

## VALIDAÇÃO DA UTILIZAÇÃO DE CARNEIROS COMO MODELO EXPERIMENTAL NO ESTUDO DE MOLÉCULAS ANÁLOGAS AO GnRH

STANRLEY VICTOR NASCIMENTO DA SILVA<sup>1</sup>; GABRIEL MAGGI<sup>2</sup>; FÁBIO  
LEIVAS LEITE<sup>3</sup>; NEIDA LÚCIA CONRAD<sup>4</sup>; RAFAEL GIANELLA MONDADORI<sup>5</sup>;  
BERNARDO GARZIERA GASPERIN<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – stanrley.victor@hotmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – gabrielmaggi98@gmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – fleivasleite@gmail.com

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – conradneida@gmail.com

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – rgmondadori@gmail.com

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas - bbgasperin@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

O hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) é um decapeptídeo secretado de forma pulsátil pelo hipotálamo cuja a função é atuar na hipófise anterior modulando a liberação do hormônio folículo estimulante (FSH) e o hormônio luteinizante (LH). Nos machos esses hormônios são responsáveis por estimular o desenvolvimento testicular, a produção de testosterona e outros andrógenos que juntos serão responsáveis pela maturação de outros órgãos reprodutivos masculinos e pelo desenvolvimento de características sexuais masculinas secundárias (CAMPOS et al., 2022; SILVA, 2020). É importante ressaltar que a forma de secreção das gonadotrofinas em resposta ao estímulo do GnRH ocorre de forma diferente, no caso da secreção do FSH, o GnRH atua simplesmente como fator permissivo, sua presença na hipófise já é suficiente para liberar pulsos do FSH a um ritmo relativamente constante. Diferentemente do LH, onde há uma relação muito mais estreita, uma vez que cada pulso de secreção de GnRH é seguido por um pulso de secreção de LH. Assim, a frequência de secreção do LH é totalmente controlada pelo hipotálamo através de variações na frequência de secreção do GnRH (SILVA, 2020). Em decorrência disto, a regulação da secreção do GnRH é feita pelas próprias gonadotrofinas hipofisárias (LH, FSH) e a testosterona no macho (GONZÁLEZ, 2002).

Os gonadotrofos são os únicos tipos celulares que expressam receptores de GnRH e que são capazes de responder ao seu estímulo (DUBOIS et al., 2002). Em decorrência dessa afinidade, o GnRH é um contraceptivo em potencial, podendo ser utilizado na inibição da atividade reprodutiva pela supressão direta do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal tanto em machos quanto em fêmeas (HERBERT e TRIGG, 2005). Desde a descoberta do GnRH até os dias de hoje, já foram desenvolvidos mais de 3000 análogos, entre agonistas e antagonistas, e inicialmente esses análogos foram desenvolvidos para o tratamento de infertilidade, porém em decorrência da administração pulsátil não ser realizada, ocorreu a inibição da reprodução (GOBELLO, 2007; FLANAGAN et al., 1997).

O uso contínuo do GnRH reduz sua secreção, pela regulação dos seus próprios receptores. Desse modo, a utilização de análogos do GnRH, inicialmente induz um aumento das concentrações de FSH e principalmente do LH, que vai estimular a liberação de testosterona pelas células de Leydig, durante um curto período (FRASER e LINCOLN, 1980). No entanto, a exposição contínua cessa a secreção pulsátil de LH devido a “down regulation” que dessensibiliza os receptores

de GnRH, fazendo com que haja uma diminuição no conteúdo hipofisário de FSH e LH e, por consequência, a secreção de testosterona diminui (LINCOLN et al., 1986).

Portanto, diante do que foi exposto, o presente estudo tem como objetivo analisar a viabilidade da utilização de machos ovinos, como modelos de teste de eficácia dos análogos do GnRH.

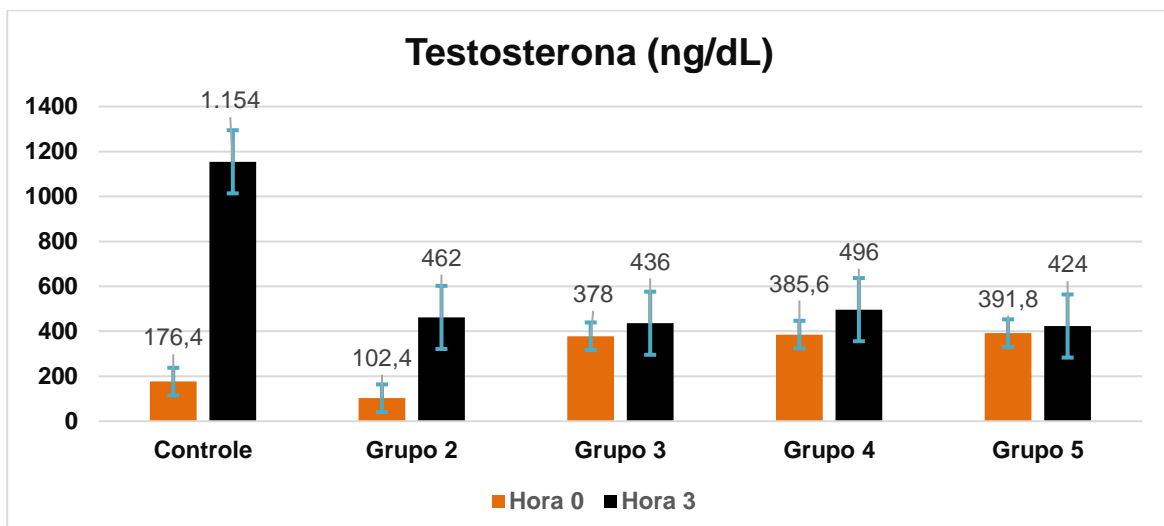
## 2. METODOLOGIA

O estudo foi realizado em propriedade rural, no município de Pinheiro Machado, RS, Brasil. Foram utilizados 25 machos ovinos, da raça Corriedale, mantidos em campo nativo. Os animais foram divididos em cinco grupos: Controle Positivo que receberam 10 µg de buserelina IM (Sincroforte®, Ourofino), Grupo 2 (800 µg de rGnRH), Grupo 3 (400 µg de rGnRH), Grupo 4 (200 µg de rGnRH) e grupo 5 (suspensão não purificada contendo 800 µg rGnRH). O rGnRH utilizado foi um fragmento do gene que codifica a proteína transportadora LTB fundida ao GnRH. Foi desenhado com base nas sequências do GenBank, encontradas sob os números de acesso S60731.1 e AF031653.1, respectivamente. As duas construções estão depositadas no instituto nacional da propriedade industrial (INPI) sob o número do processo BR 1020160147387 e BR 1020160147441.

Antes da aplicação dos tratamentos e três horas após foi coletado sangue da veia jugular dos animais, utilizando sistema vacutainer com tubos com acelerador de coágulo. As amostras foram centrifugadas a 1500 a 2000 G por 10 minutos para separação do soro que foi mantido congelado a -20 °C até o momento da análise. A dosagem de testosterona foi realizada por quimiluminescência (Siemens ADVIA Centaur Testosterone Test Kit; REF05476206) em laboratório privado.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme pode ser observado na Figura 1, os tratamentos aplicados não foram capazes de elevar significativamente a concentração de testosterona nos animais, com exceção do tratamento 2, onde houve uma elevação, porém inferior a observada no controle positivo.



**Figura 1.** Médias das concentrações de testosterona circulante (ng/dL), nas horas 0 e 3 após administração dos diferentes tratamentos em carneiros.

As moléculas análogas do GnRH não apresentaram os resultados esperados em ocasionarem o aumento da testosterona, com exceção do Tratamento 2. O estudo realizado por GIRIBONIA et al. (2019), mostrou que o análogo do GnRH, acetato de busarelina, o mesmo utilizado no grupo controle do presente estudo, foi eficiente em aumentar os níveis de concentração de testosterona em carneiros durante a estação não reprodutiva.

Da mesma forma, a administração de três doses de outro análogo do GnRH (gonadorelina) a cada 2 dias aumentou a concentração de testosterona em camelos (MONACO et al., 2015). Uma outra pesquisa realizada por DAMIÁN et al. (2015), sobre o desenvolvimento do comportamento reprodutivo e sexual de cordeiros machos, mostrou que o uso do acetato de busarelina foi eficiente em aumentar a concentração de testosterona nas primeiras horas após o uso. Ambos os relatos citados acima mostram que o GnRH e seus análogos podem provocar esse aumento da testosterona, devido à secreção de LH e sua estimulação nas células de Leydig.

Na literatura existem alguns relatos sobre outras utilizações dos análogos do GnRH nos machos, como os métodos contraceptivos, na qual um experimento feito por GIRIBONI et al. (2020), comparou os efeitos do uso crônico de um agonista e uma vacina anti-GnRH em bodes, e em ambos os tratamentos a inibição do eixo reprodutivo foi eficiente, porém os autores relatam que o uso crônico de um agonista de GnRH parece ser o tratamento mais eficaz em termos de duração e força, sendo importante ressaltar que os níveis de testosterona no primeiro mês do experimento foi maior no grupo agonista do que nos outros grupos presentes no experimento, corroborando com resultados visto neste estudo, e diante do que foi exposto e relatado pelos autores observa-se que esses animais respondem bem tanto ao uso de agonista do GnRH quanto ao de vacina anti-GnRH.

#### 4. CONCLUSÕES

Portanto, através dos resultados obtidos e do que foi exposto neste trabalho, pode-se observar que a utilização de carneiros como modelo experimental é adequada para testar a eficiência de novas moléculas análogas ao GnRH, visto que os animais respondem ao tratamento. Ressalta-se a importância de mais estudos nesse contexto para comparar a eficácia no uso de análogos de GnRH no carneiro.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CAMPOS, B. A. et al. **Bases da Reprodução Animal**. João Pessoa: Editora UFPB, 2022.

DAMIÁN, J. P. et al. Reproductive and sexual behaviour development of dam or artificially reared male lambs. **Physiology & Behavior**, v. 147, p. 47-53, 2015.

DUBOIS, E.A. et al. Evolutionary development of three gonadotropin-releasing hormone (GnRH) systems in vertebrates. **Brain Research Bulletin**, v. 57, n. 3-4, p. 413-418, 2002.

FLANAGAN, C.A.; MILLAR, R. P.; ILLING, N. Advances in understanding gonadotrophin-releasing hormone receptor structure and ligand interactions. **Reviews of reproduction**, v. 2, p. 113-120, 1997.

FRASER, H. M.; LINCOLN, G. A. Effects of chronic treatment with an LHRH agonist on the secretion of LH, FSH and testosterone in the ram. **Biology of reproduction**, v. 22, n. 2, p. 269-276, 1980.

GIRIBONI, J. et al. Daily administration of a GnRH analogue enhances sperm quality in bucks during the non-breeding season. **Animal reproduction science**, v. 200, p. 43-50, 2019.

GIRIBONI, J. et al. Chronic use of a GnRH agonist (deslorelin) or immunization against GnRH: effects on testicular function and sperm quality of bucks. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 71, p. 106395, 2020.

GOBELLO, C. New GnRH analogs in canine reproduction. **Animal Reproduction Science**, v. 100, n. 1-2, p. 1-13, 2007.

GONZÁLEZ, F. H. D. **Introdução à endocrinologia reprodutiva veterinária**. Porto Alegre: UFRGS, p. 1-87, 2002.

LINCOLN, G. A.; FRASER, H. M.; ABBOTT, M. P. Blockade of pulsatile LH, FSH and testosterone secretion in rams by constant infusion of an LHRH agonist. **Reproduction**, v. 77, n. 2, p. 587-597, 1986.

MONACO, D. et al. Effects of a GnRH administration on testosterone profile, libido and semen parameters of dromedary camel bulls. **Research in veterinary science**, v. 102, p. 212-216, 2015.

SILVA, E. I. C. **Endocrinologia da Reprodução Animal**. Recife: UFRPE, p. 1-18, 2020.