

Perfil sérico hormonal de un dispositivo intravaginal liberador de progesterona en ovejas

Gómez, M.V.¹; Soto, A.T.¹; Migliorisi, A.L.¹; Mestorino, N.³; Sota, R.L.^{1,2}

¹Instit. Investig. Reprod. Anim. (INIRA), Fac. Cs. Vet. Univ. Nac.

La Plata, Argentina. ²Laborat. Estud. Farm. y Toxicol. FCV-UNLP. ³CONICET, Buenos Aires, Argentina.

E-mail: verano@fcv.unlp.edu.ar

Resumen

Gómez, M.V.; Soto, A.T.; Migliorisi, A.L.; Mestorino, N.; Sota, R.L. *Perfil sérico hormonal de un dispositivo intravaginal liberador de progesterona en ovejas.* Rev. Vet. 32: 2, 206-210, 2021. Los dispositivos intravaginales (DIV) con 300 mg de progesterona (P₄) pueden reutilizarse en los protocolos de sincronización en ovinos con una duración de hasta 7 días. La reutilización de DIV con menor concentración hormonal, así como estudios farmacocinéticos a través del análisis no compartimental de las concentraciones hormonales luego de la colocación de dispositivos de 1° o 2° uso no han sido descriptos previamente. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la utilización y reutilización de dispositivos intravaginales con una concentración inicial de 160 mg de P₄. Para ello se utilizaron 20 ovejas que conformaron cinco grupos: control (sin DIV), CIDN (DIV 300 mg P₄ 1° uso), CIDU (DIV 300 mg P₄ 2° uso), CRON (DIV 160 mg P₄ 1° uso) y CROU (DIV 300 mg P₄ 2° uso). Las valoraciones séricas hormonales se realizaron a través de radioinmunoensayo. La concentración máxima y el tiempo medio de residencia fueron similares entre CIDN Y CRON, en cambio CIDU presentó una concentración máxima y un tiempo medio de residencia mayor que CROU. Además, CROU presentó concentraciones séricas sub-luteales a partir de las 48 h de colocado y liberó un 68,5% menos de P₄ que CIDU y un 72,5% menos que CRON. En base a los resultados obtenidos, la reutilización de DIV con menor concentración hormonal provocaría niveles sub-luteales que posiblemente afectarían la fertilidad.

Palabras clave: dispositivo intra-vaginal, reuso, progesterona, ovinos.

Abstract

Gómez, M.V.; Soto, A.T.; Migliorisi, A.L.; Mestorino, N.; Sota, R.L. *Evaluation of the serum hormonal profile with a progesterone-releasing intravaginal device in sheep.* Rev. Vet. 32: 2, 206-210, 2021. Intravaginal devices (IVD) with 300 mg of progesterone (P₄) can be reused in sheep synchronization protocols with a duration of up to 7 days. The reuse of IVD with lower hormonal concentration, as well as pharmacokinetic studies through non-compartmental analysis of hormonal concentrations after the insertion of 1st or 2nd use devices have not been described previously. The objective of this work was to evaluate the use and reuse of IVD with an initial concentration of 160 mg of P₄. For this, 20 sheep were used that made up five groups: control (without DIV), CIDN (IVD 300 mg P₄ 1st use), CIDU (IVD 300 mg P₄ 2nd use), CRON (IVD 160 mg P₄ 1st use), and CROU (IVD 300 mg P₄ 2nd use). Hormonal serum samples were analyzed by radioimmunoassay. The maximum concentration and the mean residence time were similar between CIDN and CRON, whereas CIDU presented a maximum concentration and a mean residence time greater than CROU. Also, CROU presented sub luteal serum concentrations 48 h after placement and released 68.5% less P₄ than CIDU and 72.5% less than CRON. Based on the results obtained, the reuse of IVD with a lower hormonal concentration would cause sub luteal levels that could affect fertility.

Key words: intra-vaginal device, reuse, progesterone, sheep

INTRODUCCIÓN

La utilización de dispositivos intravaginales (DIV) de liberación de progesterona (P₄) para la sincronización de celos en ovinos, comenzó a mediados de la década de 1980 como una alternativa a las esponjas intravaginales⁷. Estudios realizados en Brasil y Uru-

guay dan cuenta de DIV conteniendo 300 mg de P₄, utilizados hasta en tres oportunidades con porcentajes de celos y ovulación entre 80% y 100% en pequeños rumiantes^{6, 8-11}.

Las hembras con DIV de primero y segundo uso tuvieron concentraciones séricas de P₄ superiores a los 2 ng/ml^{10, 11}. Sin embargo, las concentraciones séricas

fueron inferiores a 2 ng/ml en animales con DIV de tercer uso¹¹, lo que podría promover el crecimiento excesivo y la persistencia del folículo de mayor tamaño^{2,12}.

No existe información sobre las concentraciones de P_4 alcanzadas con DIV que contengan menor concentración hormonal inicial ni resultados de estudios farmacocinéticos mediante análisis no compartimental de las concentraciones séricas de P_4 luego de la colocación de DIV nuevos o usados en ovejas.

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la utilización y reutilización de DIV con una concentración inicial de 160 mg de P_4 .

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales

El estudio se realizó durante la estación reproductiva en el predio de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata, Argentina, de acuerdo con las recomendaciones internacionales especificadas en la guía para el cuidado y uso de los animales de laboratorio³ y el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de FCV-UNLP.

Se utilizaron hembras ovinas $\frac{3}{4}$ Texel (n=20) con una condición corporal entre 2,5 y 3,0 (1 emaciada a 5 gorda), las cuales fueron alimentadas con heno de alfalfa y balanceado comercial, con acceso *ad-libitum* al agua de bebida. Se utilizaron DIV nuevos y usados con 300 mg de P_4 y con 160 mg P_4 .

Todos los DIV usados fueron colocados, previo al inicio del experimento, en ovejas durante 7 días para que se consuma el contenido de P_4 equivalente a un solo uso. Luego del retiro de los DIV, éstos fueron lavados, sanitizados y mantenidos en un lugar seco y oscuro hasta su posterior reutilización¹⁰.

Siete días previos al inicio del experimento, todas las hembras recibieron una dosis de 75 μ g de cloprostenol, el cual se repitió al día 1 con la finalidad de provocar la luteólisis y asegurar la ausencia de P_4 endógena durante el experimento. El día 0 correspondió a la colocación del DIV (Figura 2.1). Las ovejas fueron asignadas en forma aleatoria a 5 grupos experimentales: CON: grupo control (n=4) animales sin DIV; CRON: Grupo DIV 160 mg P_4 de 1° uso (n=4), animales con DIV nuevo; CROU: Grupo DIV 160 mg P_4 2° uso (n=4), animales con DIV usado; CIDN: Grupo DIV 300 mg de P_4 de 1° uso (n=4), animales con DIV nuevo; CIDU: Grupo DIV 300 mg de P_4 de 2° uso: (n=4), animales con DIV usado.

Siete días más tarde se retiraron los DIV y al día 18 se aplicó una dosis de 75 μ g de cloprostenol para inducir la luteólisis y asegurar la ausencia de P_4 endógena. En el día 19 se repitió el experimento.

Determinación de progesterona

En ambas réplicas experimentales, se recolectaron muestras de sangre por venopunción yugular a la hora 0 (antes de la colocación del DIV), a las 12, 24, 36, 48, 72, 84, 96, 108, 120, 136, 144, 156 y 168 h luego del

inicio de los tratamientos. Además, se realizaron dos ventanas de sangrado, una primera ventana a las 2, 4, 6, 8 y 10 h; y otra a las 170, 172, 174, 176, y 178 h del inicio de cada réplica.

Las muestras sanguíneas se centrifugaron durante 10 min a 2000 rpm y los sueros se almacenaron a -20°C hasta su análisis. Las determinaciones de P_4 se realizaron por medio de la técnica de radio-inmuno-ensayo a través de un kit comercial. Los valores de control bajo fueron 0,5, 0,7 y 0,8 ng/ml y los valores de control alto fueron 5,0, 4,5 y 7,7 ng/ml. El coeficiente de variación (CV) intraensayo fue del 9,4 % y el CV inter-ensayo fue del 11,6 % para el pool bajo y para el pool alto fue del 4,2 % y del 6,3 %, respectivamente.

Análisis estadístico

Los datos se presentan como cuadrados medios mínimos \pm error estándar. La significancia estadística fue fijada en $P < 0,05$. La oveja fue considerada la unidad experimental. Las concentraciones séricas de P_4 (ng/ml) fueron analizadas mediante análisis de varianza utilizando el procedimiento MIXED de SAS® como mediciones repetidas en el tiempo⁸. El modelo incluyó el efecto aleatorio de la oveja y el efecto fijo del tiempo (día del tratamiento), tratamiento (CON, CRON, CIDN, CROU, CIDU) y la interacción de tiempo por tratamiento.

El análisis farmacocinético de los datos de concentración de P_4 en función del tiempo obtenidos, se realizó mediante el programa *Phoenix*. Los parámetros farmacocinéticos analizados fueron la concentración máxima observada (C_{\max}), el tiempo de ocurrencia de la concentración máxima (T_{\max}), el área bajo la curva de concentración en función del tiempo desde el día 0 hasta el día 7 (ABC_{0-7d}), el ABC extrapolado al infinito ($ABC_{0-\infty}$) y el tiempo medio de residencia de la partícula en el sistema (TMR).

El análisis estadístico de los resultados del estudio farmacocinético se realizó mediante análisis de varianza utilizando el procedimiento GLM de SAS®. El modelo incluyó el efecto fijo de tratamiento (CON, CRON, CIDN, CROU, CIDU). El nivel de significancia fue fijado en $P < 0,05$.

RESULTADOS

Al inicio de cada réplica, las concentraciones séricas de P_4 en todos los grupos experimentales fueron menores a 1 ng/ml, confirmando la ausencia de cuerpo lúteo durante el experimento (Figuras 1 y 2). Luego de la inserción de los DIV, el T_{\max} fue alcanzado entre las 4,5 y 15,7 h, sin presentar diferencias significativas entre grupos (Tabla 1; $p > 0,05$). La C_{\max} alcanzada fue similar entre CIDN y CRON (Tabla 1; $p > 0,05$). En cambio, el grupo CIDU tuvo mayor concentración sérica que el grupo CROU (Tabla 1; $p < 0,05$).

Así mismo, las hembras del grupo CROU presentaron concentraciones séricas menores a 2 ng/ml a partir de las 48 h de colocado el DIV (Figura 2). El TMR fue

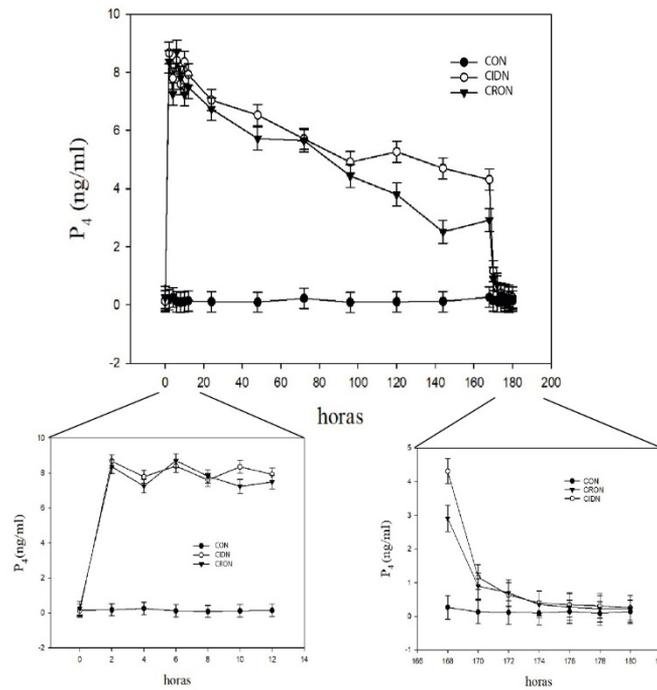


Figura 1. Concentraciones séricas de P_4 (ng/ml) en ovejas luego de la inserción de un DIV nuevo. CON: grupo control; CIDN: DIV 300 mg de P_4 de 1° uso, CRON: DIV 160 mg P_4 1° uso.

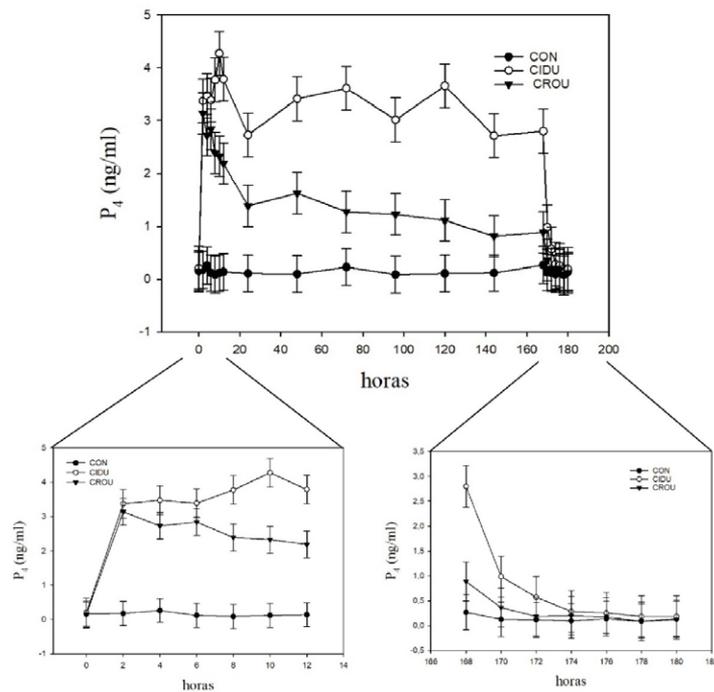


Figura 2. Concentraciones séricas de P_4 (ng/ml) en ovejas luego de la inserción de un DIV usado (cuadrados medios mínimos \pm error estándar). CON: sin DIV; CIDU: DIV 300 mg P_4 2° uso y CROU: DIV 160 mg P_4 2° uso.

similar entre DIV nuevos y entre DIV nuevos vs. usados (Tabla 1; $p > 0,05$). En cambio, al comparar entre los DIV usados, el TMR fue mayor en CIDU que en CROU (Tabla 1; $p < 0,05$).

El análisis farmacocinético no compartimental determinó que el ABC_{0-7d} fue similar entre grupos CIDN y CRON ($p: 0,05$; Tabla 1). Asimismo, los grupos CIDU y CROU presentaron diferencias significativas entre sí ($p < 0,05$) y con los grupos con DIV nuevos ($p < 0,05$; Ta-

bla 1). En términos absolutos, el CIDU liberó un 41,20% menos de P_4 que el CIDN (Figura 2.3), y el CROU liberó un 72,5% menos de P_4 que CRON (Figura 2.3).

A pesar de que no hubo diferencias significativas en la liberación de P_4 entre los CIDN y CRON, el CROU liberó un 68,5% menos de P_4 que el CIDU (Figura 2.3). Al analizarse el $ABC_{0-\infty}$, se tuvieron resultados similares a los correspondientes al ABC_{0-7d} .

Tabla 1 Parámetros farmacocinéticos de las concentraciones séricas de P₄ tras la aplicación de DIV nuevo y usado (cuadrado medio mínimo ± error estándar) en ovejas.

grupo	ABC ₀₋₇ (ng h/ml)	ABC _{0-∞} (ng h/ml)	C _{max} (ng/ml)	T _{max} (h)	TMR (h)
CIDN	980,73±88,19 ^a	982,37±88,53 ^a	10,80±1,03 ^a	7,00±1,06	75,64±2,49
CRON	822,93±103,54 ^a	830,56±103,12 ^a	10,18±1 ^a	4,50±0,82	68,85±2,24
CIDU	586,48±66,39 ^{b,c}	589,42±65,63 ^{b,c}	5,51±0,86 ^{b,c}	15,75±8,16	81,22±1,55 ^c
CROU	226,15±33,16 ^{b,d}	231,00±36,12 ^{b,d}	3,48±0,40 ^{b,d}	6,25±,571	71,04±1,74 ^d

ABC₀₋₇: área bajo la curva concentración hasta los 7 d. ABC_{0-∞}: área bajo la curva concentración extrapolada al infinito.

C_{max}: concentración sérica máxima. T_{max}: tiempo a la concentración máxima. TMR: tiempo medio de residencia. Valores en una columna con diferentes superíndices, difieren al p<0.05.

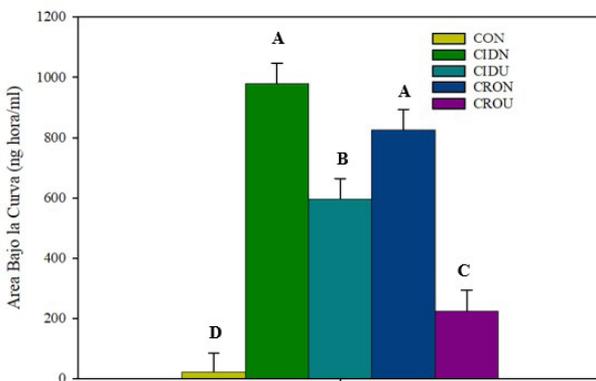


Figura 3. Área bajo la curva de las concentraciones séricas de P₄ (ng hora/ml) en ovejas. CON: sin DIV, CRON: DIV 160 mg P₄ 1° uso, CIDN, DIV 300 mg P₄ 1° uso, CROU: DIV 160 mg P₄ 2° uso, CIDU: DIV 300mg P₄ 2° uso. Barras con diferentes letras difieren al p<0.05.

DISCUSIÓN

En nuestro conocimiento, este es el primer trabajo que realiza un estudio sobre la farmacocinética mediante análisis no compartimental de las concentraciones séricas de P₄ en DIV nuevos o usados. De los DIV con 160 mg P₄ utilizados, sólo las ovejas del grupo CRON presentaron concentraciones de P₄>2 ng/ml durante el período de 7 días estudiados mientras que el grupo CROU presentó concentraciones sub-luteales de P₄ (<2 ng/ml) a partir de las 48 h de colocado el DIV.

Estas concentraciones séricas hormonales, posiblemente promoviesen el crecimiento excesivo y la persistencia del foliculo de mayor tamaño, así como el envejecimiento del foliculo ovulatorio^{3,12}. Si bien algunos trabajos previos estudiaron los perfiles séricos de P₄ con DIV 300 mg de P₄ nuevos y usados, estos estudios no incluyeron los estudios farmacocinéticos mediante análisis no compartimental del ABC₀₋₇, el ABC_{0-∞}, C_{max} alcanzada, y el TMP de P₄.

Los resultados obtenidos a partir de las concentraciones séricas de P₄ de los grupos CIDN y CIDU son coincidentes con trabajos previos^{1,5,11}. Mientras que en éste y otros estudios previos las concentraciones sé-

ricas de P₄ alcanzadas con CIDN en ovejas fueron similares¹², en nuestro estudio las concentraciones alcanzadas por CIDU fueron más bajas¹². Los estudios de farmacocinética no compartimental realizados en este trabajo no están disponibles para las labores previas y por lo tanto no se puede realizar una comparación.

En base a los resultados de este trabajo, la reutilización de DIV con 160 mg de P₄ no sería efectiva ya que las concentraciones séricas de P₄ serían un tercio de las producidas en hembras con un DIV nuevo y con valores < 2 ng/ml durante un periodo de tratamiento de 7 días, lo que afectaría la dinámica y el crecimiento folicular, causando un excesivo desarrollo y persistencia en el tiempo de los folículos y posiblemente disminuyendo la fertilidad.

REFERENCIAS

1. Ainsworth L, Downey BR. 1986. A controlled internal drug-release dispenser containing progesterone for control of the estrous cycle of ewes. *Theriogenology* 26: 6, 847-856.
2. Johnson SK, Dailey RA, Inskeep EK, Lewis PE. 1996. Effect of peripheral concentrations of progesterone on follicular growth and fertility in ewes. *Domestic Animal Endocrinology* 13: 1, 69-79.
3. NRC. 1986. *Guide for the care and use of laboratory animals*. US Department of Health and Human Services, Public Health Service, 8° ed., Washington, 2011.
4. Oliveira MA, Guido SI, Lima PF. 2001. Comparison of different protocols used to induce and synchronize estrus cycle of Saanen goats. *Small Ruminant Research* 40: 2, 149-153.
5. Pinna AE et al. 2012. Reproductive parameters of Santa Inês ewes submitted to short-term treatment with re-used progesterone devices. *Arqu Bras Med Vet e Zoot* 64: 2, 333-340.
6. Rathbone MJ, Macmillan KL, Bunt CR, Burggraaf S. 1997. Conceptual and commercially available intravaginal veterinary drug delivery systems. *Adv Drug Deliv Reviews* 28: 3, 363-392.
7. SAS Institute. 2015. *Base SAS 9.4 procedures guide*. SAS Institute, Cary, North Carolina, United States.

8. **Uribe LF et al.** 2011. Reutilización del dispositivo de progesterona (CIDR) asociado con protocolos de corta duración en cabras. *Vet Zootec* 5: 1, 39-46.
9. **Vilariño M, Rubianes E, Lier E, Menchaca A.** 2010. Serum progesterone concentrations, follicular development and time of ovulation using a new progesterone releasing device (DICO®) in sheep. *Small Rum Res* 91: 2-3, 219-224.
10. **Vilariño M, Rubianes E, Menchaca A.** 2011. Re-use of intravaginal progesterone devices associated with the short-term protocol for timed artificial insemination in goats. *Theriogenology* 75: 7, 1195-1200.
11. **Vilariño M, Rubianes E, Menchaca A.** 2013. Ovarian responses and pregnancy rate with previously used intravaginal progesterone releasing devices for fixed-time artificial insemination in sheep. *Theriogenology* 79: 1, 206-210.
12. **Viñoles C, Meikle A, Forsberg M, Rubianes E.** 1999. The effect of subluteal levels of exogenous progesterone on follicular dynamics and endocrine patterns during the early luteal phase of the ewe. *Theriogenology* 51: 7, 1351-1361.

Revista Veterinaria ingresa a SciELO



Revista Veterinaria, publicación oficial de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Nordeste (Corrientes, Argentina), ha logrado acceder al Núcleo Básico de Revistas Científicas Argentinas (Nivel 1), luego de calificar adecuadamente en el Centro Argentino de Información Científica y Tecnológica (CAICYT), según Resolución 2485/14 del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

Sobre un puntaje máximo de 33 se obtuvieron 32 puntos. Tal calificación constituye “una garantía de la excelencia de la publicación” (sic) y queda expedita la vía del Portal SciELO (Scientific Electronic Library Online) para los artículos publicados.

En tal calificación gravitó positivamente la circunstancia de haber aumentado el índice de impacto (Scimago-Elsevier) y haber disminuido las autocitaciones. También se tuvieron en cuenta aspectos como la amplia cobertura de la revista, la calidad científica del Comité Editorial, los criterios de evaluación de los artículos, el origen de los autores (locales 60%, nacionales 13%, extranjeros 24%, en idioma inglés), el adecuado balance entre trabajos científicos originales y reseñas bibliográficas (ambos con alta calidad), así como el estricto cumplimiento de la periodicidad semestral y la favorable acogida por indizadores como Cab, J-Gate, Doaj, Ebsco, Gale Cengage, Infocyt, Latindex y Scopus.

Se consolida de esta manera la continuidad de “Revista Veterinaria”, que en su acontecer registra más de 50 años de existencia en nuestra Facultad de Ciencias Veterinarias, entidad que en 2019 cumplió el 99° aniversario de su fundación.