

Evaluación de la potencia de gonadotropina coriónica humana (hCG) en ratas macho

Poque M¹, Grenón E¹, Orlandini A¹, Peralta MB^{1,2}, Angeli E^{1,2}, Stassi AF^{1,2}, Berengeno AL¹, Baravalle C^{1,2}, Velázquez MML^{1,2}.

¹Centro de Medicina Comparada, ²Laboratorio de Biología Celular y Molecular Aplicada (ICIVET-Litoral, UNL-CONICET).

El Centro de Medicina Comparada se destaca como el único Centro integrado a una institución del Sistema Científico-Tecnológico en el país que conjuga las certificaciones y habilitaciones de SENASA, ANMAT, ISO 9001 y BPL-OCDE, lo que le permite dar respuesta a la vinculación entre las empresas y el sistema científico. El CMC es considerado un centro de referencia nacional y regional por su compromiso en la búsqueda de la excelencia, como objetivo institucional, para producir animales de laboratorio de alta calidad, diseñar, asesorar y ejecutar ensayos biomédicos, garantizando siempre satisfacer los requerimientos de los comitentes.

El desarrollo de ensayos que garantizan el cumplimiento de normas regulatorias y de calidad nacionales e internacionales, y de acuerdo a guías de cuidado y uso de animales de laboratorio ⁽²⁾, compromete a todo el personal del centro a la realización de los procedimientos de manera estandarizada. Por ello, las actividades de cada ensayo se encuadran en Procedimientos Operativos Estandarizados (POEs), documentos que describen con precisión el modo en que el ensayo debe realizarse y los registros que deben tomarse para asegurar los mayores estándares de calidad. De esta manera, el CMC responde a los requerimientos de los comitentes (patrocinadores) de manera robusta y confiable, con personal altamente calificado y comprometido en las tareas que lleva a cabo, desde la producción de los animales utilizados en el ensayo, el ensayo propiamente dicho y las actividades soporte de las anteriores.

En particular, para la evaluación de la potencia de la Gonadotropina coriónica humana (hCG) se requiere seguir los lineamientos del POE correspondiente basado en la Farmacopea Europea 6.0 ⁽¹⁾ en lo referido a dicho ensayo.

Cabe mencionar que esta hormona, es una glicoproteína sintetizada en células del sincitiotrofoblasto y citotrofoblasto de acuerdo con el momento de la gestación de la mujer. Se puede obtener a partir de orina de mujeres embarazadas empleando un método adecuado para su separación. Su administración en ratas prepúberes macho provoca el aumento en masa de las vesículas seminales. La evaluación de la potencia de hCG de una sustancia incógnita es determinada por comparación con un estándar de hCG cuya potencia es conocida en Unidades Internacionales (UI). Lo que se evalúa es su efecto sobre el aumento en masa de las vesículas seminales de los animales, en condiciones controladas. Debido a su acción biológica LH, se la emplea además para inducir la ovulación y la formación del cuerpo lúteo en la mayoría de las especies domésticas. Esta acción permite el uso de la hCG con el objetivo de sincronizar la ovulación en equinos, ovinos, porcinos, entre otros o de estimular el desarrollo del cuerpo lúteo y la secreción de progesterona en animales que lo requieran (por ejemplo, bovinos).

Para el ensayo que se desarrolla en el CMC se utilizan ratas macho prepúberes de la cepa Wistar/Cmedc, de 19 a 28 días de edad, con diferencia no mayor a 3 días entre sí, y pesos tales que la

VII JORNADA DE DIFUSIÓN DE LA INVESTIGACIÓN Y EXTENSIÓN

Noviembre 2019. Esperanza. Santa Fe. Argentina.

Área temática: **EXTENSIÓN**

diferencia entre la de mayor y la de menor peso no supere los 10g. Una vez elegidos los animales, se distribuyen en 6 grupos de 5 animales cada uno, en jaulas debidamente preparadas y rotuladas, de manera aleatoria, identificando los animales con marcas temporarias en las colas y registrando los pesos de cada uno de ellos, para un apropiado seguimiento durante las inoculaciones.

Las sustancias de ensayo y de referencia (hCG estandar recibida del comitente) son diluidas de acuerdo a indicaciones del comitente para preparar las concentraciones requeridas según las UI totales a administrar. Se utilizan 3 dosis de la formulación de referencia (estándar) y 3 dosis de la formulación a examinar. Las dosis tienen una progresión geométrica, utilizando como aproximación inicial dosis de 4 UI, 8 UI y 16 UI, pudiendo variar según requerimiento del comitente o cliente. Las inyecciones (0,5 ml) son administradas durante 4 días consecutivos a la misma hora cada día. A las 24 h ($\pm 2h$) de la última administración, se procede al pesado de los animales, eutanasia y extracción de ambas vesículas seminales, sin ningún fluido ni tejido anexo, de acuerdo a las especificaciones del POE correspondiente. Las vesículas seminales se colocan en una placa de Petri y se pesan inmediatamente luego de extraídas, en una balanza analítica con calibración y verificación vigentes. Se registran todos los pesos de vesículas seminales y al finalizar el procedimiento se descarta todo el material biológico como residuo patogénico, separando lo orgánico de lo que no lo es.

Finalmente, se realiza un análisis estadístico de los datos y se elabora un informe que será enviado al comitente como eslabón final del servicio realizado. En dicho informe, se muestran gráficos de cómo estimulan, tanto la sustancia de ensayo (hCG en estudio) como el estándar, el aumento de peso de las vesículas seminales, según cada dosis ensayada. En función de dichas curvas, se calcula la potencia de la hCG en estudio y este es el dato más relevante y de interés para el comitente. Cabe mencionar que, de un total de 9 ensayos realizados bajo este POE en el CMC durante el último año, el 100% de ellos cumplió con los parámetros estadísticos que aseguran la validez del estudio. De esta manera, dichos resultados permiten al comitente obtener información valiosa a ser considerada al momento de la formulación, registro y comercialización de esta hormona.

Los ensayos con animales de laboratorio no han podido ser reemplazados aun en relación a la evaluación de la potencia de este tipo de hormonas, es por esto que es fundamental realizar los ensayos siguiendo las normas de ética para el uso de animales, con los cuidados y controles necesarios.

Bibliografía

- (1) Farmacopea Europea 6.0: Gonadotrophin, chorionic.
- (2) Guide for the care and use of laboratory animals: 8th edition. National Research Council. 2011.