

## Níveis séricos de progesterona em vacas ovariectomizadas tratadas com MAD4® com diferentes concentrações e vias de administração

Serum Progesterone Levels in Ovariectomised Cows Treated with MAD-4® with Different Concentrations and Routes of Administration

Dimas Corrêa Rocha, Andrei Beskow, Concepta Margaret McManus Pimentel, Rodrigo Costa Mattos & Ricardo Macedo Gregory

### ABSTRACT

**Background:** Progesterone and synthetic progestogens are used to prepare the uterus for pregnancy, and for the hypothalamus, pituitary and ovaries to respond to endogenous and exogenous gonadotropins. The object of this work was to check serum progesterone concentrations in ovariectomised cows, to determine pharmacokinetics of MAD-4® product.

**Materials, Methods & Results:** A group of eight Braford cows was divided into two groups, in two experiments. In experiment I, both groups received 250 mg of progesterone by different routes of application: intramuscular or subcutaneous. In experiment II, subcutaneous application was used in both groups, the differentiation of the treatments lying in the concentration of progesterone: treatment 2 received 250 mg progesterone and treatment 3 was administered 375 mg of progesterone. In the first 24 h samples were collected in intervals of 6 hours, then every 24 h up to 192 h (day 8). In experiment I there was a significant difference ( $P < 0.05$ ) at 96 h, showing greater concentration in treatment 2 compared to treatment 1 (1.54 ng/mL vs. 0.48 ng/mL, respectively). In experiment II, in the measures undertaken at 144 h, 168 h and 192 h with significant difference ( $P < 0.05$ ), concentrations of progesterone in treatment 2 were lower when compared to treatment 3 (0.79 ng/mL vs. 1.63 ng/mL, 0.66 ng/mL vs. 1.36 ng/mL and 0.49 ng/mL vs. 1.11 ng/mL respectively for hours and treatments). Due to the fact that the types of progestogens and doses used to control the estrous cycle in cattle may be less effective than endogenous progesterone (a *corpus luteum*) with respect to suppression of LH, the high frequency of LH pulses results in development of “persistent” follicles containing aged eggs of low fertility. In this study, the application of 250 mg of intramuscular and subcutaneous long action injectable progesterone elevated progesterone serum concentration above 1 ng/mL. Subcutaneous application presented levels exceeding 1 ng/mL for a longer time, from 6 to 96 h. This treatment probably suppresses LH pulses temporarily without staying very long in the bloodstream; for this reason it doesn't impair fertility. The same cannot be said in the treatment situation with the application of 375 mg subcutaneous long-action injectable progesterone, because, as long as progesterone was measured (day 8), the concentration remained higher than 1 ng/mL.

**Discussion:** Vaginal silicone implants impregnated with 0.5 g of progesterone, when used for the second time (7 days each time), failed to maintain serum progesterone levels for more than 24 h higher than 1 ng/mL. In this study, treatment with 250 mg intramuscular long-action injectable progesterone showed similar serum concentrations over time, because between 24 and 48 h the levels were below 1 ng/mL. Parenteral routes of administration include, among others, the intramuscular (IM) and subcutaneous (SC). The intramuscular route is characterised by a relatively rapid absorption via the subcutaneous, is characterized by a slower absorption and continuous. Treatment of ovariectomised cows with long-acting injectable progesterone in different doses and by different routes resulted in significantly different serum concentrations at some moments, characteristic of each route of administration and doses used. In this study we can conclude that the seemingly more appropriate treatment is that which makes use of 250 mg of long-acting progesterone, subcutaneously injected, keeping progesterone serum levels higher than 1 ng/mL per period of four days.

**Keywords:** progesterone, pharmacokinetics, MAD-4, beef cattle, estrous synchronization and bovine reproduction.

**Descritores:** progesterona, farmacodinâmica, MAD-4, vacas de corte, sincronização de estros e reprodução bovina.

## INTRODUÇÃO

O uso da progesterona e dos progestágenos visa a preparação do útero para a gestação e sensibilização do hipotálamo, da hipófise e ovários, para responderem às gonadotropinas endógenas e exógenas [6].

A utilização de progestágenos na sincronização de cios de bovinos é datada dos anos 50, inicialmente sendo administrados por um período de 11 a 14 dias. Posteriormente, em decorrência de baixos índices de fertilidade após o tratamento, o período de administração passou para 7 a 9 dias, com melhoria da fertilidade. Os principais métodos de administração utilizados para a suplementação com progestágenos são: esponjas intravaginais impregnadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP) ou progesterona natural, administração de gestágenos no alimento, implantes subcutâneos com Norgestomet e dispositivos intravaginais de silicone com liberação lenta de progesterona [6,8,10].

Os objetivos deste estudo foram determinar a concentração de progesterona sérica ao longo de um determinado tempo a partir do tratamento com uma solução injetável de progesterona concentrada de longa ação, variando a dose e a via de administração, no sentido de demonstrar a farmacocinética deste produto.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil, onde se utilizaram oito vacas Braford (sintético 3/8 *Bos indicus* e 5/8 *Bos taurus*) ovariectomizadas, com 6-8 anos de idade, manejadas confinadas com dieta de manutenção, dentro de um mesmo potreiro ocupado durante todo o experimento. Os animais apresentaram peso corporal médio de 532 kg, escore de condição corporal igual a 3,5 em escala de 1 a 5 pontos [3]. Previamente, aos experimentos, foram submetidas à ovariectomia pelo método via vaginal, utilizando-se o efeminador de Chassignac.

No experimento I, o tratamento 1 n = 04 foi aplicado na hora 0, 10 mL de produto contendo 250 mg de progesterona injetável via IM (MAD-4<sup>®</sup>, Rio de Janeiro, Argentina) já no tratamento 2 n = 4 utilizou-se a mesma dosagem alterando a via de admi-

nistração que foi subcutânea SC (MAD-4<sup>®</sup>, Rio de Janeiro, Argentina). No experimento II, o tratamento 2 (foi idêntico ao tratamento 2 do experimento 1), n = 4 foi aplicado no hora 0, 10 mL com 250 mg de progesterona injetável via SC (MAD-4<sup>®</sup>, Rio de Janeiro, Argentina) e o tratamento 3 n = 4 foi administrado na hora 0 15 mL com 375 mg de progesterona injetável via SC (MAD-4<sup>®</sup>, Rio de Janeiro, Argentina). Para determinar a concentração de progesterona sérica foram realizadas coletas de sangue, em todas as vacas, 10 dias antes e no dia da formação dos grupos experimentais (Dias -10 e 0). Após formação dos grupos de tratamento as coletas de sangue foram realizadas de 6 em 6 h do dia 0 ao dia 1 e depois de 24 em 24 h até completar 192 h (dia 8). As amostras de sangue foram centrifugadas a 800 g durante 5 min, até no máximo de 30 min após a coleta. A seguir, as amostras foram armazenadas à temperatura de -20°C, para posterior análise laboratorial através da técnica do radioimunoensaio [13].

As respostas foram analisadas estatisticamente utilizando o programa SAS<sup>®</sup> usando o procedimento GLM para o modelo de medidas repetidas no tempo. Comparações significativas foram feitas através do teste de Tukey a 5% de significância ( $P < 0,05$ ). As variações foram transformadas usando sua raiz quadrada para estabilizar a variância.

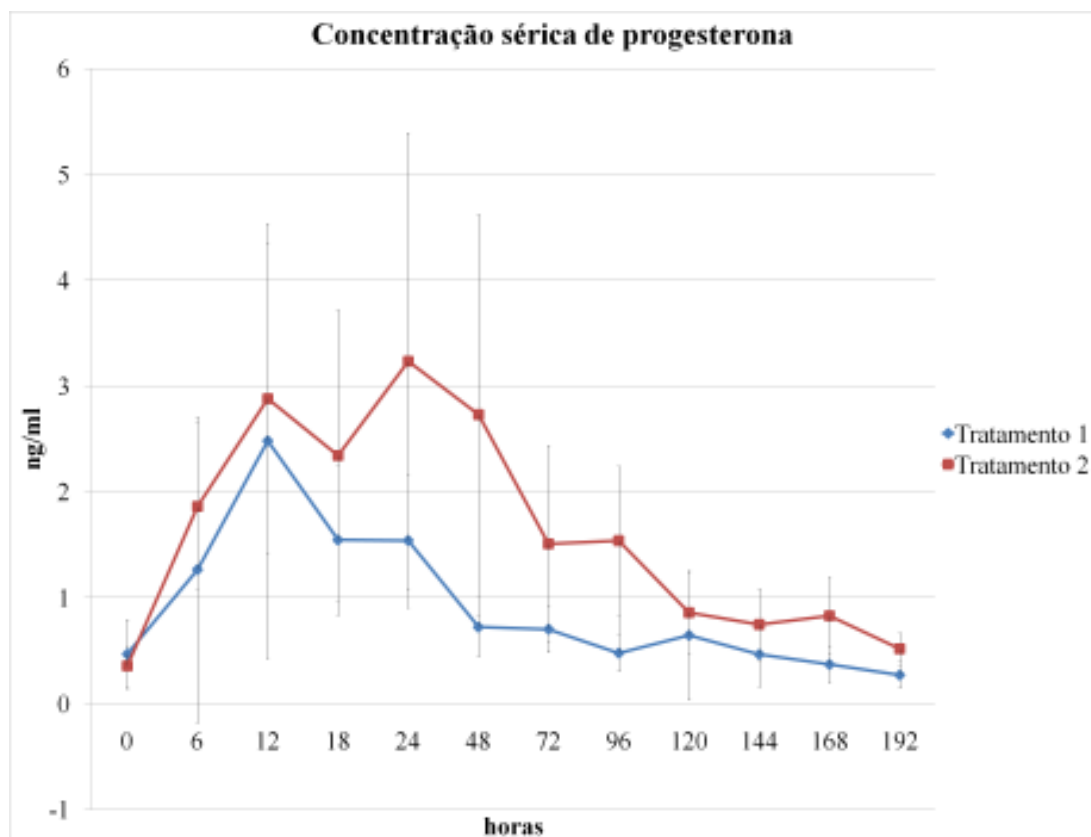
## RESULTADOS

As concentrações séricas de progesterona aferidas no experimento 1 foram diferentes significativamente ( $P < 0,05$ ) às 96 h e as 192 h, apresentando maior concentração no tratamento 2 comparado ao tratamento 1 (1,54 ng/mL vs. 0,48 ng/mL e 0,51 ng/mL vs. 0,27 ng/mL, respectivamente). Nos momentos 48 h e 168 h houve uma tendência de diferença, novamente a concentração no tratamento 2 foi maior que no tratamento 1 (2,73 ng/mL vs. 0,73 ng/mL e 0,83 ng/mL vs. 0,37 ng/mL, respectivamente). Nos demais momentos mensurados, não houve diferença significativa entre os tratamentos. O pico de concentração sérica para a via intramuscular (IM) foi às 12 h ( $2,48 \pm 2,05$  ng/mL) enquanto que o pico da via subcutânea foi às 24 h ( $3,23 \pm 2,15$  ng/mL). O comportamento da progesterona sérica ao longo do tempo está exposto na Figura 1 e as médias e desvios-padrões estão na Tabela 1.

**Tabela 1.** Concentração sérica de progesterona em ng/mL (média e desvio-padrão) ao longo do tempo.

Tempo (horas)	Experimento I		Experimento II	
	T1 - 250 mg de P4 via IM	T2 - 250 mg de P4 via SC	T2 - 250 mg de P4 via SC	T3 - 375 mg de P4 via SC
0 h	0,47±0,32	0,35±0,19	0,37±0,28	0,34±0,25
6 h	1,26±1,44	1,86±0,78	1,77±0,89	1,47±1,15
12 h	2,48±2,05	2,88±1,45	2,81±2,26	2,33±0,57
18 h	1,54±0,71	2,34±1,37	4,82±2,95	4,25±0,33
24 h	1,54±0,63	3,23±2,15	4,10±2,35	4,98±0,57
48 h	0,72±0,27	2,73±1,89	2,03±1,27	3,41±0,62
72 h	0,70±0,21	1,51±0,92	1,29±0,84	1,88±0,59
96 h	0,48±0,17 <sup>a</sup>	1,54±0,69 <sup>b</sup>	1,54±1,25	1,97±0,75
120 h	0,64±0,60	0,86±0,37	0,79±0,55	1,25±0,33
144 h	0,46±0,30	0,75±0,33	0,79±0,45 <sup>a</sup>	1,63±0,42 <sup>b</sup>
168 h	0,37±0,17	0,83±0,36	0,66±0,19 <sup>a</sup>	1,36±0,40 <sup>b</sup>
192 h	0,27±0,12 <sup>a</sup>	0,51±0,15 <sup>b</sup>	0,49±0,12 <sup>a</sup>	1,11±0,33 <sup>b</sup>

Letras diferentes entre as colunas na mesma linha indicam diferença estatística ( $P < 0,05$ ).



**Figura 1.** Concentração sérica de progesterona ao longo do tempo após aplicação de 10 mL de MAD-4® (250 mg de progesterona), T1- via SC e T2 - via IM.

No experimento 2, o comportamento sérico da progesterona não apresentou diferença entre os tratamentos 2 e 3 desde a hora 0 até a hora 120 (dia 5). Nas medidas realizadas às 144 h, 168 h e 192 h houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ), as concentrações de progesterona do tratamento 2 foram menores quando comparadas ao tratamento 3 (0,79 ng/

mL vs. 1,63 ng/mL, 0,66 ng/mL vs. 1,36 ng/mL e 0,49 ng/mL vs. 1,11 ng/mL, respectivamente para as horas e tratamentos). A Figura 2 apresenta as medidas de concentração séricas de progesterona ao longo do tempo e a Tabela 1 apresenta as médias e os desvios-padrões.



Figura 2. Concentração sérica de progesterona ao longo do tempo após aplicação subcutânea de MAD-4® T2 - 250 mg de progesterona e T3 - 375 mg de progesterona.

## DISCUSSÃO

O tratamento de fêmeas bovinas com progestágenos visa elevar os níveis séricos de progesterona a patamares superiores a 1ng/mL por períodos determinados. A progesterona altera a função ovárica suprimindo o estro e evitando a ovulação. Ocorre também uma redução da frequência dos pulsos de LH, o qual por sua vez suprime o crescimento do folículo dominante dependendo da dose [11]. O acetato de melengesterol (MGA) é menos efetivo que a progesterona natural para suprimir o LH. É importante destacar que a progesterona não altera a secreção de FSH [1]. Assim sendo, as ondas foliculares seguem emergindo em presença de um corpo lúteo funcional. Os progestágenos administrados por intervalos maiores do que a vida do corpo

lúteo, mais do que 14 dias, resulta em um estro sincronizado, porém com fertilidade baixa [4,7,9]. Conforme os tipos de gestágenos e doses utilizados para controlar o ciclo estral em bovinos, estes podem ser menos eficazes que a progesterona endógena (de um corpo lúteo) especialmente com relação à supressão de LH. A alta frequência de pulsos de LH resulta em desenvolvimento de folículos “persistentes” que contêm óvulos envelhecidos de baixa fertilidade [11]. Neste estudo a aplicação de 250mg de progesterona injetável de longa ação via intramuscular e subcutânea elevou a concentração sérica de progesterona acima de 1 ng/mL. A via subcutânea apresentou níveis superiores a 1 ng/mL por mais tempo, de 6 até às 96 h. Este tratamento provavelmente suprime temporariamente os pulsos de LH sem permanecer por

muito tempo na corrente sanguínea, dessa forma, não prejudicando a fertilidade.

Já no tratamento onde utilizou-se 37 mg de progesterona injetável de longa ação via subcutânea, não pode-se dizer o mesmo, pois até onde mensurou-se a progesterona, no dia 8, a concentração permanecia superior a 1 ng/mL.

Os implantes vaginais de silicone impregnados com 0,5 g de progesterona quando usados pela segunda vez (usos de 7 dias cada), não conseguem manter os níveis de progesterona sérica por mais de 24 h superiores a 1 ng/mL [2]. No presente estudo, o tratamento com 250 mg de progesterona injetável de longa ação via intramuscular demonstrou concentrações séricas ao longo do tempo semelhantes, pois entre às 24 h e 48 h os níveis ficaram abaixo de 1 ng/mL.

As vias de administração parenteral contemplam, entre outras, a via intramuscular (IM) e subcutânea (SC). A via intramuscular se caracteriza por ser uma via de absorção relativamente rápida, já a via subcutânea, se caracteriza por uma absorção mais lenta e contínua [12]. No experimento I, podemos observar claramente este efeito, pois o pico de

progesterona sérica do tratamento via IM foi 12 h mais cedo do que a SC, e ainda manteve-se com níveis superiores a 1 ng/mL somente nas primeiras 24 h. Por outro lado, o tratamento via SC apresentou níveis superiores aos 1 ng/mL até às 96 h.

#### CONCLUSÕES

O tratamento de vacas ovariectomizadas com progesterona injetável de longa ação com doses e vias diferentes apresentou concentrações séricas diferentes significativamente em alguns momentos, caracterizando cada via de administração e doses utilizadas. Neste estudo podemos concluir que o tratamento aparentemente mais adequado é aquele no qual se utiliza 250 mg de progesterona injetável de longa ação pela via subcutânea, com manutenção de níveis séricos de progesterona superiores a 1 ng/mL por período determinado de quatro dias.

**Agradecimentos.** Aos Laboratórios Allignani Hnos S. R. L., pelo apoio financeiro e pela concessão de bolsas aos autores.

**Declaration of interest:** The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

#### REFERÊNCIAS

- 1 Adams G.P., Matteri R.L. & Ginther O.J. 1992. The effect of progesterone on growth of ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating FSH in heifers. *Journal of Reproduction and Fertility*. 96(2): 627-640.
- 2 Aviles M., Cutaia L.E., Videla Dorna I, Aba M. & Bó G.A. 2005. Concentraciones plasmáticas de progesterona em vacas ovariectomizadas tratadas com dispositivos intravaginales con 0,5 y 1,0 g de progesterona y previamente utilizados. In: *VI Simpósio Internacional de Reproducción Animal* (Córdoba, Argentina). p.384.
- 3 Bó G.A., Cutaia L.E. & Veneranda G. 2003. Aplicación de programas de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) en rodeos de cría manejados en condiciones pastoriles. In: *XXXI Jornadas Uruguayas de Buiatría* (Paysandú, Uruguay). pp.31-40.
- 4 Britt J. H. & Ulberg L.C. 1972. Melengesterol acetate administration to dairy heifers and progesterone levels in the peripheral blood plasma. *Journal of Reproduction and Fertility*. 29(1): 119-122.
- 5 González F.H.D. 2006. Introdução à Endocrinologia Reprodutiva Veterinária. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 147p.
- 6 Gregory R.M. 2002. Métodos de sincronização de estros em bovinos. In: *I Simpósio de Reprodução Bovina - Sincronização de Estros em Bovinos* (Porto Alegre, Brasil). pp.18-24.
- 7 Larson L.L. & Ball P.J.H. 1992. Regulation of oestrus cycles in dairy cattle. *Theriogenology*. 38: 255-267.
- 8 Moraes J.C.F. 2002. Controle da reprodução em bovinos de corte. In: *I Simpósio de Reprodução Bovina - Sincronização de Estros em Bovinos* (Porto Alegre, Brasil). pp.32-40.
- 9 Odde. K.G. 1990. A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. *Journal of Animal Science*. 68(3): 817-830.
- 10 Pimentel C.A. 2002. Fisiologia e endocrinologia da reprodução da fêmea bovina. In: *I Simpósio de Reprodução de Bovinos* (Porto Alegre, Brasil). 5p.

- 11 Savio J.D., Thatcher W.W., Morris G.R., Entwistle K. & Mattiacci M.R. 1993.** Effects of induction of low plasma progesterone concentrations with a progesterone-releasing intravaginal device on follicular turnover and fertility in cattle. *Journal of Reproduction and Fertility*. 98(1): 77-84.
- 12 Spinosa H.S., Górnaiak L.S. & Bernardi M.M. 2002.** Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 752p.
- 13 Tanaka Y., Vincent D.L., Ledgerwood K.S. & Weems C.W. 1995.** Variable progesterone response and estradiol secretion in prepubertal beef heifers following treatment with norgestomet implants. *Theriogenology*. 43(6): 1077-1086.