

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

## RESPOSTA A DIFERENTES FORMAS SINTÉTICAS DE GNRH EM OVINOS

Amanda VANZETTO\*<sup>1</sup>, Raquel Grande PEREIRA<sup>1</sup>, Clério Antônio HOEFLE<sup>1</sup>,  
Alexandro FRITZEN<sup>1</sup>, Giovanna FIORDALISI<sup>1</sup>, Rogério FERREIRA<sup>1</sup>

\*autor para correspondência: amanda\_vanzetto\_123@hormail.com

<sup>1</sup>Universidade do Estado de Santa Catarina, Chapecó, Santa Catarina, Brasil

**Abstract:** The objective of this study was to evaluate the efficiency of different doses and synthetic forms of GnRH to induce LH release in sheep. Forty Lacaune ewes were randomly designed to receive a hormonal protocol followed by GnRH agonist (gonadorelin, buserelin, deslorelin or lecirelin) at two concentration each. Blood sample were collected 0, 2, 4 and 6 hours after GnRH treatment to measure LH release. Gonadorelin (50 µg) induced a lower ( $P < 0.05$ ) LH release than other analogues (buserelin, lecirelin and deslorelin). The doses of gonadorelin (100 µg) and buserelin (8.4 µg) induced a higher LH peak than the doses (50 and 4.2 µg, respectively, for gonadorelin and buserelin,  $P < 0.05$ ). However, for the other agonists, the amplitude of the LH peak was not affected by the dose ( $P > 0.05$ ). In conclusion, buserelin, lecirelin and deslorelin induced a greater release of LH than treatment with gonadorelin (50 µg). Based on the doses tested, we recommend the use of 12.5 µg of lecirelin, 375 µg of deslorelin or 8.4 µg of buserelin to induce ovulation in sheep.

**Palavras-chave:** Gonadorelina, buserelina, lecirelina, deslorelina, ovelha

### Introdução

O hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) é um decapeptídeo produzido por neurônios hipotalâmicos, que estimulam a síntese e liberação do hormônio luteinizante (LH) e do hormônio folículo estimulante (FSH), pela pituitária anterior. Em programas reprodutivos, o GnRH é comumente utilizado com o objetivo de induzir a liberação de LH e, assim, a ovulação (PIERSON et al., 2003). Foram

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:



CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

desenvolvidos análogos agonistas com maior potência endógena e com uma meia-vida mais longa do que o GnRH endógeno (KIESEL, L. A. et al., 2002).

No mercado veterinário há formas sintéticas semelhante ao GnRH natural (gonadorelina) e também os análogos agonistas (buserelina, lecirelina e deslorelina). Atualmente não existem estudos em ovinos que tenham testado a capacidade das diferentes doses e formas sintéticas de GnRH em induzir o pico de LH. Além disso, o GnRH é utilizado em combinação com a gonadotrofina coriônica equina (eCG; que tem efeito de LH em ovinos) e/ou progesterona baixa, assim, o efeito do GnRH propriamente dito não foi testado.

Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a capacidade de diferentes doses e formas sintéticas de GnRH em induzir a liberação de LH na espécie ovina.

### Material e Métodos

Este estudo foi realizado no município de Chapecó, na região sul do Brasil. Foram utilizadas 40 borregas da raça Lacaune. Os animais tinham entre oito a dez meses de idade e pesavam 45 a 50 kg. O experimento foi conduzido no início de abril, época correspondente ao período reprodutivo (fotoperíodo negativo) nesta região. Todos os animais foram alocados aleatoriamente em oito grupos tratamentos (n = 5) de acordo com o GnRH testado e a dose administrada. Foram administradas as seguintes doses, a gonadorelina 50 e 100 µg, buserelina de 4,2 e 8,4 µg, gonadorelina de 50 e 100 µg e lecirelina de 12.5 e 25 µg.

Todas as fêmeas receberam um dispositivo intravaginal de acetato de medroxiprogesterona (MAP; 60 mg, Progespon®, Zoetis) durante sete dias. Uma dose de PGF2α (0, 125 mg de cloprostenol, intramuscular (IM), Estron®, Tecnopec) foi administrada no dia cinco e o GnRH testado foi administrado (IM) no dia sete. As amostras de sangue foram colhidas da veia jugular com auxílio de tubos a vácuo. As mesmas, foram obtidas antes da administração do GnRH (1º colheita) e 2, 4 e 6 horas após. As amostras foram dessoradas e o soro armazenado a -20 °C até ser

Promoção e Realização:

Apoio Institucional:

Organização:

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

dosado. A sensibilidade do ensaio foi de 0,77 ng/ml, e os coeficientes de variação intra e inter-ensaio foram de 5,96% e 6,98%, respectivamente.

A liberação total de LH em resposta a aplicação do agonista de GnRH foi calculada através da área sob a curva (AUC-LH) pelo método trapezoidal, desde o momento da administração de GnRH até 6 horas depois. O efeito de grupos experimentais na AUC-LH foi avaliado por ANOVA (2-way) e para identificar diferenças significativas entre os grupos foi utilizado o teste T de Student para médias corrigidas (LS Means Student's t post-hoc test). A concentração sérica de LH foi comparada entre as duas doses de cada agonista de GnRH usando PROC MIXED (modelos mistos, SAS Institute Inc., Cary, NC) em um modelo para dados repetidos. O efeito da dose em uma hora específica foi determinado pelo teste t de Student usando médias corrigidas (LSmeans). Todas as variáveis contínuas, bem como os resíduos de cada modelo, foram testadas para a normalidade usando o teste de Shapiro-Wilk e normalizados, quando necessário, de acordo com cada distribuição. Todas as análises foram realizadas com o pacote estatístico SAS e foi adotado como nível de significância  $P < 0,05$ .

### Resultados e Discussão

Este estudo foi realizado para determinar a eficácia de diferentes doses e formas sintéticas de GnRH em induzir a liberação de LH na espécie ovina. Supondo que o efeito terapêutico do GnRH esteja diretamente relacionado à liberação de LH, a gonadorelina (50 µg) teve uma eficácia muito menor em induzir a liberação de LH (AUC- LH) do que os análogos sintéticos (buserelina, deslorelina e lecirelina). Entretanto, foi igual à gonadorelina 100µg. Isto se deve ao fato dos análogos agonistas de GnRH serem peptídeos semelhantes ao GnRH natural, além disso, eles têm maior afinidade com o receptor de GnRH e, conseqüentemente, uma vida útil mais longa (KIESEL, L. A. et al., 2002).

No presente estudo, os análogos de GnRH induziram uma maior concentração de LH do que a observada no pico pré-ovulatório de LH, entretanto, a buserelina, a

Promoção e Realização:

Apoio Institucional:

Organização:

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

deslorelina e a lecorelina induziram um pico de LH suficiente para estimular uma possível ovulação. Acreditamos que estes agonistas podem ser indicados como indutores de ovulação para ovelhas. A gonadorelina 50 e 100 µg foi incapaz de induzir um pico de LH ( $12,0 \pm 2,4$  e  $28,6 \pm 7,1$  ng/ml, respectivamente) semelhante às concentrações de LH observadas durante o período pré-ovulatório. No entanto, deve-se considerar que a aquisição da capacidade ovulatória está relacionada ao diâmetro do folículo, pois há um aumento gradual da expressão dos receptores LH nas células da granulosa, de acordo com o crescimento do folículo dominante (WEBB e ENGLAND, 1982). A vantagem de administrar análogos de GnRH mais potentes é que possivelmente induziram a ovulação até mesmo de folículos menores, pois causam maior liberação de LH.

O aumento da dose da buserelina de 4,2 a 8,4 µg e gonadorelina de 50 a 100 µg, determinou um maior pico de LH. Esse resultado indica que de uma maneira prática, o aumento da dose de GnRH pode ser um método para aumentar a liberação de LH durante os protocolos reprodutivos e, potencialmente, resultar em um aumento da taxa de ovulação (GIORDANO et al., 2012).

Os análogos agonistas de GnRH e a gonadorelina induziram um aumento rápido das concentrações de LH (até 2 horas) e um novo declínio dentro de 6 horas. Picard-Hagen et al. (2015) obtiveram um resultado semelhante em bovinos, com um aumento rápido das concentrações de LH em resposta ao GnRH e uma diminuição subsequente em 6 horas. Assim, as horas analisadas foram suficientes para caracterizar a curva de LH.

No nosso tratamento experimental, a resposta do GnRH foi avaliada em condições padronizadas, ou seja, em um ambiente hormonal em que a secreção endógena de GnRH foi bloqueado pela progesterona, via dispositivo de liberação controlada. Além disso, todas as ovelhas receberam um análogo de PGF $2\alpha$ , 48 horas antes do GnRH, para garantir uma concentração similar de progesterona.

O interesse em mensurar a eficiência de diferentes doses de GnRH foi devido

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

à resposta dependente da dose observada e em outras espécies. As doses aqui utilizadas foram estabelecidas com base em protocolos hormonais descritos na literatura para ovinos. Como não encontramos estudos com deslorelina em ovinos, sua dose cheia e metade foram baseadas na indicação de bula para equinos.

### Conclusão

Em conclusão, o presente estudo demonstra que a buserelina, a lecirelina e a deslorelina induziram a um efeito maior sobre a liberação de LH do que o tratamento com gonadorelina. Acreditamos que os análogos agonistas de GnRH são, possivelmente, mais eficientes do que a gonadorelina na indução de ovulação. Com base nas doses testadas e considerando a maior liberação de LH, recomendamos o uso de 12,5 µg de lecirelina, 375 µg de deslorelina ou 8,4 µg de buserelina na indução da ovulação na espécie ovina.

### Referências

- KIESEL, L. A. et al. Clinical use of GnRH analogues. **Clinical Endocrinology**, [s.l.], v. 56, n. 6, p.677-687, jun. 2002. Wiley-Blackwell.
- GIORDANO, J.o. et al. Effect of progesterone on magnitude of the luteinizing hormone surge induced by two different doses of gonadotropin-releasing hormone in lactating dairy cows. **Journal Of Dairy Science**, [s.l.], v. 95, n. 7, p.3781-3793, jul. 2012. American Dairy Science Association.
- PICARD-HAGEN, N. et al. Effect of gonadorelin, lecirelin, and buserelin on LH surge, ovulation, and progesterone in cattle. **Theriogenology**, [s.l.], v. 84, n. 2, p.177-183, jul. 2015. Elsevier BV.
- WEBB, Robert; ENGLAND, Barry G. Identification of the Ovulatory Follicle in the Ewe: Associated Changes in Follicular Size, Thecal and Granulosa Cell Luteinizing Hormone Receptors, Antral Fluid Steroids, and Circulating Hormones during the Preovulatory Period\*. **Endocrinology**, [s.l.], v. 110, n. 3, p.873-881, mar. 1982. The Endocrine Society.
- PIERSON, Janice T. et al. Influence of GnRH administration on timing of the LH surge and ovulation in dwarf goats. **Theriogenology**, [s.l.], v. 60, n. 3, p.397-406, ago. 2003. Elsevier BV.

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:

