



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**A INFLUÊNCIA DA NUTRIÇÃO E A ATUAÇÃO DA LEPTINA,
KISSPEPTINA E GRELINA NO CICLO REPRODUTIVO DA ÉGUA**

Aluna: Jessica Maresch de Araújo
Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Arruda de Oliveira

BRASÍLIA – DF
DEZEMBRO/2017



JESSICA MARESCH DE ARAUJO

**A INFLUÊNCIA DA NUTRIÇÃO E A ATUAÇÃO DA LEPTINA,
KISSPEPTINA E GRELINA NO CICLO REPRODUTIVO DA ÉGUA**

Trabalho de conclusão de curso
de graduação em Medicina Veterinária
apresentado junto à Faculdade de
Agronomia e Medicina Veterinária da
Universidade de Brasília

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Arruda de Oliveira

BRASÍLIA -DF
DEZEMBRO/2017

MAR663i Maresch de Araujo, Jessica
A influência da nutrição e a atuação da leptina,
kisspeptina e grelina no ciclo reprodutivo da égua /
Jessica Maresch de Araujo; orientador Rodrigo Arruda de
Oliveira. -- Brasília, 2017.
31 p.

Monografia (Graduação - Medicina Veterinária) --
Universidade de Brasília, 2017.

1. Reprodução equina . 2. Kisspeptina. 3. Nutrição Equina
4. Leptina. 5. Grelina. I. Arruda de Oliveira, Rodrigo,
orient. II. Título.

Cessão de Direitos

Nome do Autor: Jessica Maresch de Araújo

Título do Trabalho de Conclusão de Curso: A influência da nutrição e a atuação da leptina, kisspeptina e grelina no ciclo reprodutivo da égua.

Ano: 2017

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta monografia e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação e nenhuma parte desta monografia pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.

(Assinatura) Jessica Maresch Araújo

Nome do Autor

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome do autor: ARAUJO, Jessica Maresch

Título: A influência da nutrição e a atuação da leptina, kisspeptina e grelina no ciclo reprodutivo da égua

Trabalho de conclusão do curso de
graduação em Medicina Veterinária
apresentado junto à Faculdade de
Agronomia e Medicina Veterinária da
Universidade de Brasília

Aprovado em: 05/12/2017

Banca examinadora

Prof. Dr. Rodrigo Arruda de Oliveira
Brasília

Instituição: Universidade de

Julgamento: Aprovada

Assinatura: 

Profa. Dra. Juliana Targino Silva Almeida e Macedo
Brasília

Instituição: Universidade de

Julgamento: Aprovada

Assinatura: 

Prof. Dr. Carlos Frederico Martins

Instituição: Embrapa

Julgamento: Aprovada

Assinatura: 

Ao Deus tremendo, Criador dos céus e da terra, Aquele me deu tudo quanto tenho e fez de mim tudo quanto sou. Aos meus amáveis e queridos pais, que tanto em mim investiram e tanto incentivo me deram. Por sempre terem acreditado em mim, fazendo inúmeras vezes o inimaginável a fim de me ajudar. Amor como esse é de valor inestimável, e espero um dia conseguir compensar. Aos meus professores, orientadores e mestres, pelos anos de paciência e disposição transmitindo conhecimento e sabedoria. Aos meus amigos, pelos momentos de auxílio e apoio, que tão valiosos foram. A todos os outros parentes e amigos, que mesmo de longe sempre oraram por mim e torceram por essa vitória.

“E Allah ordenou que se imprimissem em uma única criatura os olhos da águia, o faro do lobo, a velocidade da pantera, a resistência do camelo, a coragem do leão, a memória do falcão, a elegância da corsa e a fidelidade do cão. E Allah chamou o vento sul e ordenou que soprasse sobre a areia que estava em suas mãos, criando assim o cavalo.”

(Lenda Árabe)

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	1
ENDOCRINOLOGIA DA ÉGUA.....	2
ATIVIDADE CÍCLICA OVARIANA DA ÉGUA.....	3
NUTRIÇÃO EQUINA.....	5
RELAÇÃO ENTRE NUTRIÇÃO E REPRODUÇÃO.....	7
PEPTÍDEOS QUE ATUAM NO EIXO REPRODUTIVO EQUINO.....	8
Leptina.....	8
Kisspeptina.....	12
Grelina.....	15
CONCLUSÃO.....	17
REFERÊNCIAS.....	18

A influência da nutrição e a atuação da leptina, kisspeptina e grelina no ciclo reprodutivo da égua

Jessica Maresch de Araújo; Rodrigo Arruda de Oliveira

Resumo

Os equinos são animais monogástricos herbívoros que obtém os nutrientes necessários de plantas de diferentes espécies e em diferentes estádios de desenvolvimento. A domesticação do equino pelo homem acabou levando a alterações de manejo e alimentação devido à necessidade de adaptação dos animais a novos exercícios e condições limitantes impostas a estes pelo homem. Estas modificações trouxeram variados empecilhos, assim como diversos avanços, e novas possibilidades. Um dos avanços alcançados através da mudança alimentar imposta aos equinos mediante o fornecimento de alimentos concentrados é a possibilidade de melhor eficiência reprodutiva. As éguas são fotoperiódicas positivas poliéstricas estacionais, naturalmente entrando em anestro nos meses de inverno, em regiões afastadas da linha do Equador. Estudos indicam que éguas com bom índice de escore corporal não entram em anestro nesse período, oferecendo a possibilidade de reprodução ao longo de todo o ano sem a necessidade de aplicação de hormônios exógenos. A correlação entre nutrição e reprodução equina vem sendo cada vez mais estudada, e os mecanismos de ação de diversos fatores atuantes nessa correlação como a leptina, kisspeptina e grelina vem sendo elucidados. A presente revisão traz informações acerca da interação entre nutrição e reprodução equina e os três mais importantes peptídeos atuantes nessa correlação: leptina, kisspeptina e grelina.

Palavras chave: escore de condição corporal, estrógeno, gônadas, hipófise, hipotálamo.

The influence of nutrition and the action of leptin, kisspeptin and ghrelin on the mare's reproductive cycle

Jessica Maresch de Araújo; Rodrigo Arruda de Oliveira

Abstract

Equines are monogastric herbivorous animals, obtaining their essential nutrient requirements from plants from different species and in different development stages. Equine domestication by men brought alongside with it several alterations in equine management and feeding, due to the need of adaptation by the horses to new exercises and limiting conditions imposed to them by humans.

Such modifications brought a number of hindrances, alongside with many advances and new possibilities. One of the many advances achieved through feeding modification imposed to horses by providing concentrate feed is the possibility for better reproductive efficiency. Mares are photoperiodic polyestric seasonal breeders, naturally entering anestrus in winter months in regions far from the Equator line. Studies indicate that mares with optimum corporal score do not enter anestrus in such period, offering the possibility of reproduction through the year withholding the need for exogenous hormone administration. The correlation between nutrition and equine reproduction is being increasingly studied, and a confluence of factors that act in such correlation such as leptin, kisspeptin and ghrelin are being elucidated. This revision brings information regarding the interaction between nutrition and equine reproduction and the three major peptides that act in such correlation: leptin, kisspeptin and ghrelin.

Keywords: body condition score, estrogen, gonads, hypophysis, hypothalamus, peptides.

Introdução

A reprodução equina é resultado de um fino ajuste entre o hipotálamo, a hipófise e as gônadas, se tornando possível através de um complexo sistema de sinalizações e liberação hormonal (CARATY et al., 2012). A síntese e liberação de GnRH por um subgrupo de células neuronais no hipotálamo, sua liberação no sistema porta-hipofisário com subsequente ação na adeno-hipófise estimulando a liberação de gonadotrofinas (FSH e LH) que mediam o controle das gônadas pelo cérebro, é considerado o dogma da reprodução equina (OKAMURA et al., 2013). No entanto, principalmente na última década, muitas questões anteriormente não respondidas começaram a ser investigadas, e a atuação de outros fatores internos e externos no eixo reprodutivo equino começou a ser descoberta. Ao longo dos anos, a influência de peptídeos como a kisspeptina, leptina, grelina, melatonina, fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF-1) e outros foram investigadas e sua atuação no eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal foi confirmada. Fatores externos como nutrição, condição corporal, idade, sexo, raça, manejo e outros também tiveram suas atuações observadas (MORLEY et al., 2014). Apontar a intrínseca relação entre nutrição e reprodução equina, além da atuação da leptina, da kisspeptina e da grelina no eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal da égua reprodutora tem sido o foco de diversas pesquisas aqui apresentadas. O objetivo da presente revisão consiste na elucidação acerca da correlação entre nutrição e reprodução, sua importância prática e possíveis usos a campo dos peptídeos aqui descritos no controle do ciclo reprodutivo equino como um todo incluindo a ovulação, dado o fato do controle da ovulação da égua ser um dos objetivos primários dentro da reprodução equina.

Endocrinologia da égua

As éguas são fotoperiódicas positivas poliéstricas estacionais, possuindo ciclicidade ovariana em dias longos. Dessa maneira, o seu período natural de monta se estende de abril a outubro no hemisfério norte e de outubro a março no hemisfério sul. Aproximadamente 85% das éguas cessam a atividade ovariana perto do equinócio de outono como resultado desse processo (WILLIAMS et al., 2012).

Essa sazonalidade se caracteriza por um acentuado declínio na produção e secreção do hormônio luteinizante (LH) pela adenohipófise. Assim sendo, de maneira parecida com outros animais sazonais com períodos de gestação relativamente longos, o controle ambiental de reprodução da égua se dá principalmente pelo fotoperíodo. (WILLIAMS et al., 2012).

O eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal é o sistema regulatório para a reprodução dos mamíferos. Nele ocorre a secreção de diversos hormônios responsáveis pela ciclicidade ovariana da égua, como o hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), que é um hormônio dipeptídico produzido por um subconjunto de neurônios no hipotálamo (OKAMURA et al., 2013). Este age na porção anterior da hipófise estimulando a secreção de duas gonadotrofinas, o hormônio folículo estimulante (FSH) e o hormônio luteinizante (LH). Em resposta à liberação dessas gonadotrofinas, a gônada libera hormônios esteróides como a progesterona e o estrógeno. Esses hormônios então sinalizam para o hipotálamo na regulação da secreção de GnRH, em um sistema de *feedback* negativo. (OKAMURA et al., 2013).

São conhecidos dois modos de liberação do GnRH nas espécies domésticas de mamíferos: (1) o modo de liberação de pulso, caracterizado pela secreção tônica de gonadotrofinas que induz à foliculogênese, espermatogênese e esteroidogênese, sendo controlado por *feedback* negativo através da secreção de esteróides gonadais, e (2) o modo de aumento, que se caracteriza por uma descarga de gonadotrofinas preovulatórias que induzem a ovulação na fêmea através do sistema de *feedback* positivo via estrogênio (OKAMURA et al., 2013).

O eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal é extremamente complexo e não totalmente entendido, no entanto sabe-se que outros componentes agem em sua

regulação, componentes como a kisspeptina, leptina, grelina, melatonina, fator de crescimento semelhante à insulina – 1 (IGF-1) e outros. A kisspeptina por exemplo, consiste em um peptídeo endógeno secretagogo (indutor de secreção) de GnRH, que age estimulando principalmente a secreção de LH. A leptina por sua vez é um hormônio produzido fora do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal sendo sintetizada por adipócitos. No entanto, a mesma age diretamente no eixo, sinalizando a adequação das reservas de energia para uma função reprodutiva normal. Ela também age diretamente na modulação da atividade ovariana (FRADINHO et al., 2014). Durante o período fértil, a égua realiza cerca de 12 ciclos estrais com cerca de 21 dias cada, onde dentro destes, ela se encontra receptiva (estro) entre 4 e 5 dias (MORLEY et al., 2014).

A sazonalidade da égua é adaptada para associar sua gestação de 11 meses e o nascimento do potro com o período de maior oferta de alimento e melhores condições ambientais, providenciando assim maior chance de sobrevivência e desenvolvimento da progênie (MORLEY et al., 2014). O ritmo circanual hormonal endógeno da égua modulado por diversos fatores como mudanças de luminosidade, temperatura e oferta de alimento, suprime a taxa metabólica, apetite e massa corporal durante o inverno. Graças a esses acontecimentos, a maioria das espécies domesticadas de equinos entram em anestro nesse período (MORLEY et al., 2014).

Atividade cíclica ovariana da égua

Éguas são predominantemente mono ovulatórias, com folículos pré-ovulatórios atingindo cerca de 40 mm. Possuem ovário com tamanho e peso elevados, tendo sua ciclicidade ajustada pelo comprimento diurno e sua secreção hormonal regulada através de sistemas de *feedback*. (AURICH, 2011).

Células gonadotrópicas estão localizadas tanto na *pars distalis* quanto na *pars tuberalis* da hipófise, e a heterogeneidade no padrão de estocagem de LH e FSH dentro dessa população gonadotrópica é considerada a base para a regulação da secreção de gonadotrofinas durante o ciclo reprodutivo da égua (AURICH, 2011).

Acredita-se que a secreção de LH e FSH na égua seja regulada singularmente pelo hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), dado o fato da não existência de nenhuma evidência de fator liberador específico de FSH na égua. Além disso, a maioria dos pulsos de liberação de GnRH são seguidos por pulsos de liberação de LH pela hipófise, e destes pulsos de LH, cerca de 80% são seguidos por pulsos de liberação de FSH (AURICH, 2011). A intensidade da pulsação de GnRH se altera de acordo com o estágio dentro do ciclo ovariano, variando de 30 em 30 minutos no dia da ovulação e a cada 120 minutos durante a fase luteínica (AURICH, 2011). O padrão divergente na liberação de LH e FSH é mais pronunciado na égua do que em qualquer outra espécie doméstica (AURICH, 2011).

De um ponto de vista endócrino, o acontecimento mais marcante no tocante à transição entre o período ovulatório e anovulatório é a queda na síntese e liberação de LH pela porção anterior da glândula hipófise (WILLIAMS et al., 2012). Durante o período pré-ovulatório pode-se observar um aumento nas concentrações periféricas de LH. Esse aumento é acompanhado por um discreto aumento de FSH, que em sequência cai até atingir sua concentração Nadir (valor de menor concentração alcançada), enquanto o LH está atingindo sua concentração máxima (AURICH, 2011).

Diferentemente de outras espécies domésticas de animais, a égua não apresenta pico de LH pré-ovulatório, no entanto, durante o período de estro as concentrações elevadas de LH duram diversos dias. O aumento gradual de LH é interrompido após a ovulação graças à absorção de estradiol de fluido folicular que supostamente é liberado no abdômen na ovulação (GINTHER et al., 2010).

Nutrição equina

Os equinos são animais monogástricos, herbívoros, que se alimentam de brotos, colmos e folhas, além de possuírem alta capacidade para seleção de alimento. Sabe-se que a ingestão de volumoso é extremamente importante, pois a ingestão deficiente do mesmo pode resultar na não ativação dos indicadores de saciedade cerebrais centrais, fazendo com que o animal continue com elevada motivação para procura de alimento, podendo induzir o mesmo a estereotípias, como morder grades ou cercas, lambedura compulsiva do cocho ou grade, ingestão da cama, aerofagia, coprofagia entre outros (DITTRICH et al., 2010).

As espécies vegetais possuem rico conteúdo nutricional, contendo fibra (representada por carboidratos estruturais, base da dieta equina), quantidades variadas de lignina, proteínas e carboidratos não estruturais como açúcares simples, amido e frutanas, originados do conteúdo celular. O aporte proteico contido na pastagem é suficiente para suprir as exigências nutricionais de equinos em diferentes estados fisiológicos, principalmente de animais adultos que não se encontram em reprodução (DITTRICH et al., 2010).

Os carboidratos constituem a principal fonte de energia da forragem, sendo a celulose, hemi-celulose e amido as principais fontes de energia para equinos que se alimentam exclusivamente de pastagem (SHEPHERD et al, 2012). Os carboidratos não estruturais (amido e açúcares) são digeridos por enzimas endógenas no intestino delgado enquanto os carboidratos estruturais e frutanas sofrem digestão microbiana no ceco. A digestão destes resulta na formação de acetato, butirato e propionato (DITTRICH et al., 2010).

No entanto, a domesticação do cavalo pelo homem acarretou um manejo alimentar inadequado para esta espécie, acontecimento que se deu principalmente pela falta de conhecimento do homem acerca do comportamento e características ingestivas e digestivas do equino (DITTRICH et al, 2010).

Já foi extensamente observado o fato de que quanto mais se distancia o manejo equino daquele encontrado na natureza, maiores são os empecilhos acarretados. A utilização de dietas ricas em amido para cavalos por exemplo, pode causar problemas digestivos e metabólicos, devido à limitada ação enzimática no intestino delgado com conseqüente fermentação rápida no intestino

grosso com risco de endotoxemia, cólica e laminite. Ademais, este mesmo plano alimentar pode levar o animal a um distúrbio metabólico denominado resistência à insulina, distúrbio identificado em cavalos obesos e praticantes de pouca atividade física (DITTRICH et al, 2010). A obesidade e a resistência à insulina têm se tornado problemas recorrentes na criação equina, e acarretam não só problemas de origem clínica e comportamental como também de origem reprodutiva (SHEPHERD et al., 2012).

Vários métodos foram desenvolvidos até o presente momento com a intenção de aperfeiçoar e tornar mais precisa a aferição do escore de condição corporal (ECC). Entre estes podem-se destacar dois métodos: O primeiro consiste na visualização e palpação de seis áreas corporais (bordo dorsal do pescoço, garrote, lombo, base da cauda, costado e a ligação da espádua com o costado) onde ocorre deposição de gordura, levando em consideração que a condição corporal é determinada pela quantidade de gordura possuída pelo animal proposta por HENNEKE et al., (1983). A partir daí atribui-se um escore levando em consideração uma escala que vai de 1 a 9 sendo 1 um animal extremamente magro e 9 um animal extremamente obeso.

A segunda técnica foi desenvolvida por GENTRY et al., (2004) e consiste na avaliação da espessura da gordura subcutânea na base da cauda através de ultrassonografia. O local de avaliação foi escolhido a partir do trabalho de HENNEKE et al., (1983) e consiste em um método objetivo de avaliação e classificação, no entanto é mais oneroso pela necessidade da utilização de aparelho de ultrassom. Devido ao maior custo da técnica sugerida por GENTRY et al., 2004, o método atualmente mais utilizado para classificação de ECC é o proposto por HENNEKE et al., (1983).

Diversos estudos foram realizados acerca da correlação entre ECC e a capacidade cíclica de éguas, e constatou-se que enquanto o ECC das éguas não acarretou diferença na taxa de crescimento do folículo dominante e níveis séricos de LH e FSH (GASTAL et al., 2004), éguas tratadas com GnRH possuindo bom ECC tiveram maior produção de LH do que aquelas com baixa condição corporal.

Ademais, o estudo realizado por GENTRY et al., (2004) foi conduzido no inverno, e durante o mesmo constatou-se que éguas com baixo índice de condição corporal se encontravam em anestro enquanto 75% das éguas com bom

escore corporal continuaram ciclando, o que pode explicar as diferenças encontradas entre os grupos assim como demonstrar uma correlação entre bons índices de escore corporal e ciclicidade anual das éguas (BENDER et al., 2014).

Relação entre reprodução e nutrição

A reprodução é um processo fisiológico que demanda grandes dispêndios energéticos do organismo (CHEHAB, 2014), e por não ser vital para a sobrevivência do indivíduo em si, ao haver balanço energético negativo, o organismo desvia a energia restante para processos fisiológicos que afetam diretamente a sobrevivência do indivíduo, fazendo assim com que a reprodução seja suspensa por falta de reserva energética para suportar a mesma (VAZQUEZ et al., 2015). Enquanto o início da puberdade marca a expectativa da vida reprodutiva da fêmea, prenhez, parto e lactação são os pontos cruciais da reprodução animal, e são alguns dos processos mais fisiologicamente complexos e que mais demandam energia do organismo (CHEHAB, 2014). Assim sendo, a maturação e função do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal é sensível às reservas corporais e o mesmo é regulado por diversos fatores nutricionais e metabólicos. No entanto, não são apenas deficiências nutricionais que acarretam problemas na reprodução, mas também situações de excesso de energia persistente, como em casos de obesidade mórbida (VAZQUEZ et al., 2015).

O fotoperíodo é o principal fator regulador do ciclo reprodutivo equino. No entanto, outros fatores como condição fisiológica, temperatura ambiental, raça, idade, patologias, metabolismo hormonal e nutrição interpretam um papel considerável na reprodução equina. Uma nutrição apropriada da égua é de suma importância tanto para a ovulação quanto para o desenvolvimento embrionário da égua prenhe, visto que a nutrição cumpre um importante papel na modulação hormonal reprodutiva da mesma (MORLEY et al., 2014).

Em espécies equinas selvagens, o inverno é acompanhado de um período anovulatório (anestro) devido às condições desfavoráveis para a reprodução. Esse anestro é uma adaptação ao meio ambiente, e desempenha um papel fundamental na sobrevivência da espécie e na garantia de sobrevivência da progênie gerada. Essa inatividade ovariana no período de inverno possivelmente

explica porque a nutrição e particularmente a ingestão energética possuem influência sobre a duração do anestro estacional e o desenvolvimento folicular da égua durante o período de monta (MORLEY et al., 2014). De fato, éguas bem alimentadas possuem uma fase folicular mais curta com níveis plasmáticos mais altos de hormônios ovarianos, um maior número de ciclos estrais anuais e um período de anestro mais curto no inverno quando comparadas com éguas com escore corporal mais baixo (MORLEY et al., 2014).

Observou-se na Inglaterra que enquanto éguas bem alimentadas tendem a ciclar o ano todo, éguas a pasto entram em anestro durante os meses de inverno quando não há oferta de pastagem, evidenciando um estímulo nutricional no ciclo reprodutivo sazonal da égua (MORLEY et al., 2014).

FRADINHO et al. (2014) Observaram em seu experimento com éguas da raça puro sangue lusitano a pasto que as maiores taxas de fertilidade (cerca de 91%) e concepção (cerca de 85%) foram de éguas com escore de condição corporal entre 3 e 3,75 (em escala variando de 0-5), concluindo assim que índices de escore corporal muito altos são tão prejudiciais quanto índices de escore corporal muito baixos para os índices reprodutivos de éguas, e estabelecendo uma correlação entre escore de condição corporal e reprodução.

Peptídeos que atuam no eixo reprodutivo equino

Leptina

A leptina é um peptídeo de 167 aminoácidos sintetizado pelos adipócitos e foi identificada em 1994 como um grande produto secretado pelo tecido adiposo branco (PARK et al., 2015). A identificação da leptina revolucionou não apenas o entendimento sobre os mecanismos fisiológicos que regulam o balanço energético e o peso corporal mas também por sua ação na sinalização da abundância energética, a leptina desempenha um importante papel como integrador neuroendócrino, sinalizando a magnitude das reservas corporais de gordura a diferentes eixos neuroendócrinos, sendo um deles o reprodutivo (VAZQUEZ et al., 2015).

A leptina possui ação direta no eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal equino sinalizando ao hipotálamo a adequação nutricional do organismo para a reprodução (BENDER et al., 2014). Sua secreção é diretamente relacionada com a quantidade de reservas de tecido adiposo branco existentes no organismo, portanto, sua concentração circulante informa diretamente a proporção das reservas de gordura do indivíduo. Assim sendo, em condições de balanço energético negativo, as concentrações de leptina decrescem, como já reportado em diversas espécies domésticas (VAZQUEZ et al., 2015).

Já foi observado em humanos que o tecido adiposo branco subcutâneo produz maiores quantidades de leptina do que o tecido adiposo visceral, e que além de ser regulada por hormônios sexuais, os níveis de leptina também são regulados por outros fatores como insulina, glicocorticoides, catecolaminas e citocinas (PARK et al., 2015).

A leptina possui funções imunológica e reprodutiva, além de modular a sensibilidade à insulina, sendo encontrada em diversos tecidos como placenta, glândula mamária, ovários, estômago e tecido linfático. Encontra-se receptores para a mesma em diversas partes do organismo como fígado, rins, coração, musculatura esquelética, pâncreas, assim como hipotálamo e adenohipofise (BENDER et al., 2014; PARK et al., 2015). A leptina possui um ciclo circadiano pulsátil de liberação, alcançando suas concentrações mais baixas no meio da tarde e seus picos de secreção no período noturno próximo à meia noite, com éguas possuindo concentrações de leptina mais altas do que garanhões ou machos castrados (BENDER et al., 2014; PARK et al., 2015). O padrão de pulsação de leptina é semelhante em indivíduos obesos e com peso ideal, no entanto, indivíduos obesos apresentam maior amplitude de pulso na liberação de leptina (PARK et al., 2015)

A influência da leptina no eixo reprodutivo já foi demonstrada através de estudos com camundongos e humanos onde observou-se infertilidade em animais e humanos leptina-deficientes assim como seu retorno à fertilidade através da administração de leptina exógena (CHEHAB, 2014). Estudos realizados com camundongos mostraram que a administração de leptina em fêmeas jovens induziu à puberdade e a aplicação de leptina em fêmeas ob/ob leptina-deficientes (inférteis) restaurou a secreção de LH e a função gonadal (GENTRY et al., 2002).

A estimulação indireta na liberação de GnRH e a potencialização na liberação de LH pela glândula hipófise na presença de GnRH também já foram observados através da aplicação de leptina em células L β T2 gonadotropas provenientes da hipófise de camundongos (AVELINO-CRUZ et al., 2009).

A leptina atua se acoplando a receptores específicos para ela (LepRs) localizados ao longo do sistema nervoso central (CNS). Quatro isomorfos (duas ou mais proteínas funcionalmente similares que possuem sequência similar mas não igual de aminoácidos) alternadamente conectados de LepR já foram identificados em seres humanos. O isomorfo longo receptor de leptina (LepRb) é fortemente expressado no hipotálamo e outras regiões cerebrais. É considerado o principal receptor de leptina e se responsabiliza pela homeostase energética e função neuroendócrina. Foi observado que a função primária do receptor longo LepRb é a supressão da ingestão de alimento e estímulo para gasto energético, e acredita-se que a função dos isomorfos curtos de LepR seja de mediar o transporte de leptina através da barreira hemato-encefálica (PARK et al., 2015).

Apesar da influência da leptina sobre a liberação de GnRH já ter sido bem estabelecida, a ausência de receptores funcionais em neurônios secretores de GnRH levou à conclusão de que a leptina atua nessa população neuronal através de vias intermediárias (ROA & TENA-SEMPERE, 2014). A acoplação da leptina ao receptor LepRb, ativa diversos caminhos de sinalização, incluindo a Janus-quinase 2 (JAK-2), transdutor de sinalização e ativador de transcrição 3 (STAT3), substrato receptor de insulina (IRS), fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K), proteína tirosina fosfatase 2 contendo SH2 (SHP2), proteína kinase mitógeno-ativada (MAPK), 5` adenosina proteína kinase monofosfato-ativada (AMPK)/Acetil-CoA carboxilase (ACC) e outras. O término da cascata de sinalização da leptina se dá através da indução do sinalizador de supressor de citocina 3 (SOCS3), o qual inibe a via de sinalização JAK2-STAT3 através de sistema de *feedback* negativo. A proteína tirosina fosfatase 1B (PTP1B) também está envolvida na inibição da sinalização de leptina (DALAMAGA et al., 2013; MOON et al., 2013; MORRIS et al., 2009 citados por PARK et al., 2015).

Já foi observado que precedendo o período anovulatório natural da égua, ocorre uma queda significativa nos níveis plasmáticos de leptina, níveis esses que voltam a aumentar logo antes do retorno da atividade ovulatória cíclica. Outro fato

observado foi o de que éguas bem alimentadas e com bom escore corporal entram em anestro posteriormente, possuem níveis plasmáticos mais altos de leptina e recuperam a atividade ovariana mais cedo do que aquelas com baixo peso corporal e escore ruim, além de haver extenso registro de éguas que nem sequer entram em anestro durante o inverno devido a um bom ECC, ciclando assim durante todo o ano (BENDER et al., 2014; MORTLEY et al., 2014).

GASTAL et al. (2010) concluíram que com apenas 48h de restrição nutricional, houve queda de cerca de 55% da concentração plasmática e intrafolicular de leptina. Até o presente momento, não foi observada relação entre essa queda de concentração de leptina e a diminuição de produção hormonal gonadal em éguas. No entanto, essa relação já foi observada e documentada em vacas (GASTAL et al., 2010).

WALLER et al., 2006 e ROMAGNOLI et al., 2007 também chegaram à conclusão de que os níveis mais baixos de leptina não influenciaram o perfil endócrino de secreção de LH, FSH, progesterona e estradiol, visto que em seus experimentos éguas com altos ou baixos níveis médios de leptina circulante (>10 e <5 ng/ml respectivamente) não diferiram quanto à secreção dos mesmos, levando os pesquisadores a crer que a atividade ovariana se deva mais diretamente à condição corporal da fêmea do que à concentração de leptina circulante em si (BENDER et al., 2014).

A falta de sucesso na indução de secreção de hormônios sexuais (FSH, LH, progesterona e estrógeno) e da indução de puberdade precoce através da aplicação direta de leptina exógena em humanos e roedores leva a crer que a leptina não possa induzir a puberdade ou liberação hormonal por si só.

No entanto, a correlação entre níveis ideais de leptina e o início da puberdade já foi constatada, indicando que a leptina possui papel permissivo (permite o progresso da puberdade caso a concentração limite seja atingida mas não deflagra o início da puberdade por si só), mas não estimulatório no controle metabólico da puberdade (VAZQUEZ et al., 2015).

Dessa maneira, níveis limite ideais de leptina devem ser atingidos para a indução da maturação púbere, manutenção da fertilidade e/ou manutenção da função reprodutiva na vida adulta. No entanto, esses mesmos níveis de leptina não são suficientes para de maneira única deflagrar todo o espectro de eventos

de maturação necessários para incitar o início da puberdade em si (VAZQUEZ et al., 2015).

Dessa maneira, conclui-se que a leptina pode não ser eficiente na utilização cotidiana dentro da reprodução equina, pelo fato de não poder induzir diretamente eventos como ovulação, indução de puberdade precoce, alteração na secreção de hormônios esteroidais e outros, no entanto sua atuação no eixo reprodutivo já foi bem estabelecida. Essa atuação da leptina no eixo reprodutivo traz mais evidências acerca da importância de um plano nutricional adequado para a obtenção de um ciclo reprodutivo de sucesso, dado o fato de que níveis limite de leptina são necessários para a indução da puberdade e manutenção do ciclo reprodutivo, e como o mesmo possui relação direta com as reservas de gordura corporais, níveis ideais de reservas de gordura corporal devem ser atingidos pela égua reprodutora a fim de atingir um funcionamento ideal do ciclo reprodutivo da mesma, potencializando o sucesso dentro da reprodução.

Kisspeptina

As kisspeptinas consistem de uma família recém-descoberta de neuropeptídeos clivados de um único precursor com 145 aminoácidos. São clivados em peptídeos de 10 a 54 aminoácidos de comprimento com atividade biológica equivalente, sendo a forma de decapeptídeo da kisspeptina (Kp-10) a forma mais comum nas espécies domésticas e a sequência de 54 aminoácidos mais comum no homem (MAGEE et al., 2012). A versão humana com 54 aminoácidos foi inicialmente nomeada metastina, devido à sua capacidade de inibição de metástases de células de melanoma (MILLAR *et al*, 2010). Já foi demonstrado que o kisspeptídeo com 54 aminoácidos apresenta eficiência ligeiramente superior na regulação do eixo reprodutivo de ratos do que o decapeptídeo Kp-10 (OKAMURA *et al*, 2013).

O gene *Kiss-1*, do qual a kisspeptina é produto, foi inicialmente isolado como um gene supressor metastático em Hershey, PA, USA em 1996. Descobriu-se que a kisspeptina é um ligante endógeno para receptor de proteína-acoplada-G (GPR-54) (OKAMURA et al., 2013). Em 2003, dois estudos independentes revelaram que mutações inativadoras do gene receptor de kisspeptina (GPR54)

foram associadas com hipogonadismo hipogonadotrópico idiopático em seres humanos (DE ROUX et al., 2003; SEMINARA et al., 2003). Ainda em 2003 e 2005, FUNES et al (2003), SEMINARA et al (2003) e MESSENGER et al (2005) confirmaram o resultado obtido do estudo com seres humanos através da geração de camundongos GPR54 nulos, que apresentaram tamanho reduzido de gônadas e níveis baixos de gonadotrofinas e hormônios esteróides, não entrando em puberdade. Os estudos mencionados determinaram a kisspeptina e a sinalização GPR54 como um novo componente determinante no eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal e incentivaram o início das intensas pesquisas relacionadas à kisspeptina na última década (OKAMURA, 2013).

Desde as primeiras observações em roedores, os efeitos da kisspeptina administrada de maneira periférica ou central na secreção de gonadotrofinas tem sido investigada em diversas espécies domésticas, com uma variedade de estudos realizados ao longo da última década demonstrando a possibilidade da utilização da kisspeptina como uma ferramenta na regulação do ciclo reprodutivo nas espécies domésticas, já tendo sido estabelecidas evidências biológicas e fisiológicas da atuação de sinalização da kisspeptina em éguas, macacos, suínos, humanos e cabras (CARATY et al., 2012, MAGEE et al., 2012, OKAMURA et al., 2013).

As kisspeptinas são sintetizadas principalmente por duas populações de células neuronais hipotalâmicas, e na última década, tem emergido como grandes reguladoras do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, se localizando acima da população celular de GnRH. A literatura científica vem enfatizando os variados campos de atuação das kisspeptinas dentro da vida reprodutiva animal, como a diferenciação sexual no cérebro, *timing* de puberdade, regulação de secreção de gonadotrofinas por hormônios gonadais, além do controle de fertilidade através de sinalização metabólica e ambiental (CARATY et al., 2012).

Já foi observado que a kisspeptina possui ação estimuladora para liberação de gonadotrofinas em diversas espécies domésticas como ovelhas, vacas e éguas, sendo o LH a gonadotrofina mais influenciada pela mesma (OKAMURA et al., 2013). Após administração de bolus intravenoso de Kp-10 em éguas, a concentração plasmática de LH apresenta uma abrupta subida, atingindo seu pico após 30 minutos de administração. O efeito estimulante da Kp-10 sobre a

liberação de LH teve aproximadamente 1h de duração em ovelhas, vacas e éguas, e concentrações de 390 nmol por animal deflagraram um aumento significativo nas concentrações plasmáticas de LH e FSH em éguas em fase luteal, no entanto, no final da fase folicular, a administração de 780 nmol de Kp-10 por animal não foi o suficiente para induzir ovulação (OKAMURA et al., 2013).

Evidências indicam que a ação da kisspeptina na liberação de gonadotrofinas se dá através da mediação central de GnRH. A maioria dos neurônios secretores de GnRH em camundongos e ovelhas expressam o gene receptor da kisspeptina *GPR54* (OKAMURA et al., 2013). Além disso, como indicado através de expressão de Fos (marcador de atividade neuronal), a administração periférica de kisspeptina deflagra ativação neuronal em ratos (MATSUI et al., 2004). SMITH et al., 2011 e LI et al., 2012 também observaram que a administração intravenosa de kisspeptina em ovelhas levou a um aumento na concentração de GnRH nas veias porta com aumento paralelo na concentração periférica de LH, enquanto TANAKA et al., 2012 observaram a mesma ocorrência em cabras.

Uma série de pesquisas levantaram a hipótese de que a kisspeptina atua duplamente no hipotálamo e na hipófise. A hipótese da possibilidade de atuação da kisspeptina na hipófise de animais domésticos se deu através da observação da existência de expressão de *GPR54* (receptor da kisspeptina) na hipófise de diversos animais, incluindo ovelhas (RICHARD et al., 2009; SMITH et al., 2008). Estudos *in vitro* concluíram que a adição de kp-10 em culturas celulares de glândula hipófise derivadas de ovelhas (1 nmol/L; SMITH et al., 2008), suínos (10 nmol/L; SUZUKI et al., 2008) e gado (1.000 nmol/L; SUZUKI et al., 2008; EZZAT et al., 2010) acarretou um aumento da concentração de LH no meio, evidenciando a conexão entre a kisspeptina e sua ação na hipófise.

Dado o fato de que o controle da ovulação é um objetivo primário na criação equina, diversos estudos foram efetuados com o objetivo de determinar a capacidade estimulante da kisspeptina na ovulação da égua. Apesar da relação entre a kisspeptina e a reprodução nos animais domésticos já estar bem estabelecida, sua atuação na indução da ovulação na égua ainda não foi bem sucedida. A administração de 780 nmol de kp-10 por cabeça não foi suficiente para induzir a ovulação de éguas no final do período folicular (OKAMURA et al.,

2013), e MAGEE et al (2009) concluíram que a administração intravenosa de uma única dose de 1mg de decapeptídeo de kisspeptina de roedor (rKp-10) também não foi eficiente na indução de ovulação em éguas em estro.

Grelina

A grelina é um hormônio derivado gástrico pleiotrópico (gerador de efeitos variados) ubíquo (presente e atuante em diversos lugares do corpo ao mesmo tempo) possuidor de diversas ações biológicas e fisiológicas (AL MASSADI et al., 2015). A versão acilada (possuidora de grupo acil funcional) da grelina foi descoberta em 1999 e descrita por KOJIMA et al (1999) como um peptídeo de 28 aminoácidos ligante endógeno do receptor secretagogo de hormônio de crescimento 1a (GHR-R1a, do inglês *ghrelin hormone secretagogue receptor-1a*), até então conhecido como receptor órfão (aquele do qual o ligante ainda não se possui conhecimento). O receptor foi posteriormente nomeado receptor de grelina.

O gene codificador da grelina gera um peptídeo de 117 aminoácidos conhecido como preprogrelina. Este codifica três produtos: a obestatina, a forma acilada da grelina e a forma des-acil, com destaque para as formas acilada (AG) possuidora de um ácido serina O-n-ectanoilado na posição 3 e des-acil (DAG) da grelina, ambas contendo 28 aminoácidos. (KOJIMA et al, 1999 citado por AL MASSADI et al, 2017; HONIG et al., 2016).

A grelina é responsável pela modulação do comportamento ingestivo do indivíduo, assim como pela adiposidade e homeostase de glicose através da atuação pelo receptor da mesma, que é abundantemente distribuído tanto no hipotálamo quanto em áreas cerebrais extra hipotalâmicas como tálamo, hipocampo, medula oblonga e outras (AL MASSADI et al., 2017 & CABRAL et al., 2013). A grelina e seu receptor já foram identificados em tecidos como intestino, rins, tireoide, pulmões, tecido linfático, hipotálamo, hipófise, placenta, rede testis e ovários, no entanto, a maior parte da grelina circulante no organismo é sintetizada por células tipo X/A presentes na porção de mucosa oxinéctica (produtora de ácido gástrico) do estômago (GUPTA et al., 2015). Evidências recentes indicam a

atuação direta da grelina na atividade ovariana, com a presença tanto da grelina quanto de seu receptor (GHS-R1a) já tendo sido observadas nos ovários de humanos (GAYTAN et al., 2003), ratos (CAMINOS et al., 2003), ovelhas (DU et al., 2009), cabras (CHANDRA et al., 2012), suínos (RAK-MARDYLA & GREGORASZCZUK, 2012), bovinos (DEAVER et al., 2013) e bubalinos (GUPTA et al., 2015). DEAVER et al (2013) trouxeram evidências de origem molecular da presença de grelina e seu receptor GHS-1a por todo o trato reprodutivo de bovinos da raça Holstein. mRNA de grelina e GHS-R1a, foram detectados ao longo de todo o trato reprodutivo dos animais, com concentrações mais altas na região da ampola do oviduto.

Dentro do sistema nervoso central, o receptor da grelina (GHS-R1a) é expresso em diversas áreas cerebrais como hipotálamo, área tegumentar ventral, núcleos de rafe dorsais, hipocampo, *substantia nigra* e córtex (AL MASSADI et al., 2015).

A vasta expressão de receptores GHS-R1a evidencia a amplitude de ação da grelina dentro do organismo dos animais domésticos e seres humanos em diversos processos biológicos, podendo potencialmente influenciar o metabolismo de glicose, pressão cardíaca, adiposidade, fertilidade, memória, aprendizado, vias de expressão relacionadas a recompensas ou reprodução devido à sua ação orexígena (estimuladora do apetite e da ingestão alimentar) (AL MASSADI et al., 2014; CASTANEDA et al., 2010; HEPPNER & TONG, 2014; ROA et al., 2010; SKIBICKA & DISCKSON, 2011; TENA-SEMPERE, 2008; TENA-SEMPERE, 2013 citados por MASSADI et al., 2015).

HONIG et al (2016) observaram em vacas leiteiras Holstein que em animais múltiparos, os níveis de secreção de grelina acilada oscilaram durante o ciclo estral tanto durante o verão quanto durante o inverno, com seus níveis médios de concentração atingindo seu pico durante os últimos dias da primeira onda folicular e nos dias precedentes e durante a ovulação. Ademais, foi observado que níveis mais elevados de grelina acilada foram associados com sucesso na concepção desses animais, e que níveis plasmáticos elevados de grelina total foram correlacionados com sucesso de concepção na primeira inseminação, demonstrando mais uma vez a correlação entre grelina e

reprodução animal e enfatizando a importância da grelina como possível fator determinante no sucesso de concepção desses animais.

Em 2014a, DOVOLOU et al observaram que oócitos *in vitro* quando em presença de grelina, apresentaram uma aceleração significativa na sua maturação e expansão das células do *cumulus*, quando maturados por um período de 18 horas, apresentando uma possível explanação acerca da função exercida pela grelina encontrada em ovários de diversas espécies domésticas e de mulheres. No entanto, no mesmo experimento DOVOLOU et al (2014a) observaram que oócitos maturados por 24 horas apresentaram maturação excessiva, com envelhecimento dos mesmos. Ainda em 2014b, DOVOLOU et al investigaram se a grelina possuía a capacidade de afetar o potencial de desenvolvimento de embriões produzidos *in vitro*, além de testar a qualidade dos mesmos com relação à abundância de diversos genes relacionados ao metabolismo, apoptose e oxidação. Embora o mecanismo preciso de atuação da grelina não tenha sido descrito, foi observado que existe um aumento na taxa de formação e eclosão de blastocistos *in vitro* provenientes de oócitos tratados com grelina (adição de 800 pg/mL no meio de cultivo) quando comparados com oócitos não tratados.

De maneira central a ação da grelina sobre a liberação pulsátil de gonadotrofinas – em especial LH - é de natureza inibitória, acarretando a inibição dos neurônios hipofisários de GnRH e/ou devido à sua ação direta na hipófise (DOVOLOU et al., 2014a).

Conclusão

O eixo reprodutivo equino é influenciado por diversos fatores endógenos e exógenos. Apesar da relação entre nutrição e reprodução equina já ser estabelecida, os mecanismos específicos dessa interligação ainda precisam ser esclarecidos. Mesmo que a atuação de peptinas como a kisspeptina, leptina e a grelina no eixo reprodutivo equino já tenha sido parcialmente elucidada, outros estudos são necessários para o esclarecer o mecanismo preciso de atuação de cada um destes no eixo hipotalâmico-gonadal da égua. Embora os peptídeos aqui

mencionados não possuem utilização direta a campo no controle da ovulação e reprodução equina como um todo, seu papel permissivo é claro, e evidencia a importância de um plano nutricional ideal dentro da reprodução a fim de maximizar o sucesso reprodutivo permitindo um desenvolvimento regulado e natural da fêmea equina dentro dos diversos estágios da vida reprodutiva da mesma, garantindo de igual maneira sua longevidade reprodutiva.

Referências

AL MASSADI, O.; LOPEZ, M.; TSCHOP, M.; DIEGUEZ, C.; NOGUEIRAS, R. Current understanding of the hypothalamic ghrelin pathways inducing appetite and adiposity. **Trends in Neurosciences**, v.40, p.167-180, 2017.

AL MASSADI, O.; LOPEZ, M.; FERNØ, J.; DIEGEZ, C.; NOGUEIRAS, R. What is the real relevance of endogenous ghrelin? **Peptides**, v.70, p.1-6, 2015.

AL MASSADI, O.; LEAR, P. V.; MULLER, T.D.; LOPEZ, M.; DIEGUEZ, C.; TSCHOP, M. H. Review of novel aspects of the regulation of ghrelin secretion. **Current Drug Metabolism**, v.15, p.398–413, 2014.

AURICH, C. Reproductive cycles in horses. **Animal Reproduction Science**, v.124, p.220-228, 2011.

AVELINO-CRUZ, J. E.; FLORES, A.; CEBADA, J.; MELLON, P. L.; FELIX, R.; MONJARAZ, E. Leptin increases L-type Ca²⁺ channel expression and GnRH-stimulated LH release in LT2 gonadotropes. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v.298, p.57-65, 2009.

BENDER, E. S. C.; SAMPAIO, B. F. B.; NOGUEIRA, B. G.; COSTA-E-SILVA, E. V.; ZUCCARI, C. E. S. N. Condição corporal e atividade reprodutiva das éguas. **Archivos de Zootecnia**, v.63, p.55-67, 2014.

CABRAL, A.; FERNANDEZ, G.; PERELLO, M. Analysis of brain nuclei accessible to ghrelin present in the cerebrospinal fluid. **Neuroscience**, v.253, p.406-415, 2013.

CAMINOS, J. E.; TENA-SEMPERE, M.; GAYTAN, F.; SANCHEZ-CRIADO, J. E.; BARREIRO, M. L.; NOGUEIRAS, R.; CASANUEVA, F. F.; AGUILAR, E.; DIEGUEZ, C. Expression of ghrelin in the cyclic and pregnant rat ovary. **Endocrinology**, v.144, p.1594–1602, 2003.

CARATY, A.; DECOURT, C.; BRIANT, C.; BELTAMO, M. Kisspeptins and the reproductive axis: potential applications to manage reproduction in farm animals. **Domestic Animal Endocrinology**, v.43, p.95-102, 2012.

CASTANEDA, T. R.; TONG, J.; DATTA, R.; CULLER, M.; TSCHOP, M. H. Ghrelin in the regulation of body weight and metabolism. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v.31, p.44–60, 2010.

CHANDRA, V.; RAM, H.; SHARMA, A. K. Expression profile of ghrelin and ghrelin receptor in cyclic goat ovary. **Indian Journal of Animal Science**, v.82, p.984–987, 2012.

CHEHAB, F. F. Leptin and reproduction: past milestones, present undertakings, and future endeavors. **Journal of Endocrinology**, v.223, p.T73-T74, 2014.

DALAMAGA, M.; CHOU, S.H.; SHIELDS, K. Leptin at the intersection of neuroendocrinology and metabolism: current evidence and therapeutic perspectives. **Cell Metabolism**, v.18, p.29–42, 2013.

DEAVER, S. E.; HOYER, P. B.; DIAL, S. M.; FIELD, M. E.; COLLIER, R. J.; RHOADS, M. L. Localization of ghrelin and its receptor in the reproductive tract of Holstein heifers. **Journal of Dairy Science**, v.96, p.150–157, 2013.

DE ROUX, N.; GENIN, E.; CAREL, J.C.; MATSUDA, F.; CHAUSSAIN, J.L.; MILGROM, E. Hypogonadotropic hypogonadism due to loss of function of the KiSS1-derived peptide receptor GPR54. In: PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA, v.100, p.10972–10976, 2003.

DITTRICH, J. R.; MELO, H. A.; AFONSO, A. M. C. F.; DITTRICH, R. L. Comportamento ingestivo de equinos e a relação com o aproveitamento das forragens e bem estar dos animais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.130-137, 2010.

DOVOLOU, E.; MESSINIS, I. E.; PERIQUESTA, E.; DAFOPOULOS, K.; GUTIERREZ-ADAN, A.; AMIRIDIS, G. S. Ghrelin accelerates *in vitro* maturation of bovine oocytes. **Reproduction in Domestic Animals**, v.49, p.665-672, 2014a.

DOVOLOU, E.; PERIQUESTA, E.; MESSINIS, I. E.; TSILIGIANNI, T.; DAFOPOULOS, K.; GUTIERREZ-ADAN, A.; AMIRIDIS, G. S. Daily supplementation with ghrelin improves *in vitro* bovine blastocysts formation rate and alters gene expression related to embryo quality. **Theriogenology**, v.81, p.565-571, 2014b.

DU, C.; XILINGAOWA, CAO, G.; WANG, C.; LI, H.; ZHAO, Y.; SIQINGAOWA, CAO, J. Expression of orexigenic peptide ghrelin in sheep ovary. **Domestic Animal Endocrinology**, v.36, p.89–98, 2009.

EZZAT, A. A.; SAITO, H.; SAWADA, T.; YAEGASHI, T.; GOTO, Y.; NAKAJIMA, Y.; JIN, J.; YAMASHITA, T.; SAWAI, K.; HASHIZUME, T. The role of sexual steroid hormones in the direct stimulation by kisspeptin-10 of the secretion of luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone and prolactin from bovine anterior pituitary cells. **Animal Reproduction Science**, v.121, p.267–272, 2010.

FRADINHO, M. J.; CORREIA, M. J.; GRACIO, V.; BLIEBERNICHT, M.; FARRIM, A.; MATEUS, L.; MARTIN-ROSSET, W.; BESSA, R. J. B.; CALDEIRA, R. M.; FERREIRA-DIAS, G. Effects of body condition and leptin on the reproductive performance of Lusitano mares on extensive systems. **Theriogenology**, v.81, p.1214-1222, 2014.

FUNES, S.; HEDRICK, J. A.; VASSILEVA, G.; MARKOWITZ, L., ABBONDANZO, S.; GOLOVKO, A.; YANG, S.; MONSMA, F. J.; GUSTAFSON, E. L. The KiSS-1 receptor GPR54 is essential for the development of the murine reproductive system. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.312, p.1357–1363, 2003.

GASTAL, M. O.; GASTAL, E. L.; SPINELLI, V.; GINTHER, O. J. Relationship between body condition and follicle development in mares. **Animal Reproduction**, v.1, p.115-121, 2004.

GASTAL, M. O.; GASTAL, E. L.; BEG, M. A.; GINTHER, O. J. Short-term feed restriction decreases the systemic and intrafollicular concentrations of leptin and increases the vascularity of the preovulatory follicle in mares. **Theriogenology** v. 73, p. 1202-1209, 2010.

GAYTAN, F.; BARREIRO, M. L.; CHOPIN, L. K.; HERINGTON, A. C.; MORALES, C.; PINILLA, L.; CASANUEVA, F. F.; AGUILAR, E.; DIEGUEZ, C.; TENA-SEMPERE, M. Immunolocalization of ghrelin and its functional receptor, the type 1a growth hormone secretagogue receptor, in the cyclic human ovary. **Journal of Clinical Endocrinology Metabolism**, v.88, p.879–887, 2003.

GENTRY, L. R.; THOMPSON, Jr. D. L.; GENTRY, Jr. G. T.; DEL-VECCHIO, R. P.; DAVIS, K. A.; DEL-VECCHIO, P. M. The relationship between body condition score and ultrasonic fat measurements in mares of high versus low body condition. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.24 p.198-203, 2004.

GINTHER, O. J.; GASTAL, M. O.; GASTAL, E. L.; BEG, M. A. Regulation of circulating gonadotropins by the negative effects of ovarian hormones in mares. **Biology of Reproduction**, v.73, p.315-323, 2005.

GINTHER, O. J., ALMAMUN, M., SHAHIDUZZAMAN, A. K. M.; BEG, M. A. Disruption of the periovulatory LH surge by a transient increase in circulating 17_{beta}-estradiol at the time of ovulation in mares. **Animal Reproduction Science**, v.117, p.178–182, 2010.

GUPTA, M.; DANGI, S. S.; SINGH, G.; SARKAR, M. Expression and localization of ghrelin and its receptor in ovarian follicles during different stages of

development and the modulatory effect of ghrelin on granulosa cells function in buffalo. **General and Comparative Endocrinology**, v.210, p.87-95, 2015.

HENNEKE, D. R.; POTTER, G. D.; KREIDER, J. L.; YEATES, B. F. Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. **Equine Veterinary Journal**, v.15, p.371- 372, 1983.

HEPPNER, K. M.; TONG, J. Mechanisms in endocrinology: regulation of glucose metabolism by the ghrelin system: multiple players and multiple actions. **European Journal of Endocrinology**, v.171, p.21–32, 2014.

KOJIMA, M.; HOSODA, H.; DATE, Y.; NAKAZATO, M.; MATSUO, H.; KANGAWA, K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. **Nature**, v.402, p.656-660, 1999.

HONIG, H.; OFER, L.; ELBAZ, M.; KAIM, M.; SHINDER, D.; GERSHON, E. Seasonal and parity effects of ghrelin levels throughout the estrous cycle in dairy cows. **General and Comparative Endocrinology**, v.235, p.64-69, 2016.

LI, Q.; ROA, A.; CLARKE, I. J.; SMITH, J. T. Seasonal variation in the gonadotropin-releasing hormone response to kisspeptin in sheep: possible kisspeptin regulation of the kisspeptin receptor. **Neuroendocrinology**, v.96, p.212–221, 2012.

MAGEE, C.; FORADORI, C. D.; BRUEMMER, J. E.; ARREQUIN-ARREVALO, J. A.; McCUE, P. M.; HANDA, R. J.; SQUIRES, E. L.; CLAY, C. M. Biological and anatomical evidence for kisspeptin regulation of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis of estrous horse mares. **Neuroendocrinology**, v.150, p.2813-2821, 2009.

MAGEE, C.; BRUEMMER, J. E.; NETT, T. M.; SQUIRES, E. L.; CLAY, C. M. Kisspeptide in the estrous mare: Is it an appropriate ovulation-inducing agent?, **Theriogenology**, v.78, p.1987-1996, 2012.

MATSUI, H.; TAKATSU, Y.; KUMANO, S.; MATSUMOTO, H.; OHTAKI, T. Peripheral administration of metastin induces marked gonadotropin release and ovulation in the rat. In: **BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS**, v.320, p.383–388, 2004.

MILLAR, R. P.; ROSEWEIR, A. K.; TELLO, J. A.; ANDERSON, R. A.; GEORGE, J. T.; MORGAN, K.; PAWSON, A. J. Kisspeptin antagonists: Unraveling the role of kisspeptin in reproductive physiology. **Brain Research**, v.1364 p.81-89, 2010.

MOON, H. S.; DALAMAGA, M.; KIM, S. Y. Leptin's role in lipodystrophic and nonlipodystrophic insulin-resistant and diabetic individuals. **Endocrinology Review**, v.34, p.377–412, 2013.

MORLEY, S. A. & MURRAY, J. A. Effects of body condition score on the reproductive physiology of the broodmare: a review. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.34, p. 842-853, 2014.

MORRIS, D. L. & RUI, L. Recent advances in understanding leptin signaling and leptin resistance. **American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism**, v.297, p.1247–59, 2009.

MESSAGER, S.; CHATZIDAKI, E. E.; MA, D.; HENDRICK, A. G.; ZAHN, D.; DIXON, J.; THRESHER, R. R.; MALINGE, I.; LOMET, D.; CARLTON, M. B. L.; COLLEDGE, W. H.; CARATY, A.; APARICIO, S. A. Kisspeptin directly stimulates gonadotropin-releasing hormone release via G protein-coupled receptor 54. In: PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA, v.102, p.1761–1766, 2005.

OKAMURA, H.; YAMAMURA, T.; WAKABAYASHI, Y. Kisspeptin as a master player in the central control of reproduction in mammals: An overview of kisspeptin research in domestic animals. **Animal Science Journal**, v.84, p. 369-381. 2013.

PARK, H-K. & AHIMA, R. S. Physiology of leptin: energy homeostasis, neuroendocrine function and metabolism. **Metabolism clinical and experimental**, v.64, p.24-34, 2015.

RAK, A.; GREGORASZCZUK, E. L. Modulatory effect of ghrelin in prepubertal porcine ovarian follicles. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v.59, p.781–793, 2008.

RICHARD, N.; CORVAISIER, S.; CAMACHO, E.; KOTTLER, M-L. KiSS-1 and GPR54 at the pituitary level: overview and recent insights. **Peptides**, v.30, p.123–129, 2009.

ROA, J.; TENA-SEMPERE, M. Connecting metabolism and reproduction: Roles of central energy sensors and key molecular mediators. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v.397, p.4-14, 2014.

ROA, J.; GARCIA-GALIANO, D.; CASTELLANO, J. M.; GAYTAN, F.; PINILLA, L.; TENA-SEMPERE, M. Metabolic control of puberty onset: new players, new mechanisms. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v.324, p.87–94, 2010.

ROMAGNOLI, U.; MACCHI, E.; ROMANO, G.; MOTTA, M.; ACCORNERO, P.; BARATTA M. Leptin concentrations in plasma and milk during the interpartum period in the mare. **Animal Reproduction Science** v.97, p.180-185, 2007.

SEMINARA, S. B.; MESSAGER, S.; CHATZIDAKI, E. E.; THRESHER, R. R.; ACIERNO, J. S.; SHAGOURY, J. K.; BO-ABBAS, Y.; KUOHUNG, W.; SCHWINOF, K. M.; HENDRICK, A. G.; ZAHN, D.; DIXON, J.; KAISER, U. B.; SLAUGENHAUPT, S. A.; GUSELLA, J. F.; O'RAHILLY, S.; CARLTON M. B.; CROULEY, W. F. Jr; ARARICIO, S. A.; COLLEDGE, W.H. The GPR54 gene as a

regulator of puberty. **The New England Journal of Medicine**, v.349, p.1614–1627, 2003.

SHEPHERD, M. L.; PLEASANT, R. S.; CRISMAN, M. V.; WERE, S. R.; MILTON, S. C.; SWECKER, Jr. W. S. Effects of high and moderate non-structural carbohydrate hay on insulin, glucose, triglyceride, and leptin concentrations in overweight Arabian geldings. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.96, p.428-435, 2012.

SKIBICKA, K. P.; DICKSON, S. L. Ghrelin and food reward: the story of potential under-lying substrates. **Peptides**, V.32, P.2265–2273, 2011.

SMITH, J. T.; RAO, A.; PEREIRA, A.; CARATY, A.; MILLAR, R. P.; CLARKE, I. J. Kisspeptin is present in ovine hypophysial portal blood but does not increase during the preovulatory luteinizing hormone surge: evidence that gonadotropes are not direct targets of kisspeptin in vivo. **Endocrinology**, v.149, p.1951–1959, 2008.

SMITH, J. T.; LI, Q.; YAP K. S.; SHAHAB, M.; ROSEWEIR, A. K.; MILLAR, R. P.; CLARKE I. J. Kisspeptin is essential for the full preovulatory LH surge and stimulates GnRH release from the isolated ovine median eminence. **Endocrinology**, v.152, p.1001–1012, 2011.

SUZUKI, S.; KADOKAWA, H.; HASHIZUME, T. Direct kisspeptin-10 stimulation on luteinizing hormone secretion from bovine and porcine anterior pituitary cells. **Animal Reproduction Science**, v.103, p.360–365, 2008.

TANAKA, T.; OHKURA, S.; WAKABAYASHI, Y.; OKAMURA, H. Effect of peripherally administered kisspeptin-10 on GnRH neurosecretion into the hypophyseal portal circulation in ovariectomized goat does. **Small Ruminant Research**, v.105, p.273–276, 2012.

TENA-SEMPERE, M. Ghrelin, the gonadal axis and the onset of puberty. **Endocrine Development**, v.25, p.69–82, 2013.

TENA-SEMPERE, M. Ghrelin as a pleiotropic modulator of gonadal function and reproduction. **Nature Clinical Practice Endocrinology & Metabolism**, v.4, p.666–674, 2008.

VAZQUEZ, M. J.; ROMERO-RUIZ, A.; TENA-SEMPERE, M. Roles of leptin in reproduction, pregnancy and polycystic ovary syndrome: consensus knowledge and recent developments. **Metabolism Clinical and Experimental**, v.64, p.79-91, 2015.

WALLER, C. A.; THOMPSON, Jr. D.L.; CARTMILL, J. A.; STORER, W. A.; HUFF, N. K. Reproduction in high body condition mares with high versus low leptin concentrations. **Theriogenology**, v.66, p.923-928, 2006.

WILLIAMS, G. R.; THORSON, J. F.; PREZOTTO, L. D.; VELEZ, I. C.; CARDOSO, R. C.; AMSTALDEN, M. Reproductive seasonality in the mare: neuroendocrine

basis and pharmacologic control. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 43, p. 103-115, 2012.