

**Título do projecto\*:** *Efeitos de formulações progestagénicas em baixas doses na dinâmica ovárica e a sua farmacocinética em ruminantes*

**Project title:** *Effects of short-term and low-dose progestagen formulations in ovarian dynamics and pharmacokinetic studies in ruminants*

Simões, J., Teixeira, A. Monteiro, J. et al., 2009

[jsimoes@veterinaria.com.pt](mailto:jsimoes@veterinaria.com.pt)

**Palavras-chave:** Novos sistemas terapêuticos; dinâmica ovárica; reprodução; ruminantes

**Keywords:** New drug delivery systems; ovarian dynamics; reproduction; ruminants

**\* Este projecto, foi elaborado no início de 2009 e na sequência das "I Palestras de Tecnologia Farmacêutica Veterinária" (CESPU, Gandra-2008) e com as quais pretendíamos reflectir sobre a forma de incentivar a produtividade (socialmente útil) através de sinergismos entre as ciências Farmacêuticas e Veterinárias. Transpõe, também, a necessidade (cremos) de proceder a uma produção animal sustentável com o uso racional de substâncias farmacologicamente activas, em paralelo com a produção pecuária biológica, que obviamente não tem capacidade de suprir as necessidades totais das populações humanas.**

**Por estes motivos, divulgamos o seu resumo de modo a incentivar a reflexão entre colegas (existirão formas alternativas de atingir os mesmos objectivos), e simultaneamente tentarmos obter formas de financiamento para a sua viabilização, no seu todo ou em parte.**

19 de Março de 2009, Dia do Pai.

[http://pt.wikipedia.org/wiki/Dia\\_dos\\_Pais](http://pt.wikipedia.org/wiki/Dia_dos_Pais)

João Simões

**Sumário:** Durante décadas, associado à necessária inseminação artificial, foram usados protocolos de sincronização de estros no control reprodutivo em explorações de produção animal de bovinos, ovelhas e cabras baseados em quantidades significativamente elevadas de hormonas (Mauleon, 1974). Nos últimos anos, numerosos estudos (Walsh, 2008) têm revelado, a par da investigação de métodos alternativos (Pellicer-Rubio et al., 2008), desajustamentos iniciais (Ungerfeld et al., 1999) atribuindo potenciais efeitos adversos para a saúde e economia dos rebanhos, saúde pública e ambiente. A indução de estro fora da época reprodutiva em espécies de reprodução sazonal (ovelha e cabra) ou de reprodução contínua (vaca) mas com anestos pós-parto prolongados é uma prática produtiva determinante na viabilidade das

explorações. É fundamentalmente realizada, na união europeia, com recurso a esponjas intravaginais impregnadas com a progesterona na vaca ou seus derivados – o acetato de fluorogestona (FGA) – nos pequenos ruminantes. No entanto, estas formulações ainda apresentam elevadas concentrações de substância activa quando comparadas com repetidas administrações intramusculares (Mauleon, 1974), não se conhecendo suficientemente as variações entre indivíduos e os seus efeitos na dinâmica folicular (Ribeiro et al., 2008). O estudo de novas formulações de implantes subcutaneous em protocolos de curta duração e com menores dosagens, bem como a monitorização da dinâmica farmacocinética e a observação do efeito nos ovários por ultra-sonografia, permitirão otimizar o efeito farmacológico no organismo animal. No presente trabalho, novas formulações de implantes subcutâneos, contendo progesterona ou FGA, com dosagens inferiores às disponíveis no Mercado serão desenvolvidas e caracterizadas. Adicionalmente, este projecto tem também como objectivo e resultado espectável a determinação de variações individuais através de modelos farmacocinéticos inovadores em Medicina Veterinária, que poderão se repercutir em maiores diminuições de substância activa em indivíduos ou grupos específicos. Numa primeira fase, serão usados 25 animais de cada espécie, em anestro, nos quais serão inseridas esponjas vaginais existentes no mercado com 20 mg de FGA no caso de ovinos e caprinos e com 1,55 g de progesterona nas vacas, em protocolo de curta duração. A Equine chorionic gonadotropin (eCG) será administrada 5 ou 7 dias após, no momento da retirada da esponja (D0). O estro e o pico pré-ovulatório da hormona luteinizante (LH) serão determinados (Simões et al., 2008a) e todos os animais inseminados. A dinâmica folicular será avaliada por ecografia entre D-9 e D6. As amostras sanguíneas para análise de progesterona exógena e FGA serão obtidas em momentos específicos durante o tratamento com as esponjas, e processadas para posterior determinação por método de HPLC-Fluorescência (Kabadi et al., 1984; Katayama et al., 1998). A partir dos valores das concentrações plasmáticas dos fármacos irá ser determinado o modelo farmacocinético através da metodologia de modelos não lineares de efeitos mistos (Jiménez Torres et al., 2007). Um grupo controlo de 10 animais de cada espécie permanece sem tratamento. Simultaneamente serão realizados testes preliminares com os implantes de progesterona e FGA desenvolvidos no presente trabalho de modo a permitir a optimização das suas características de libertação *in vivo* e consequentemente os níveis plasmáticos desejados. Em função dos resultados, quatro formulações de implantes serão obtidas (duas formulações com 10 e 15mg de FGA e duas formulações com 1g e 0,8g de progesterona) e testadas em animais, sob as mesmas condições do ensaio anterior. Os implantes de FGA serão ensaiados em ovelhas (FGA 10 mg, n=25; FGA 15 mg, n=25) e em cabras (FGA 10 mg, n=25; FGA 15 mg, n=25) e os de progesterona ensaiados em vacas (1g, n=25 e 0,8g, n=25). Os dados ecográficos, reprodutivos e hormonais obtidos serão sujeitos a análise estatística adequada e os modelos farmacocinéticos elaborados.

**Summary:** Several oestrus synchronization protocols based in high-doses of hormones, associated with artificial insemination, were used for reproduction control in large animal farms during decades (Mauleon, 1974). In the last years, several studies (Walsh, 2008), others than alternative researches (Pellicer-Rubio et al., 2008), demonstrated initial maladjustments (Ungerfeld et al., 1999) with potential negatives effects in the health and economic farm status, public health and environment. The out-of-season estrus induction in ewes and goats or in prolonged post partum anoestrus in high-producing dairy cattle is a determinant management for economical farm viability. In European Union, this practice is performed using vaginal sponges impregnated with exogenous progesterone in cows or fluorogestone acetate (FGA) in small ruminants. However, these transvaginal formulations still present hormonal high-dose if compared with repeated intramuscular administrations (Mauleon, 1974). Their individual variations and ovarian follicular dynamics effects (Ribeiro et al., 2008) are not know enough. The pharmacokinetic dynamic and ovarian ultrasonographic studies after application of new low-dose subcutaneous system delivery formulations associated with short-term (5-7 days) protocols can optimize the pharmacologic effects in animal organism. In the present work, new subcutaneous implants impregnated with progesterone or FGA, in lower doses than the actually used, will be developed and evaluated. The determination of individual variations using innovator pharmacokinetic models in Veterinary Medicine is an additional aim and can improved the diminution of dosage in individual animals or specific animal groups. In the first phase, 25 anoestrous females of each species are used. Existing 20 mg FGA vaginal sponges are applied in ewes and goats, and 1.55 g progesterone vaginal devices are inserted in dairy cattle using a short-term protocol 5 or 7 days, respectively. At time devices removal (Do), the equine chorionic gonadotropin (eCG) is injected (IM). Estrus and pre-ovulatory LH peak are determined (Simões et al., 2008a) and all females inseminated. Ovarian follicular dynamic is evaluated by transrectal ultrasonography between D-9 and D6. The blood samples are collected at specific times for posterior exogenous progesterone and FGA analysis during treatment. The analysis is performed by HPLC- fluorescence method (Kabadi et al., 1984; Katayama et al., 1998). The pharmacokinetic models for exogenous progesterone and FGA are obtained by non-linear mixed effects modeling (Jiménez Torres et al., 2007). Ten animals remain untreated (control group for reproduction data). Simultaneously, preliminary tests to progesterone and FGA implants are performed to improve their in vivo kinetic liberation for achieve optimal plasmatic levels. According to results, 4 formulations will be obtained: 2 implants with 10 or 15 mg FGA and 2 implants with 0.8 or 1 g of progesterone. These subcutaneous implants will be tested in ewes (FGA 10 mg, n=25; FGA 10 mg, n=25), goats (FGA 10 mg, n=25; FGA 10 mg, n=25) and cows (1g, n=25 e 0,8g, n=25) similar to the previous experiment. Ultrasonographic, reproductive and hormonal data are statically analyzed and the pharmacokinetic models created.