndrome da hiperplasia da glândula tireoide e deformidades musculoesqueléticas - TH-MSD

Apesar da semelhança com o hipotireoidismo congênito, alguns casos nos Estados Unidos e Canadá foram descritos como uma síndrome congênita na qual potros provenientes de gestações prolongadas apresentam sinais de imaturidade, hiperplasia da glândula tireoide e deformidades musculoesqueléticas, principalmente ossificação incompleta e prognatismo mandibular (McLaughlin & Doige, 1982; McLaughlin et al., 1986; Allen et al, 1994; Allen, 1996). Potros acometidos por esta síndrome geralmente revelam concentrações de T_4 e T_3 reduzidas ou nos limites inferiores, contudo, podem não apresentar alterações nos níveis de hormônios tireoidianos. Potros portadores desta síndrome submetidos ao teste de estimulação com TSH não apresentaram resposta eficiente (McLaughlin et al., 1986). Com menor frequência, potros com TH-MSD apresentam fraqueza muscular, deformidades angulares e flexurais (McLaughlin & Doige, 1982; McLaughlin et al., 1986; Allen,

1996). A causa desta síndrome ainda não foi elucidada. Contudo, sugere-se que a ingestão de nitrato associada a baixos níveis de iodo na dieta de éguas gestantes pode ser a causa desta condição (Frank et al., 2002).

Síndrome da doença não tireoidiana - NTIS (síndrome do doente eutireoidiano)

A síndrome da doença não tireoidiana é caracterizada por alterações nos níveis dos hormônios secretados pela glândula tireoide sem o diagnóstico prévio de doença tireoidiana (Economiedou et al., 2011; Farwell, 2013). Diversos fatores podem afetar o eixo hipotálamo-pituitária-tireoide (HPT) inibindo a síntese de TRH e TSH e, conseqüentemente, cursando com a redução dos níveis de hormônios tireoidianos (Frank et al., 2002). Além das alterações na secreção de TRH e TSH, outros mecanismos como alterações na atividade das deiodinases, alterações na ligação dos hormônios tireoidianos às proteínas séricas, alterações no transporte dos hormônios para os tecidos e na atividade dos receptores destes hormônios podem cursar com o decréscimo dos níveis de T_3 e T_4 (Farwell, 2013). A redução nos níveis de hormônios tireoidianos possivelmente representa uma adaptação fisiológica que visa diminuir o metabolismo e permitir a realocação de energia para responder a doença (Farwell, 2013).

Em pacientes humanos, a síndrome da doença não tireoidiana caracteriza-se pelo decréscimo dos níveis de T_3 total e livre, acréscimo nos níveis de T_3 reverso, níveis normais, aumentados ou diminuídos de T_4 total, níveis normais ou aumentados de T_4 livre e decréscimo na concentração de TSH (DeGroot, 2006; Fisher, 2008). A redução de T_4 na presença desta síndrome apresentou correlação com a mortalidade na espécie humana (Fischer, 2008). Um estudo realizado por Silva et al. (2015), constatou que recém-nascidos com sepse apresentaram um quadro transitório de síndrome da doença não tireoidiana, principalmente nos casos prolongados de sepse. Neste estudo, os neonatos apresentaram decréscimo nos níveis de T_3 , sem alterações nos níveis de T_3 reverso e decréscimo dos níveis de T_3 e T_4 na presença de choque séptico. Williams et al. (2005) sugerem que alterações como persistência do ducto arterioso, enterocolite necrotizante e infecções também apresentam impacto importante nos níveis de hormônios tireoidianos em neonatos prematuros.

Em relação a espécie equina, alterações como a síndrome da asfixia perinatal parecem cursar com a diminuição dos níveis de hormônios tireoidianos, sugerindo

um quadro de hipotireoidismo secundário à asfixia (Panzani et al., 2012; Pirrone et al., 2013). Breuhaus et al. (2014) relataram alterações nas concentrações de hormônios tireoidianos em neonatos hospitalizados e prematuros, com decréscimo nas concentrações de T₃ total, T₃ livre e T₄ livre. Já no estudo realizado por Himler et al. (2012), potros doentes apresentaram decréscimo nas concentrações de T₃ total, T₄ total e T₄ livre. Em ambos estudos os potros não sobreviventes apresentaram concentrações de T₃ e T₄ significativamente menores do que os potros sobreviventes. Além disso, os hormônios tireoidianos apresentaram correlação negativa com o escore de sepse (Himler et al., 2012; Breuhaus et al., 2014). Sugere-se que os baixos níveis de hormônios tireoidianos podem não ser somente uma resposta ao quadro clínico, mas podem também contribuir para a mortalidade (Panzani et al., 2012; Breuhaus et al., 2014). Portanto, a mensuração de hormônios tireoidianos pode, de maneira criteriosa, auxiliar na determinação do prognóstico de neonatos equinos hospitalizados.

Diagnóstico e tratamento de alterações na função tireoidiana

A mensuração de hormônios tireoidianos é um dos principais métodos para detectar alterações na função tireoidiana de neonatos equinos e deve ser realizada em conjunto com a observação de sinais clínicos. Para determinar se o potro apresenta níveis reduzidos de hormônios tireoidianos, é necessário o conhecimento sobre as concentrações normais destes hormônios em potros hípidos. Valores de referência para neonatos equinos estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Valores de referência de hormônios tireoidianos para neonatos equinos.

Idade dos potros	T ₃ (nmol/L)	T ₄ (nmol/L)	fT ₃ (pmol/L)	fT ₄ (pmol/L)	Medidas	Referência
Pós-parto imediato	15,23±1,31	348,59±8,51	14,68±2,86	49,76±4,81	Média±EPM	Müller et al.*
10 minutos	9,96±4,76	394,81±140,8	-	-	Média±DPM	Pirrone et al (2013)
24 horas	11,00±2,76	249,5±82,73	-	-	Média±DPM	Pirrone et al (2013)
	17,97±0,67	297,44±11,47	23,02±1,33	50,67±3,85	Média±EPM	Müller et al.*
24-36 horas	8,2 (0,8)	260,5 (16,9)	10,0 (2,0)	97,5 (13,6)	Mediana (IC)	Breuhau (2014)
7 dias	7,03±2,42	100,67±79,68	-	-	Média±DPM	Pirrone et al (2013)
	11,34±0,83	182,82±16,07	13,20±2,42	27,83±1,93	Média±EPM	Müller et al.*

T₃: triiodotironina total; fT₃: triiodotironina livre; T₄: tiroxina total; fT₄: tiroxina livre.

EPM: erro padrão da média; DPM: desvio padrão da média; IC: intervalo de confiança.

*Dados não publicados pelos autores.

Para o diagnóstico de hipotireoidismo, Irvine (1984) sugere que o principal critério é a mensuração da concentração de T₄ livre no momento do nascimento e de T₃ livre em potros com mais de três dias de vida. Contudo, uma única mensuração das concentrações de hormônios tireoidianos pode não ser um indicador confiável de alteração na função tireoidiana, pois a utilização de drogas como a fenilbutazona, corticosteroides, dietas ricas em carboidratos, proteínas, zinco e cobre, assim como o exercício, pode alterar os níveis circulantes de T₃ e T₄ (Morris et al., 1983; Glade et al., 1985; Swinker et al., 1989; Messer et al., 1995; Graves et al., 2006; Breuhau, 2011). Quando não é possível a mensuração seriada de hormônios tireoidianos, aconselha-se verificar as concentrações livres de T₃ e T₄, tendo em vista que algumas drogas podem causar alterações na ligação dos hormônios tireoidianos às proteínas séricas (Farwell, 2013).

Os testes de estimulação da tireoide também são indicadores de função tireoidiana adequada. Estes consistem na mensuração seriada de hormônios tireoidianos antes e depois da estimulação da glândula tireoide via administração de TRH ou TSH exógeno (Breuhau, 2002; Breuhau et al., 2011). Em equinos adultos, existem diversos protocolos e resultados descritos (Held & Oliver, 1984; Chen et al., 1986; Harris et al., 1992; Breuhau, 2002). No conhecimento dos autores, há apenas um estudo no qual foi realizado o teste de estimulação da tireoide em neonatos equinos. Neste, foi realizada a administração única de TRH na dose de 0,5mg/potro

via endovenosa. Após a estimulação, potros prematuros e doentes apresentaram concentrações significativamente menores de T_3 e T_4 quando comparados aos potros saudáveis, enquanto que potros prematuros apresentaram concentrações significativamente maiores de TSH (Breuhaus et al., 2014).

Em relação ao tratamento, recomenda-se a suplementação de potros diagnosticados com hipotireoidismo no momento do nascimento. Como o T_3 possui uma atividade metabólica maior e meia vida menor, deve-se administrar a associação de T_3 e T_4 (Breuhaus, 2011). A dose de levotiroxina (T_4) recomendada para potros é de 20-50 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dia}$, enquanto que a dose de T_3 é de 1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dia}$, ambos administrados por via oral (Madigan, 1994). Também pode ser realizado o cálculo para a administração de T_4 de acordo com os níveis plasmáticos que se deseja atingir, através da fórmula $0,176 \times \text{peso vivo (kg)} \times \text{concentração desejada de } T_4 (\mu\text{g}/\text{L}/\text{dia})$. Neste caso, a dose de T_3 recomendada corresponde a um terço do valor calculado para a suplementação de T_4 (Irvine, 1984). Além de suplementar o potro, deve-se realizar o tratamento de suporte e a correção da dieta da égua (Breuhaus, 2011).

Potro com TH-MSD geralmente não são suplementados com T_3 e T_4 , pois frequentemente não apresentam alterações nos níveis de hormônios tireoidianos no momento do nascimento. Além disso, a suplementação hormonal não reverte as alterações musculoesqueléticas que estes potros apresentam (Breuhaus, 2011). Em relação ao tratamento de potros com síndrome da doença não tireoidiana, as vantagens e desvantagens da suplementação de T_3 e T_4 são desconhecidas. Himler et al. (2012) sugerem que o tratamento de potros com esta síndrome pode ser benéfico. Em neonatos humanos, a hipotiroxinemia pode resultar em alterações severas como o atraso no desenvolvimento neurológico. Contudo, a suplementação de T_4 parece não reverter este fato, além de não diminuir a taxa de mortalidade (Farwell, 2013). Devido à escassez de informações sobre o tratamento de potros com síndrome da doença não tireoidiana, novos estudos com este enfoque são necessários para verificar se a suplementação hormonal é benéfica ao neonato.

CONCLUSÕES

As concentrações adequadas de hormônios tireoidianos são necessárias para o metabolismo e estimulação celular de neonatos equinos, sendo essenciais para o crescimento e maturação de diferentes órgãos. Alterações nos níveis de hormônios tireoidianos podem ocorrer devido à doença tireoidiana primária, como o hipotireoidismo congênito e a TH-MSD, ou secundárias à outras doenças, como a NTIS. A mensuração de hormônios tireoidianos e o teste de estimulação da glândula tireoide podem auxiliar no diagnóstico destas alterações. A suplementação hormonal pode ser benéfica em casos de alteração da função tireoidiana, contudo, não reverte alguns danos causados pelos níveis reduzidos de hormônios tireoidianos.

REFERÊNCIAS

ALLEN, A. L. Hyperplasia of the thyroid gland and musculoskeletal deformities in two equine abortuses. **The Canadian Veterinary Journal**, v.36, p.234-236, 1995.

ALLEN, A. L.; DOIGE, C. E.; FRETZ, P. B.; TOWNSEND, H. G. Hyperplasia of the thyroid gland and concurrent musculoskeletal deformities in western Canadian foals: reexamination of a previously described syndrome. **The Canadian Veterinary Journal**, v.35, p.31-38, 1994.

ALLEN, A. L.; TOWNSEND, H. G.; DOIGE, C. E.; FRETZ, P. B. A case-control study of the congenital hypothyroidism and dysmaturity syndrome of foals. **The Canadian Veterinary Journal**, v.37, p.349-358, 1996.

BARRETT, K. E.; BARMAN, S. M.; BOITANO, S.; BROOKS, H. L. The thyroid gland. In: **Ganong's Review of Medical Physiology**. New York: mcgraw-hill; 2010, p.301-314.

BREUHAUS, B. A. Disorders of the equine thyroid gland. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v.27, n.1, p.115-128, 2011. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cveq.2010.12.002>.

BREUHAUS, B. A. Thyroid-stimulating hormone in adult euthyroid and hypothyroid horses. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.16, p.109-115, 2002.

BREUHAUS, B.A. Thyroid function and dysfunction in term and premature equine neonates. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.28, n.4, p.1301-1309, 2014. doi: <http://dx.doi.org/10.1111/jvim.12382>.

CHEN, C. L.; LI, W. I. Effect of thyrotropin releasing hormone (TRH) on serum levels of thyroid hormones in Thoroughbred mares. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.6, p.58-61, 1986.

CHENG, S. Y.; LEONARD, J. L.; DAVIS, P. J. Molecular aspects of thyroid hormone actions. **Endocrine Reviews**, v.31, p.139-170, 2010.

DEGROOT, L. J. Nonthyroidal illness syndrome, in DEGROOT, L.J.; JAMESON, J.L. **Endocrinology**. Philadelphia, 5.Ed. of Elsevier-Saunders, 2006, p.2101-2112.

DREW, B.; BARBER, W. P.; WILLIAMS, D. G. The effect of excess dietary iodine on pregnant mares and foals. **The Veterinary Record**, v.97, p.93-95, 1975.

DURHAM, A. E. Congenital goitre in two colt foals born to mares fed excess iodine during pregnancy. **Equine Veterinary Education**, v.7, p.239–241, 1995.

ECONOMIEDOU, F.; DOUKA, E.; TZANELA, M.; NANAS, S.; KOTANIDOU, A. Thyroid function during critical illness. **Hormones**, v.10, n.2, p.117-24, 2011.

FARWELL, A. P. Nonthyroidal illness syndrome. **Current Opinion in Endocrinology & Diabetes & Obesity**, v.20, n.5, p.478-484, 2013. doi: <http://dx.doi.org/10.1097/01.med.0000433069.09294.e8>.

FISHER, D. A. Thyroid system immaturities in very low birth weight premature infants. **Seminars in Perinatology**, v.32, n.6, p.387-397, 2008. doi: <http://dx.doi.org/10.1053/j.semperi.2008.09.003>.

FISHER, D. A.; DUSSAULT, J. H.; SACK, J.; CHOPRA, I. J. Ontogenesis of hypothalamo-pituitary-thyroid function and metabolism in man, sheep and rat. **Recent Progress in Hormone Research**, v.33, p.59-107, 1977.

FRANK, N.; SOJKA, J.; MESSER, N. T. Equine thyroid dysfunction. **The Veterinary Clinics of North America**, v.18, p.305-319, 2002.

GLADE, M. J.; REIMERS, T. J. Effects of dietary energy supply on serum thyroxine, triiodothyronine and insulin concentrations in young horses. **Journal of Endocrinology**, v.104, p.93-98, 1985.

GRAVE, G. D., SATTERTHWAIT, S., KENNEDY, C.; SOKOLOFF, L. Accelerated post-natal development of D(-) β -hydroxy-butyrate dehydrogenase activity in the brain in hyperthyroidism. **Journal of Neurochemistry**, v.20, p.495-501, 1973.

GRAVES, E. A.; SCHOTT H.C., MARTENIUK, J. V.; REFSAL, K. R.; NACHREINER, R. F. Thyroid hormone responses to endurance exercise. **Equine Veterinary Journal**, v. 36, p. 32-36, 2006.

HARRIS, P.; MARLIN, D.; GRAY, J. Equine thyroid function tests: a preliminary investigation. **British Veterinary Journal**, v.148, p.71-80, 1992.

HELD, J.P.; OLIVER, J.W. A sampling protocol for the thyrotropin-stimulating test in the horse. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.184, p.326–327, 1984.

HIMLER, M.; HURCOMBE, S. D.; GRIFFIN, A.; BARSNICK, R. J.; RATHGEBER, R. A.; MACGILLIVRAY, K. C.; TORIBIO, R. E. Presumptive nonthyroidal illness syndrome in critically ill foals. **Equine Veterinary Journal**, v. 44, p. 43-47, 2012. doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.2042-3306.2011.00480.x>.

HULL, D. Structure and function of brown adipose tissue. **British Medical Bulletin**, v.22, p.92-96, 1996.

IRVINE, C. H. G.; EVANS, M. J. Hypothyroidism in foals. **New Zealand Veterinary Journal**, v.53, p. 354-354, 1977.

IRVINE, C. H. G.; SIMPSON-MORGAN, M. W. Relative rates of transcapillary movement of free thyroxine, protein-bound thyroxine, thyroxine-binding proteins and albumin. **The Journal of Clinical Investigation**, v.53, p.156-164, 1974.

IRVINE, C.H. Hypothyroidism in the foal. **Equine Veterinary Journal**, v.16, p.302-305, 1984. <http://dx.doi:10.1111/j.2042-3306.1984.tb01932.x>.

IRVINE, C.H.; EVANS, M.J. Post-natal changes in total and free thyroxine and triiodothyronine in foal serum. **Journal of the Reproduction and Fertility**, v.23, p.709-715, 1975.

KAPTEIN, E. M.; HAYS, M. T.; FERGUSON, D. C. Thyroid hormone metabolism: a comparative evaluation. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.24, n.3, p.431-466, 1994.

LOWE, J. E.; BALDWIN, B. H.; FOOTE, R. H.; HILLMAN, R. B.; KALLFELZ, F. A. Equine hypothyroidism: the long term effects of thyroidectomy on metabolism and growth in mares and stallions. **The Cornell Veterinarian**, v.64 p.276–295, 1974.

MADIGAN, J. E. Endocrine problems. In: MADIGAN, J.E. **Manual of Equine Neonatal Medicine**. Woodland: Live Oak Publishing, 1994. p.206-209.

MASHIACH, S.; BARKAI, G.; SACK, J.; STERN, E.; GOLDMAN, B.; BRISH, M.; SERR, D. M. Enhancement of fetal lung maturity by intra-amniotic administration of thyroid hormone. **American Journal of Obstetrics & Gynecology**, v.130, p.289-298, 1978.

McLAUGHLIN, B. G.; DOIGE, C. E. A study of ossification of carpal and tarsal bones in normal and hypothyroid foals. **Canadian Veterinary Journal**, v.23, p.164-168, 1982.

McLAUGHLIN, B. G.; DOIGE, C. E. Congenital musculoskeletal lesions and hyperplastic goitre in foals. **Canadian Veterinary Journal**, v.22, p.130-133, 1981.

McLAUGHLIN, B. G.; DOIGE, C. E.; McLAUGHLIN, P. S. Thyroid hormone levels in foals with congenital musculoskeletal lesions. **Canadian Veterinary Journal**, v.27, p.264-267, 1986.

MESSER, N. T.; GANJAM, V. K.; NACHREINER, R. F.; KRAUSE, G. F. Effects of dexamethasone administration on serum thyroid hormone concentrations in clinically normal horses. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.206, p.63-66, 1995.

MORRIS, D. D.; GARCIA, M. Thyroid-stimulating hormone: response test in healthy horses, and effect of phenylbutazone on equine thyroid hormones. **American Journal of Veterinary Research**, v. 44, p. 503-507, 1983.

OSAME, S.; ICHAJO, S. Clinicopathological observations on thoroughbred foals with enlarged thyroid gland. **Journal of Veterinary Medical Science**, v.56, p.771-772, 1994.

PANZANI, S.; COMIN, A.; GALEATI, G.; ROMANO, G.; VILLANI, M.; FAUSTINI, M.; VERONESI, M.C. How type of parturition and health status influence hormonal and metabolic profiles in newborn foals. **Theriogenology**, v.77, n.6, p.1167-1177, 2012. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.10.023>

PIRRONE, A.; PANZANI, S.; GOVONI, N.; CASTAGNETTI, C.; VERONESI, M. C. Thyroid hormone concentrations in foals affected by perinatal asphyxia syndrome. **Theriogenology**, v. 80, n.6, p.624-629, 2013. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.06.003>.

SILVA, M. H. B. N.; ARAUJO, M. C. K.; DINIZ, E. M. A.; CECCON, M. E. J. R.; CARVALHO, W. B. Nonthyroidal illnesses syndrome in full-term newborns with sepsis. **Archives of Endocrinology and Metabolism**, v.59, n.6, p.528-534, 2015. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/2359-3997000000111>.

SILVER, M.; FOWDEN, A. L.; KNOX, J.; OUSEY, J.; CASH, R.; ROSSDALE, R. D. Relationship between circulating tri-iodothyronine and cortisol in the perinatal period in the foal. **Journal of Reproduction and Fertility**. v.44, p.619–26, 1991.

SOJKA, J. E. Hypothyroidism in horses. **Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian**, v.17, p.845-852, 1995.

SWINKER, A. M.; MCCURLEY, J. R.; JORDAN, E. R. Effects of dietary excesses on equine serum thyroid hormone levels. **Journal of Animal Science**, v.65, p.255-256, 1989.

TORIBIO, R. E. Endocrine Dysregulation in critically ill foals and horses. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v.27, n.1, p.35-47, 2011. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cveq.2010.12.011>.

WALLACE, M. J.; HOOPER, S. B.; HARDING, R. Role of the adrenal glands in the maturation of lung liquid secretory mechanisms in fetal sheep. **American Journal of Physiology**, v.270, p.33–40 1996.

WILLIAMS, F. L. R.; OGSTEN, S. A.; TOOR, H. V.; VISSER, T. J.; HUME, R. Serum thyroid hormones in preterm infants: association with postnatal illness and drug usage. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 90, p. 5954-5963, 2005

3.2 Artigo 2

Thyroid hormones in foals born from mares with experimentally induced ascending placentitis and their relation with survival

Vitória Müller, Ramiro E. Toribio, Katarzyna Dembek, Bruna R. Curcio, Carlos E. W. Nogueira

Será submetido à revista Journal of Veterinary Internal Medicine

Thyroid hormones in foals born from mares with experimentally induced ascending placentitis and their relation with survival

Vitória Müller¹, Ramiro E. Toribio², Katarzyna Dembek², Bruna R. Curcio¹, Carlos E. W. Nogueira^{1*}

¹Departamento de Clínicas Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil.

²Department of Veterinary Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine, The Ohio State University, Columbus, Ohio, USA.

*Correspondent author: cewn@terra.com.br / +55 (53) 99981-6866

Abstract

The aim of this study was to determine cortisol and thyroid hormone concentrations (total thyroxine: T₄; free thyroxine: fT₄; total tri-iodothyronine: T₃; and free tri-iodothyronine: fT₃) in foals born from mares with experimentally-induced ascending placentitis and to determine their association with survival. We hypothesized that (i) foals born to mares with experimentally-induced ascending placentitis will have lower cortisol and thyroid hormone concentrations at birth, (ii) that these endocrine alterations will be associated with mortality, and (iii) that cortisol and thyroid hormone concentrations in the first hours of life will have prognostic value for survival. Twenty-nine pregnant mares and their foals were enrolled in this study. At 300 days of gestation, mares were assigned to a healthy control group (n=5) or were submitted to experimental induction of ascending placentitis (n=24) through intracervical inoculation of *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*. Medical treatment was initiated 48 h post bacterial inoculation. Foals born to inoculated mares were

assigned to Low-risk (n=14) or Sick (n=10) groups based on adaptive behavior, clinical and hematological findings during the first week of life. Foals were also classified as Term (n=13), Dysmature (n=7) or Premature (n=9) according to gestation length and presence of signs of immaturity. Survival rate was recorded until day 60 post-foaling. Six (6/10) foals from the Sick group did not survive, while all foals from Low-risk and Control groups survived. Cortisol and thyroid hormone concentrations were measured immediately after birth (0 h) and at 12, 24, 48 and 168 h of life. Serum cortisol concentrations were lower in Sick compared to Low-risk and Control foals at 0 h. Serum T_3 and fT_3 concentrations were lower in Sick compared to Control and Low-risk foals from 0h to 48 h. Serum fT_4 concentrations were lower in Sick and Low-risk than in Control foals at 0 h, while Sick foals had lower concentrations than Control and Low-risk foals from 12 h to 168 h. Premature foals had lower serum cortisol (0 h), T_3 (0 h to 48 h), fT_3 (12 h to 48 h), and fT_4 (0 h to 168 h) concentrations compared to Term and Dysmature foals. No differences were found in cortisol and thyroid hormone concentrations between sick survivor and sick non-survivor foals. In conclusion, sick foals delivered by mares with experimentally-induced ascending placentitis had decreased concentrations of T_3 , fT_3 and fT_4 that persist for 48 to 168 h, which is consistent with euthyroid sick syndrome or nonthyroidal illness syndrome (NTIS). Cortisol and thyroid hormone concentrations were not associated with foal mortality in this study. Cortisol and thyroid hormones did not have prognostic value in the first hours of life.

Keywords: Tri-iodothyronine, thyroxine, cortisol, critical ill foals.

1. Introduction

Placentitis is one of the most important causes of fetoplacental unit impairment and can affect equine fetal maturation and postnatal development [1]. Foals delivered by mares with placentitis can range from small sized foals with compromised organ function to full sized foals with no clinical and laboratory abnormalities, depending on both the time and the duration of the insult [2]. Immaturity and sepsis are the main complications of placentitis to newborn foals and can lead to dysfunction of different organ systems [3, 4].

In human neonates, disorders such as sepsis suppress the hypothalamic-pituitary-thyroid axis (HPTA), reducing thyroxine (T_4) and tri-iodothyronine (T_3) concentrations, leading to a condition known as nonthyroidal illness syndrome (NTIS) [5, 6]. The reduction in thyroid hormone (TH) concentrations possibly represents a physiological adaptation to reduce metabolism to allow energy reallocation to respond to disease [5]. In neonates of different species, TH are important for thermoregulation in the first hours of life [7]. In addition, these hormones act directly on cell metabolism and stimulation, which makes them essential for organs maturation and development [7, 8]. Activation of the hypothalamic pituitary-adrenal axis in the last weeks of pregnancy is essential for tissue maturation and differentiation in the equine neonate, which is important to thyroid gland maturation and TH secretion [9,10].

There are few publications on NTIS in neonatal foals [11-14]. Furthermore, the information available is generally from hospital admission, making it difficult to compare TH concentrations in sick and healthy age-matched foals. Two studies demonstrated that sick foals had lower TH concentrations than healthy foals, suggesting that NTIS is

prevalent in critically ill equine neonates. These studies also found that TH concentrations were lower in non-surviving foals [11, 14].

To the authors' knowledge, there are no studies comparing total and free fractions of thyroid hormones in sick and healthy neonatal foals at birth and in the immediate postpartum period or that have investigated their relationship with cortisol concentrations. The aim of this study was to determine cortisol and TH concentrations (total thyroxine: T₄; free thyroxine: fT₄; total tri-iodothyronine: T₃; and free tri-iodothyronine: fT₃) and their association in foals born from mares with experimentally-induced ascending placentitis and to determine their association with survival. We hypothesized that (i) foals born to mares with experimentally-induced ascending placentitis will have lower cortisol and TH concentration at birth, (ii) that these endocrine alterations will be associated with mortality, and (iii) that cortisol and TH concentrations in the first hours of life will have prognostic value for survival.

2. Material and methods

The present study was performed during the 2012-2014 breeding seasons. All procedures carried out in the present study were approved by the Ethical Committee on Animal Experimentation of the Federal University of Pelotas under protocol #4750.

2.1. Animals

Twenty-nine foals were enrolled in this study from the time of birth to seven days postpartum. These foals were also included in a parallel study, in which 46 foals were enrolled [15]. However, only foals which serum samples were available were included in

the present study. Five dams carried healthy gestations to term, while 24 dams were submitted to experimental induction of ascending placentitis through intracervical inoculation of 10^7 colony-forming units of *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* at 300 days of gestation, as previously described by Curcio et al (2017) [15]. Mares were assessed daily for the presence of vulvar discharge, early udder development and measurement of the combined thickness of uterus and placenta (CTUP) as described elsewhere [16]. Of these mares, 100% (24/24) showed vulvar discharge, increased CTUP (>12mm) and 20.8% (5/24) presented early udder development at 48 h post-bacterial inoculation. Mares were started on medical treatment at 48 h post-bacterial inoculation with flunixin meglumine (1.1 mg/kg, IV, q24 hours for 10 days, Trissulfim[®], Ouro Fino Saude Animal, São Paulo, Brazil) and sulfamethoxazole and trimethoprim (30 mg/kg, IV, q12 hours for 10 days, Trissulfim[®], Ouro Fino Saude Animal, São Paulo, Brazil). Furthermore, eight mares (8/24) were supplemented with long-acting altrenogest (0.088 mg/kg, IM, 2 administrations q7 days; Altrenogest[®], Botupharma, São Paulo, Brazil), five mares (5/24) with estradiol cypionate (10 mg/mare, IM, 3 administrations q3 days; E.C.P.[®], Zoetis, São Paulo, Brazil) and five mares (5/24) received both drugs as described elsewhere. [15].

2.2. Clinical evaluation of the foals

All foalings were closely monitored. Foals were submitted to physical exams, evaluation of righting reflexes and total blood count immediately after birth. Foals born to mares carrying normal healthy gestations showed normal adaptive behavior (sternal recumbency < 5min, suckling reflex < 20 min, stand < 1 h), no evidence of immaturity, normal serum immunoglobulin G (IgG > 8.0 g/L), normal physical exams and total blood

counts [17] during the first week of life and were assigned to Control group (n=5). Foals delivered by mares submitted to experimental induction of ascending placentitis were classified as Low-risk or Sick at 12 hours after birth, when the sepsis scores were calculated. Those showing normal adaptive behavior, physical exams, serum IgG concentrations and total blood counts were assigned to Low-risk group (n=14), while foals that needed assistance to nurse and showed abnormal adaptive behavior, physical exams, total blood counts and/or sepsis scores ≥ 11 [18] were assigned to the Sick group (n=10).

In the low-risk group, seven foals had physical signs of immaturity. One of them was considered premature and six were considered dysmature according to the classification described before by Rossdale (1993) [3]. All sick foals had physical signs of immaturity. Eight of them were considered premature and two were considered dysmature. Foals were also assigned to Term foals (n=13), Dysmature foals (n=7) or Premature foals (n=9) groups.

Foals from the Sick group received ampicillin sodium (20 mg/kg, IV, q8 h; Ampicilina Veterinária®, Vetnil, São Paulo, Brasil) and flunixin meglumine (0.5 mg/kg, IV, q12 h; Trissulfim®, Ouro Fino Saude Animal, São Paulo, Brazil) and fluid therapy as needed. Treatments started at 24 hours after birth. Survival rate was recorded until 60 days of life. Six foals from the sick group did not survive. Two of them had to be euthanized due the grave prognosis.

2.2. Hormonal analysis

Foals had blood collected from the external jugular vein immediately after birth (0 h), and at 12, 24, 48 h and 7 days (168 h) postpartum. Samples were allowed to clot at

room temperature, centrifuged at $600 \times g$ for 10 min and stored at -20°C until further analysis. Serum concentrations of total thyroxine (T_4), free thyroxine (fT_4), total tri-iodothyronine (T_3) and free tri-iodothyronine (fT_3) were determined by enzyme immunoassay (MP Biomedicals LLC, NY, USA), while cortisol was determined by radioimmunoassay (MP Biomedicals LLC, NY, USA). The sensitivity and specificity of the kits used are described in Table 1.

2.3. Statistical analysis

Hormone concentrations were tested for normality with the Shapiro-Wilk test and found to be normally distributed. Comparisons for three or more groups were carried out by two-way repeated measures ANOVA and post-hoc comparisons were made by Tukey test. Pearson correlation test was used to assess correlation between cortisol and TH concentrations. Results are presented as $\text{mean} \pm \text{SEM}$. Statistical analysis were performed using the commercial software SigmaStat 3.5. Significance was set at $p < 0.05$.

3. Results

Serum T_3 and fT_3 concentrations were lower in Sick compared to Control and Low-risk foals at 0, 12, 24 and 48 hours after birth (Figure 1; $p < 0.05$), but not different at 7 days of life. Serum T_4 concentrations were not different among groups at any time point ($p > 0.05$). However, fT_4 concentrations were higher in Control and Low-risk foals than in Sick foals from 0 h to 168 h after birth ($p < 0.05$). Premature foals had lower T_3 concentrations than Term foals at 0, 12, 24, 48 hours of life ($p < 0.01$). Serum fT_3 concentrations were lower in Premature than Term foals at 12, 24 and 48 hours after birth

and lower in Premature than Dysmature foals at 12 and 24 hours post-partum ($p < 0.05$). Serum T_4 concentrations were not different among groups. However, $F T_4$ concentrations were lower in Premature compared to Term and Dysmature foals at all time points ($p < 0.05$).

Serum cortisol concentration in newborn foals were correlated with T_3 ($r = 0.43$; $p = 0.01$) and $F T_4$ ($r = 0.66$; $p = 0.00$) concentrations immediately after parturition (0 h). Concentration of cortisol in foals are presented in Figure 1. Control and Low-risk foals had higher concentrations of cortisol than Sick foals at 0 hours ($p < 0.01$). Premature foals had lower cortisol concentrations than Term and Dysmature foals at 0 hours (Figure 2; $p < 0.01$).

Serum T_3 , $F T_3$, T_4 , $F T_4$ and cortisol concentrations were lower in Sick non-surviving compared to Sick surviving foals at most time points, although this difference failed to reach significance (Table 2; $p > 0.05$).

4. Discussion

In this study, sick foals born from mares with experimentally-induced placentitis had lower concentrations of T_3 , $F T_3$ and $F T_4$ than healthy control and low-risk foals at birth and during the first week of life, suggesting that these foals developed NTIS in response to intra-uterine disease. Similar results were found in another study in which sick foals up to 6 h of life had lower concentrations of T_4 and T_3 than healthy foals [12].

The mechanism by which sick foals delivered by mares with placental impairment showed alterations in thyroid hormone levels was not elucidated in the present study. However, we demonstrated a positive correlation between cortisol with T_3 and $F T_4$ concentrations immediately after parturition (0 hours). In addition, the present study

showed that premature foals had lower cortisol concentrations 0 hours post-partum and lower TH concentrations in the majority of the time points evaluated. The fact that eight (8/10) foals from the Sick group were premature indicates that fetal maturation could have contributed to the low TH concentrations in these foals. A previous study found a correlation between T_3 and cortisol concentrations in equine fetuses, suggesting that increased adrenocortical activity and subsequent cortisol release few days prior to birth promotes thyroid gland maturation and TH secretion [18]. In the same study, premature foals had lower concentrations of cortisol and T_3 than term foals, while dysmature foals had lower concentrations of T_3 than term foals, but higher than premature foals [18].

On the other hand, sick foals from the present study had lower TH concentrations since birth and likely in late gestation, supporting impaired TH synthesis from placental and fetal disease, which is consistent with NTIS. Different mechanisms have been proposed in the pathogenesis of NTIS [5]. One of the mechanisms include increased expression of inflammatory cytokines, some of which (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-15, IL-18 and IFN- γ) have been shown to be elevated in mares with naturally-occurring and experimentally-induced placentitis [19, 20]. In addition, several cytokines are involved in the pathophysiology of sepsis in neonatal foals [21]. There is evidence that the tumor necrosis factor alpha (TNF- α), IL-1, IL-6 and IL-10 have negative effects on thyroid-stimulating hormone (TSH) release, on the expression of deiodinases that convert T_4 to T_3 , and decrease TH binding to serum proteins [22]. In addition, inflammatory cytokines inhibit genes involved in the metabolism of thyroid hormones [23, 24]. Although inflammatory cytokines were not assessed in mares and foals from our study, they may have contributed to the reduction of TH in sick foals. The fact that some foals have experienced an inflammatory process in

uterus, but were considered low-risk foals and had normal thyroid hormone levels lead us to believe that some mares had a mild inflammatory response to infection or responded more efficiently to treatment.

In the present study, we found no association between hormone concentrations and foal survival. Similar results were found in another study with foals affected with perinatal asphyxia syndrome in which TH concentrations were not associated with survival [13]. Other foal studies have found association between low TH concentrations and mortality [11, 14]. In a study in which a single blood sample was collected to assess thyroid hormone concentration in foals that were between 1 to 192 hours old, septic non-surviving foals had lower levels of T_3 , fT_3 and fT_4 than septic surviving foals [11]. Other study that evaluated thyroid hormone levels in foals that were 24 to 36 hours old demonstrated that sick non-surviving foals had decreased levels of fT_3 and premature non-surviving foals had decreased levels of fT_3 e fT_4 . When sick and premature foals were grouped in a single category of non-surviving foals, these had lower concentrations of T_3 , fT_3 e fT_4 than surviving foals [14]. However, in the foals of our study, TH concentrations were measured multiple times over a one-week period. The physiological decrease in TH concentrations in newborn foals suggests that for proper TH result interpretation, they should be compared to age-matched healthy foals. Although some studies have demonstrated thyroid dysfunction in non-surviving foals, it is still not clear if changes in thyroid hormone levels are a consequence or one of the causes of the foal's clinical condition.

5. Conclusion

Cortisol and thyroid hormone concentrations changed according to the clinical condition and maturity of the foals. Cortisol concentrations in foals were correlated to T₃, and fT₄ levels at birth. Sick foals delivered by mares with experimentally induced ascending placentitis had decreased concentrations of T₃, fT₃ and fT₄ at the time of birth. Thyroid hormone concentrations were not related to neonatal mortality in this study and the measurement of these hormones does not seem to be a precise marker to determine foals' prognosis in the first hours of life.

Funding Sources

This study was partially supported by the Federal University of Pelotas and The Ohio State University.

Competing interest

None.

References

- [1] Morresey PR. Prenatal and perinatal indicators of neonatal viability. *Clin Tech Equine Pract* 2005;4:238–49. doi:10.1053/j.ctep.2005.07.005.
- [2] Bain FT. Management of the foal from the mare with placentitis: A clinician's approach. 50th Annu. Conv. Am. Assoc. Equine Pract., Denver: 2004.
- [3] Rossdale PD, Ousey JC, Silver M, Fowden AL. Studies on equine prematurity VI: guidelines for assessment of foal maturity. *Equine Vet J* 1984;16:300–2.
- [4] Sanchez LC. *Equine Neonatal Sepsis* 2015;21:273–93.

doi:10.1016/j.cveq.2005.04.007.

- [5] Farwell AP. Nonthyroidal illness syndrome 2013;20:478–84.
doi:10.1097/01.med.0000433069.09294.e8.
- [6] Silva MHBN, Araujo MCK, Diniz EMA, Ceccon MEJRC, Carvalho WB.
Nonthyroidal illnesses syndrome in full-term newborns with sepsis. *Arch Endocrinol Metab* 2015;59:528–34. doi:10.1590/2359-3997000000111.
- [7] Irvine CHG. Hypothyroidism in the foal. *Equine Vet J* 1984;16:302–6.
doi:10.1111/j.2042-3306.1984.tb01932.x.
- [8] Toribio RE. Endocrine Dysregulation in Critically Ill Foals and Horses. *Vet Clin North Am - Equine Pract* 2011;27:35–47. doi:10.1016/j.cveq.2010.12.011.
- [9] Silver M, Fowden AL, Knox J, Ousey J, Cash R, Rosedale PD. Relationship between circulating tri-iodothyronine and cortisol in the perinatal period in the foal. *J Reprod Fertil Suppl* 1991;44:619–26.
- [10] Fowden AL, Forhead AJ, Ousey JC. Endocrine adaptations in the foal over the perinatal period. *Equine Vet J* 2012;44:130–9. doi:10.1111/j.2042-3306.2011.00505.x.
- [11] Himler M, Hurcombe SDA, Griffin A, Barsnick RJ, Rathgeber RA, MacGillivray KC, et al. Presumptive nonthyroidal illness syndrome in critically ill foals. *Equine Vet J* 2012;44:43–7. doi:10.1111/j.2042-3306.2011.00480.x.
- [12] Panzani S, Comin A, Galeati G, Romano G, Villani M, Faustini M, et al. How type of parturition and health status influence hormonal and metabolic profiles in newborn foals. *Theriogenology* 2012;77:1167–77.
doi:10.1016/j.theriogenology.2011.10.023.

- [13] Pirrone A, Panzani S, Govoni N, Castagnetti C, Cristina M. Theriogenology Thyroid hormone concentrations in foals affected by perinatal asphyxia syndrome. *Theriogenology* 2013;80:624–9. doi:10.1016/j.theriogenology.2013.06.003.
- [14] Breuhaus BA. Thyroid function and dysfunction in term and premature equine neonates. *J Vet Intern Med* 2014;2014:1301–9. doi:10.1111/jvim.12382.
- [15] Curcio BR, Canisso IF, Pazinato FM, Borba LA, Feijó LS, Müller V, et al. Estradiol cypionate aided treatment for experimentally induced ascending placentitis in mares. *Theriogenology* 2017;102:98–107. doi:10.1016/j.theriogenology.2017.03.010.
- [16] Bucca S, Fogarty U, Collins A, Small V. Assessment of feto-placental well-being in the mare from mid-gestation to term: Transrectal and transabdominal ultrasonographic features. *Theriogenology* 2005;64:542–57.
- [17] Koterba AM, Drummond WH, Kosch PC. *Equine Clinical Neonatology*. 1th Editio. Philadelphia: Lea & Febiger; 1990.
- [18] Brewer BD, Koterba AM. Development of a scoring system for the early diagnosis of equine neonatal sepsis. *Equine Vet J* 1988;20:18–22. doi:10.1111/j.2042-3306.1988.tb01445.x.
- [19] Lyle SK. The relationship between pro-inflammatory cytokines, prostaglandins , and fetal hypothalamic-pituitary-adrenal axis activation in mares with infective pre-term delivery. Louisiana State University, 2008.
- [20] Leblanc MM, Giguère S, Lester GD, Brauer K, Paccamonti DL. Relationship between infection, inflammation and premature parturition in mares with experimentally induced placentitis. *Equine Vet J* 2012;44:8–14. doi:10.1111/j.2042-3306.2011.00502.x.

- [21] McKenzie III HC, Furr MO. Equine Neonatal Sepsis: The Pathophysiology of Severe Inflammation and Infection. *Compend Contin Educ Pract Vet* 2014;23:661–72.
- [22] Boelen A, Kwakkel J, Fliers E. Beyond Low Plasma T₃: Local Thyroid Hormone Metabolism during Inflammation and Infection 2011;32:670–93.
doi:10.1210/er.2011-0007.
- [23] Tominaga T, Yamashita S, Nagayama Y, Morita S, Yokoyama N, Izumi M, et al. Interleukin 6 inhibits human thyroid peroxidase gene expression. *Acta Endocrinol* 1991;124:290–4.
- [24] Tang KT, Braverman LE, DeVito WJ. Tumor necrosis factor- α and interferon- γ modulate gene expression of type I 5'-deiodinase, thyroid peroxidase, and thyroglobulin in FRTL-5 rat thyroid cells. *Endocrinology* 1995;136:881–8.

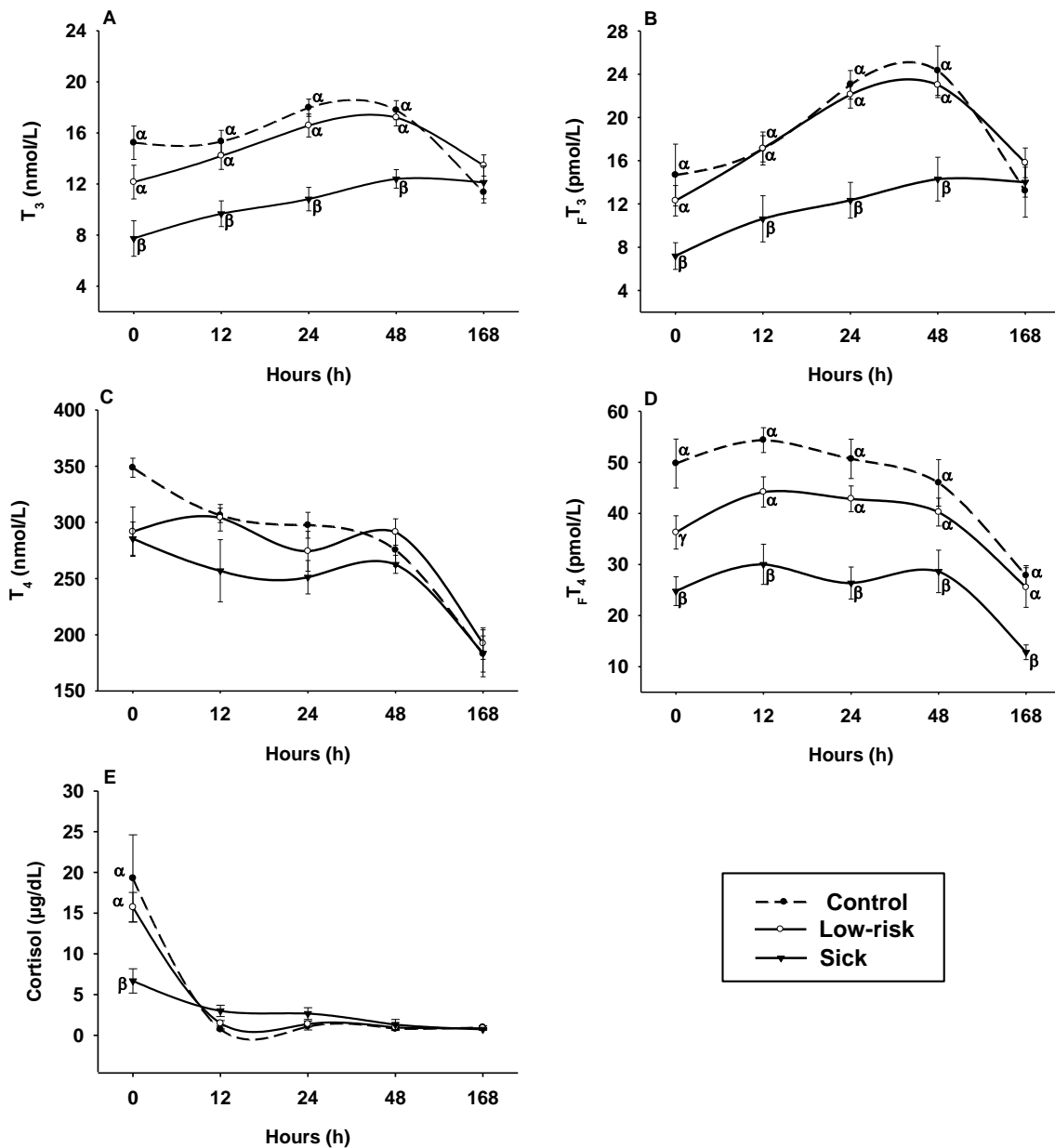


Figure 1. Cortisol and thyroid hormone concentrations in foals assigned to Control (n=5), Low-risk (n=14) and Sick (n=10) group. Statistical difference (p<0.05) among groups is represented by different Greek characters at each time point. T_3 : total tri-iodothyronine; ${}_F T_3$: free tri-iodothyronine; T_4 : total thyroxine; ${}_F T_4$: free thyroxine.

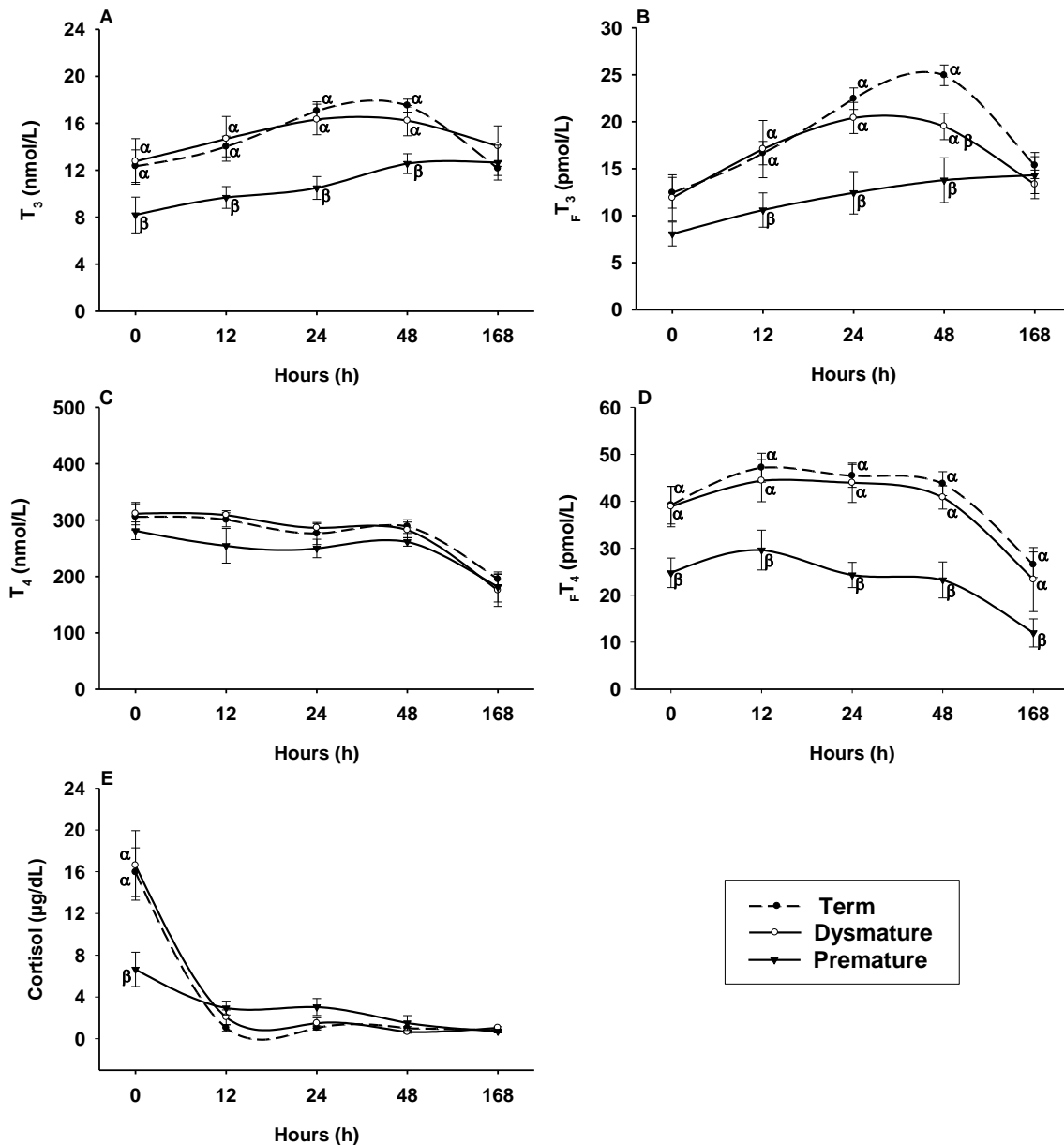


Figure 2. Cortisol and thyroid hormone concentrations in Term (n=13), Dysmature (n=7) and Premature (n=9) foals. Statistical difference ($p < 0.05$) among groups is represented by different Greek characters at each time point. T_3 : total tri-iodothyronine; $F_T T_3$: free tri-iodothyronine; T_4 : total thyroxine; $F_T T_4$: free thyroxine.

Table 1. Technique, catalog number, standard range, sensitivity and specificity of the assays used to measure hormone concentrations in foals.

Hormone	Technique	Catalog number	Standard range*	Sensitivity*	Specificity
Cortisol	RIA	07-221102	0.01-1 µg/dL	0.0017 µg/mL	Cortisol (100%), prednisolone (45.6%), 11-desoxycortisol (12.3%), corticosterone (5.5%), prednisone (2.7%), cortisone (2.1%), 17 α -hydroxyprogesterone (1%), progesterone (0.25%), testosterone (<0.01%). Triiodo-L-thyronine (100%), triiodo-D-thyronine (90%), L-thyroxine (0%), D-thyroxine (16%), triiodothyroacetic acid (<8%), moniodotyrosine (0%), diiodotyrosine (0.08%), methimazole (0.05%), 5,5'-diphenylhydantion (0%), phenylbutazone (0.001%), salicylic acid (0%), acetylsalicylic acid (0%).
T3	ELISA	05BC-1005	0.00-15.36 nmol/L	0.31 nmol/L	L-triiodothyronine (100%), L-thyronine (<0.0002%), iodotyrosine (<0.0001%), diiodotyrosine (<0.0001%), phenylbutazone (<0.0001%), sodium salicylate (<0.0001%). L-thyroxine (92.1%), D-thyroxine (100%), triiodo-L-thyronine (22.6%), triiodo-D-thyronine (32%), triiodothyroacetic acid (0%), moniodotyrosine (0%), diiodotyrosine (0%), methimazole (0%), 5,5'-diphenylhydantion (0%), phenylbutazone (0%), 6-n-propyl-2-triouracil (0%), salicylic acid (0%), acetylsalicylic acid (0%).
FT3	ELISA	07BC-1006	0.0-321.80 pmol/L	0.08 pmol/L	
T4	ELISA	07BC-1004	0.0-321.80 nmol/L	6.44 nmol/L	
FT4	ELISA	07BC-1008	0.0-90.30 pmol/L	0.65 pmol/L	Not available

RIA: radioimmunoassay; ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay. Manufacturer: MP Biomedicals® (Orangeburg, NY, USA).

Table 2. Cortisol and thyroid hormone concentrations in survivor (n=4) and non-survivor (n=6) Sick foals.

Hormone	Group	Time point (h)				
		0	12	24	48	168
Cortisol (µg/dl)	Survivor	8.49 ± 2.32	9.59 ± 1.73	11.26 ± 1.23	12.11 ± 0.99	10.20 ± 0.90
	Non-survivor	7.23 ± 1.87	9.72 ± 1.35	10.52 ± 1.38	12.78 ± 1.24	15.05 ± 0.41
T ₃ (nmol/L)	Survivor	7.15 ± 2.68	10.67 ± 3.69	15.83 ± 2.60	16.48 ± 2.70	13.37 ± 2.42
	Non-survivor	7.21 ± 1.31	10.60 ± 2.86	10.60 ± 1.84	12.12 ± 2.93	14.98 ± 0.19
fT ₃ (pmol/L)	Survivor	311.86 ± 17.62	298.26 ± 17.60	270 ± 10.57	257.59 ± 12.05	172.51 ± 34.37
	Non-survivor	267.93 ± 19.43	299.36 ± 42.29	238.58 ± 23.24	269.33 ± 11.09	199.83 ± 19.45
T ₄ (nmol/L)	Survivor	27.24 ± 3.72	32.36 ± 6.16	32.86 ± 5.71	30.75 ± 5.95	12.09 ± 2.33
	Non-survivor	23.12 ± 4.12	28.16 ± 5.58	22.04 ± 2.65	25.84 ± 6.61	13.88 ± 1.59
fT ₄ (pmol/L)	Survivor	9.28 ± 2.32	2.08 ± 1.18	1.49 ± 0.97	0.41 ± 0.10	0.72 ± 0.21
	Non-survivor	4.95 ± 1.76	3.61 ± 0.84	3.45 ± 0.93	2.53 ± 1.20	0.76 ± 0.08

Results expressed as Mean ± Standard error. Statistical differences were not detected among groups (p>0.05).

T₃: total tri-iodothyronine; fT₃: free tri-iodothyronine; T₄: total thyroxine; fT₄: free thyroxine.

4 Considerações Finais

- As concentrações adequadas de hormônios tireoidianos são essenciais para o desenvolvimento, maturação e função adequada de diferentes órgãos em neonatos equinos;
- Alterações nos níveis de hormônios tireoidianos podem ocorrer devido à doença tireoidiana primária, como o hipotireoidismo congênito e a TH-MSD, ou secundárias a outras doenças, como a NTIS. A mensuração de hormônios tireoidianos e o teste de estimulação da glândula tireoide podem auxiliar no diagnóstico destas alterações;
- Potros doentes nascidos de éguas com placentite ascendente induzida experimentalmente apresentaram concentrações inferiores de cortisol no momento do parto e concentrações reduzidas de T_3 , FT_3 e FT_4 que persistiram até 48 a 168 horas de vida, o que é compatível com a presença de NTIS;
- As concentrações de cortisol e hormônios tireoidianos não foram associadas à mortalidade neste estudo e, portanto, não apresentaram valor prognóstico nas primeiras horas de vida.

Referências

ALLEN, A. L. Hyperplasia of the thyroid gland and musculoskeletal deformities in two equine abortuses. **The Canadian Veterinary Journal**, v.36, p.234-236, 1995.

ALLEN, A. L.; DOIGE, C. E.; FRETZ, P. B.; TOWNSEND, H. G. Hyperplasia of the thyroid gland and concurrent musculoskeletal deformities in western Canadian foals: reexamination of a previously described syndrome. **The Canadian Veterinary Journal**, v.35, p.31-38, 1994.

ALLEN, A. L.; TOWNSEND, H. G.; DOIGE, C. E.; FRETZ, P. B. A case–control study of the congenital hypothyroidism and dysmaturity syndrome of foals. **The Canadian Veterinary Journal**, v.37, p.349-358, 1996.

BAIN, F.T. Management of the foal from the mare with placentitis: A clinician's approach. In: Annual Convention of American Association of Equine Practitioners, 2004, Denver. **Proceedings of the 50th Annual Convention of American Association of Equine Practitioners**, Denver, 2004.

BARRETT, K. E.; BARMAN, S. M.; BOITANO, S.; BROOKS, H. L. The thyroid gland. In: **Ganong's Review of Medical Physiology**. New York: mcgraw-hill; 2010, p.301-314.

BOELEN, A.; KWAKKEL, J.; FLIERS, E. Beyond low plasma T3: local thyroid hormone metabolism during inflammation and infection. **Endocrine Reviews**, v. 32, n. 5, p. 670-693, 2011.

BREUHAUS, B. A. Disorders of the equine thyroid gland. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v.27, n.1, p.115-128, 2011.

BREUHAUS, B. A. Thyroid-stimulating hormone in adult euthyroid and hypothyroid horses. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.16, p.109-115, 2002.

BREUHAUS, B.A. Thyroid function and dysfunction in term and premature equine neonates. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.28, n.4, p.1301-1309, 2014.

BREWER, B.D.; KOTERBA, A.M. Development of a scoring system for the early diagnosis of equine neonatal sepsis. **Equine Veterinary Journal**, v.20, p.18-22, 1988.

BUCCA, S.; FOGARTY, U.; COLLINS, A.; SMALL, V. Assessment of feto-placental well-being in the mare from mid-gestation to term: Transrectal and transabdominal ultrasonographic features. **Theriogenology**, v.64, p.542-557, 2005.

CHEN, C. L.; LI, W. I. Effect of thyrotropin releasing hormone (TRH) on serum levels of thyroid hormones in Thoroughbred mares. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.6, p.58-61, 1986.

CHENG, S. Y.; LEONARD, J. L.; DAVIS, P. J. Molecular aspects of thyroid hormone actions. **Endocrine Reviews**, v.31, p.139-170, 2010.

CURCIO, B. R.; CANISSO, I. F.; PAZINATO, F. M.; BORBA, L. A.; FEIJÓ, L. S.; MÜLLER, V.; FINGER, I. S.; TORIBIO, R. E.; NOGUEIRA, C. E. W. Estradiol cypionate aided treatment for experimentally induced ascending placentitis in mares. **Theriogenology**, v.102, p.98-107, 2017.

DEGROOT, L. J. Nonthyroidal illness syndrome, in DEGROOT, L.J.; JAMESON, J.L. **Endocrinology**. Philadelphia, 5.Ed. of Elsevier-Saunders, 2006, p.2101-2112.

DREW, B.; BARBER, W. P.; WILLIAMS, D. G. The effect of excess dietary iodine on pregnant mares and foals. **The Veterinary Record**, v.97, p.93-95, 1975.

DURHAM, A. E. Congenital goitre in two colt foals born to mares fed excess iodine during pregnancy. **Equine Veterinary Education**, v.7, p.239–241, 1995.

ECONOMIEDOU, F.; DOUKA, E.; TZANELA, M.; NANAS, S.; KOTANIDOU, A. Thyroid function during critical illness. **Hormones**, v.10, n.2, p.117-24, 2011.

FARWELL, A. P. Nonthyroidal illness syndrome. **Current Opinion in Endocrinology & Diabetes & Obesity**, v.20, n.5, p.478-484, 2013.

FISHER, D. A. Thyroid system immaturities in very low birth weight premature infants. **Seminars in Perinatology**, v.32, n.6, p.387-397, 2008.

FISHER, D. A.; DUSSAULT, J. H.; SACK, J.; CHOPRA, I. J. Ontogenesis of hypothalamo-pituitary-thyroid function and metabolism in man, sheep and rat. **Recent Progress in Hormone Research**, v.33, p.59-107, 1977.

FOWDEN, A. L.; FORHEAD, A. J.; OUSEY, J.C. Endocrine adaptations in the foal over the perinatal period. **Equine Veterinary Journal**, v.44, p.130-139, 2012.

FRANK, N.; SOJKA, J.; MESSER, N. T. Equine thyroid dysfunction. **The Veterinary Clinics of North America**, v.18, p.305-319, 2002.

GLADE, M. J.; REIMERS, T. J. Effects of dietary energy supply on serum thyroxine, triiodothyronine and insulin concentrations in young horses. **Journal of Endocrinology**, v.104, p.93-98, 1985.

GRAVE, G. D., SATTERTHWAITHE, S., KENNEDY, C.; SOKOLOFF, L. Accelerated post-natal development of D(-) β -hydroxy-butyrate dehydrogenase activity in the brain in hyperthyroidism. **Journal of Neurochemistry**, v.20, p.495-501, 1973.

GRAVES, E. A.; SCHOTT H.C., MARTENIUK, J. V.; REFSAL, K. R.; NACHREINER, R. F. Thyroid hormone responses to endurance exercise. **Equine Veterinary Journal**, v. 36, p. 32-36, 2006.

HARRIS, P.; MARLIN, D.; GRAY, J. Equine thyroid function tests: a preliminary investigation. **British Veterinary Journal**, v.148, p.71-80, 1992.

HELD, J.P.; OLIVER, J.W. A sampling protocol for the thyrotropin-stimulating test in the horse. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.184, p.326-327, 1984.

HIMLER, M.; HURCOMBE, S. D.; GRIFFIN, A.; BARSNICK, R. J.; RATHGEBER, R. A.; MACGILLIVRAY, K. C.; TORIBIO, R. E. Presumptive nonthyroidal illness syndrome in critically ill foals. **Equine Veterinary Journal**, v. 44, p. 43-47, 2012.

HULL, D. Structure and function of brown adipose tissue. **British Medical Bulletin**, v.22, p.92-96, 1996.

IRVINE, C. H. G.; EVANS, M. J. Hypothyroidism in foals. **New Zealand Veterinary Journal**, v.53, p. 354-354, 1977.

IRVINE, C. H. G.; SIMPSON-MORGAN, M. W. Relative rates of transcapillary movement of free thyroxine, protein-bound thyroxine, thyroxine-binding proteins and albumin. **The Journal of Clinical Investigation**, v.53, p.156-164, 1974.

IRVINE, C.H. Hypothyroidism in the foal. **Equine Veterinary Journal**, v.16, p.302-305, 1984.

IRVINE, C.H.; EVANS, M.J. Post-natal changes in total and free thyroxine and triiodothyronine in foal serum. **Journal of the Reproduction and Fertility**, v.23, p.709-715, 1975.

KAPTEIN, E. M.; HAYS, M. T.; FERGUSON, D. C. Thyroid hormone metabolism: a comparative evaluation. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.24, n.3, p.431-466, 1994.

KOTERBA, A.M.; DRUMMOND, W.H.; KOSCH, P.C. **Equine Clinical Neonatology**. 1 ed. Philadelphia: Lea & Febiger; 1990. 846p.

LEBLANC, M.M.; GIGUÈRE, S.; LESTER, G.D.; BRAUER, K.; PACCAMONTI, D.L. Relationship between infection, inflammation and premature parturition in mares with experimentally induced placentitis. **Equine Veterinary Journal**, v.44, p.8-14, 2012;

LOWE, J. E.; BALDWIN, B. H.; FOOTE, R. H.; HILLMAN, R. B.; KALLFELZ, F. A. Equine hypothyroidism: the long term effects of thyroidectomy on metabolism and growth in mares and stallions. **The Cornell Veterinarian**, v.64 p.276–295, 1974.

LYLE, S.K. **The relationship between pro-inflammatory cytokines, prostaglandins and fetal hypothalamic-pituitary-adrenal axis activation in mares with infective pre-term delivery**, 2008. 204f. Dissertation - Department of Veterinary Clinical Sciences, Louisiana State University, 2008.

MADIGAN, J. E. Endocrine problems. In: MADIGAN, J.E. **Manual of Equine Neonatal Medicine**. Woodland: Live Oak Publishing, 1994. p.206-209.

MASHIACH, S.; BARKAI, G.; SACK, J.; STERN, E.; GOLDMAN, B.; BRISH, M.; SERR, D. M. Enhancement of fetal lung maturity by intra-amniotic administration of thyroid hormone. **American Journal of Obstetrics & Gynecology**, v.130, p.289-298, 1978.

MCKENZIE III, H.C.; FURR, M.O. Equine Neonatal Sepsis: The Pathophysiology of Severe Inflammation and Infection. **Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian**, v.23, p.661-672, 2014.

McLAUGHLIN, B. G.; DOIGE, C. E. A study of ossification of carpal and tarsal bones in normal and hypothyroid foals. **Canadian Veterinary Journal**, v.23, p.164-168, 1982.

McLAUGHLIN, B. G.; DOIGE, C. E. Congenital musculoskeletal lesions and hyperplastic goitre in foals. **Canadian Veterinary Journal**, v.22, p.130-133, 1981.

McLAUGHLIN, B. G.; DOIGE, C. E.; McLAUGHLIN, P. S. Thyroid hormone levels in foals with congenital musculoskeletal lesions. **Canadian Veterinary Journal**, v.27, p.264-267, 1986.

MESSER, N. T.; GANJAM, V. K.; NACHREINER, R. F.; KRAUSE, G. F. Effects of dexamethasone administration on serum thyroid hormone concentrations in clinically normal horses. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.206, p.63-66, 1995.

MORRESEY, P.R. Prenatal and perinatal indicators of neonatal viability. **Clinical Techniques in Equine Practice**, n. 4, p. 238–49, 2005.

MORRIS, D. D.; GARCIA, M. Thyroid-stimulating hormone: response test in healthy horses, and effect of phenylbutazone on equine thyroid hormones. **American Journal of Veterinary Research**, v. 44, p. 503-507, 1983.

OSAME, S.; ICHAJO, S. Clinicopathological observations on thoroughbred foals with enlarged thyroid gland. **Journal of Veterinary Medical Science**, v.56, p.771-772, 1994.

PANZANI, S.; COMIN, A.; GALEATI, G.; ROMANO, G.; VILLANI, M.; FAUSTINI, M.; VERONESI, M.C. How type of parturition and health status influence hormonal and metabolic profiles in newborn foals. **Theriogenology**, v.77, n.6, p.1167-1177, 2012.

PIRRONE, A.; PANZANI, S.; GOVONI, N.; CASTAGNETTI, C.; VERONESI, M. C. Thyroid hormone concentrations in foals affected by perinatal asphyxia syndrome. **Theriogenology**, v. 80, n.6, p.624-629, 2013.

ROSSDALE, P.D.; OUSEY, J.C.; SILVER, M.; FOWDEN, A.L. Studies on equine prematurity VI: guidelines for assessment of foal maturity. **Equine Veterinary Journal**, v.16, p.300-302, 1984.

SANCHEZ, L.C. Equine Neonatal Sepsis. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v.21, n.2, p.273-293, 2015.

SILVA, M. H. B. N.; ARAUJO, M. C. K.; DINIZ, E. M. A.; CECCON, M. E. J. R.; CARVALHO, W. B. Nonthyroidal illnesses syndrome in full-term newborns with sepsis. **Archives of Endocrinology and Metabolism**, v.59, n.6, p.528-534, 2015.

SILVER, M.; FOWDEN, A. L.; KNOX, J.; OUSEY, J.; CASH, R.; ROSSDALE, R. D. Relationship between circulating tri-iodothyronine and cortisol in the perinatal period in the foal. **Journal of Reproduction and Fertility**. v.44, p.619–26, 1991.

SOJKA, J. E. Hypothyroidism in horses. **Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian**, v.17, p.845-852, 1995.

SWINKER, A. M.; MCCURLEY, J. R.; JORDAN, E. R. Effects of dietary excesses on equine serum thyroid hormone levels. **Journal of Animal Science**, v.65, p.255-256, 1989.

TANG, K.T.; BRAVERMAN, L.E.; DEVITO, W.J. Tumor necrosis factor- α and interferon- γ modulate gene expression of type I 5'-deiodinase, thyroid peroxidase, and thyroglobulin in FRTL-5 rat thyroid cells. **Endocrinology**, v.136, p.881-888, 1995.

TOMINAGA, T.; YAMASHITA, S.; NAGAYAMA, Y.; MORITA, S.; YOKOYAMA, N.; IZUMI, M.; NAGATAKI, S. Interleukin 6 inhibits human thyroid peroxidase gene expression. **Acta Endocrinologica**, v.124, p.290-294, 1991.

TORIBIO, R. E. Endocrine Dysregulation in critically ill foals and horses. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v.27, n.1, p.35-47, 2011.

WALLACE, M. J.; HOOPER, S. B.; HARDING, R. Role of the adrenal glands in the maturation of lung liquid secretory mechanisms in fetal sheep. **American Journal of Physiology**, v.270, p.33–40 1996.

WILLIAMS, F. L. R.; OGSTEN, S. A.; TOOR, H. V.; VISSER, T. J.; HUME, R. Serum thyroid hormones in preterm infants: association with postnatal illness and drug usage. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 90, p. 5954-5963, 2005

Anexos

Anexo I - Documento da Comissão de Ética e Experimentação Animal



Pelotas, 05 de julho de 2010.

De: Prof. Dr. Orlando Antonio Lucca Filho
Pres. da Comissão de Ética e Experimentação Animal (CÉEA)

Para: Prof. Carlos Eduardo Wayne Nogueira
Departamento de Clínicas Veterinária
Faculdade de Veterinária

Senhor Professor:

A CEEA analisou o projeto intitulado: "**Alterações clínicas e metabólicas em potrões neonatos e sua relação com os achados ginecológicos e obstétricos na égua**". Processo nº 23110.004750/2009-55 sendo de parecer **FAVORÁVEL** a sua execução considerando ser o assunto pertinente e a metodologia compatível com os princípios éticos em experimentação animal e com os objetivos propostos.

Solicitamos, após tomar ciência do parecer, reenviar o processo à CEEA.

Salientamos também a necessidade deste Projeto ser cadastrado junto ao Departamento de Pesquisa para posterior registro no COCEPE (Código para Cadastro nº CEEA 4750).

Sendo o que tínhamos para o momento, subscrevemo-nos.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Orlando Antonio Lucca Filho

Presidente da CEEA