

Evaluación de actividad foliculoestimulante en ratas.

Palacio S¹, Taborda P¹, Huber E¹, Beccaria C¹, Durante L¹, Neme L¹, Amweg AN¹.

- 1- Centro de Medicina Comparada (CMC), Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (ICiVet-Litoral), Universidad Nacional del Litoral (UNL) / Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Esperanza, Santa Fe, Argentina.
ayelenamweg@yahoo.com.ar

Las gonadotropinas: hormona foliculoestimulante (FSH), hormona luteinizante (LH) y gonadotropina coriónica (CG), son glicoproteínas esenciales para el control de la reproducción tanto en humanos como en animales. Particularmente, la FSH es una molécula heterodimérica que pertenece a la familia de las hormonas glicoproteicas formadas por una subunidad α , que es común a otras hormonas glicoproteicas y una subunidad β específica de la hormona que le otorga especificidad biológica. Para cumplir sus funciones en el ovario y los testículos, la FSH se une a su receptor (FSH-R), que pertenece a la superfamilia de los receptores acoplados a la proteína G. Particularmente en el ovario, la FSH es responsable del crecimiento y maduración de los folículos y tiene una función importante en el inicio de la formación del antro. Además, la FSH induce la sensibilidad de las células de la granulosa a la LH, al incrementar el número de receptores para esta hormona³.

Las gonadotropinas son ampliamente utilizadas para la estimulación ovárica en mujeres, la estimulación de espermatogénesis en hombres y la inducción de la ovulación y la superovulación en animales. Existen varias presentaciones farmacéuticas de gonadotropinas disponibles para el tratamiento de la infertilidad, basadas en diferentes gonadotropinas naturales (FSH, LH y CG). La estimulación ovárica en mujeres generalmente implica la administración de FSH humana, que se deriva de fuentes urinarias o ha sido obtenida mediante técnicas recombinantes (rhFSH)⁴. En animales, en cambio, se utilizan extractos de hipófisis de porcinos, ovinos y equinos, o incluso FSH recombinante bovina¹.

El Centro de Medicina Comparada (CMC) (ICIVET Litoral, UNL CONICET) fue creado para realizar ensayos biológicos con animales de laboratorio, con un enfoque hacia la investigación aplicada y a la transferencia de servicios demandados por las empresas y grupos de investigación y desarrollo del sistema científico-tecnológico, bajo normas internacionales de ética y calidad en su uso y cuidado. El CMC tiene implementado un sistema de gestión de calidad que se aplica a todas las áreas de su desarrollo, acorde a la norma ISO 9001 vigente. Este sistema de calidad se encuentra reflejado en el Manual de Calidad y en los Procedimientos Operativos Estandarizados (POEs), entre otros. Un POE es un documento en el que se describe paso a paso cómo se realiza una determinada actividad. A través de los POEs se normalizan las actividades comúnmente llevadas a cabo dentro del CMC, de modo que todo el personal comprenda los procedimientos y los realice de manera consistente. En base a esto, planteamos como objetivo del presente trabajo describir el procedimiento general por el que se realizan estudios con drogas para evaluar la actividad foliculoestimulante en ratas de la cepa Wistar/Cmedc.

Para la evaluación de la actividad foliculoestimulante se emplean ratas hembras sexualmente inmaduras de la misma cepa de entre 19 a 28 días de edad. Los animales se dividen aleatoriamente en 6 grupos de 5 animales cada uno, en jaulas debidamente preparadas y rotuladas. Los animales se pesan y marcan previo al tratamiento, y al finalizarlo.

Las soluciones a administrar se preparan respetando los protocolos suministrados por el comitente (clientes) de acuerdo a lo indicado por la Farmacopea Europea². Se ensayan 3 dosis de la preparación de referencia de la sustancia con actividad foliculoestimulante (patrón) y 3 dosis de la preparación a examinar, de forma tal que la dosis menor sea capaz de producir respuesta positiva en alguna de las ratas, mientras que la dosis mayor no produzca el máximo efecto en todos los animales. Además, a todas las soluciones preparadas se les adiciona hCG para asegurar la completa luteinización de los folículos.

VII JORNADA DE DIFUSIÓN DE LA INVESTIGACIÓN Y EXTENSIÓN

Noviembre 2019. Esperanza. Santa Fe. Argentina.

Área temática: **SALUD ANIMAL**

Luego se procede a administrar las soluciones preparadas. Para esto, se mide el volumen de la solución a administrar en la jeringa, excluyendo las burbujas y se realiza la administración subcutánea, siguiendo los lineamientos establecidos en el POE vigente en el CMC. Esta administración se repite a las 24h y 48h luego de la primera inyección. Los pesos de los animales, los cálculos de las sustancias a administrar y las actividades de administración se registran en las planillas correspondientes.

A las 24h luego de la última inyección, se procede a la obtención de los ovarios. Previamente, se registra el peso de los animales y se someten a eutanasia. Se retira el excedente de grasa y se extraen los ovarios completos sin ningún tejido anexo (trompas uterinas, útero, grasa). Ambos ovarios de cada animal se pesan en balanza analítica, inmediatamente luego de extraídos para evitar pérdidas por evaporación, y se registra el peso de los mismos.

Por último, con los datos de los pesos de los animales y de los ovarios se realiza el análisis estadístico, utilizando un test de validez del ensayo, el cual permite estimar la potencia real de la sustancia a examinar respecto de la sustancia de referencia.

Este tipo de estudios es fundamental para la evaluación de la potencia en unidades internacionales de hormonas glicoproteicas ya que no han sido desarrollados ensayos *in vitro* que puedan reemplazarlos. Es por esto que la realización de cada ensayo con los cuidados relativos a la calidad genética y sanitaria de los animales a ser utilizados, la calidad de los insumos, la calibración y verificación de los equipos y el registro y control de los datos es fundamental para obtener resultados válidos.

Bibliografía

- 1- Édgar Mauricio Mogollón-Waltero y Angelo Jose Burla-Dias. 2013. Superovulación de hembras bovinas: alternativas para reducir el número de inyecciones de fsh. *Spei Domus* / Volumen 9, Número 18.
- 2- Follitropin. 2009. Pharmeuropa. Volumen 21, nº3.
- 3- Hafez ESE, Hafez B. 2000. Reproducción e inseminación artificial en animales. 7ma. Edición. Editorial Mc Graw-Hill Interamericana. D.F. México.
- 4- Smitz J, Wolfenson C, Chappel S, Ruman J. 2016. Follicle-Stimulating Hormone: A Review of Form and Function in the Treatment of Infertility. *Reproduction Science*. 23: 706-716.