

Obtención y valoración del suero anti-PMSG

Ungerfeld, R.*; Viñoles, C.* y Rubianes, E**

RESUMEN

Un suero antiPMSG fue obtenido inmunizando una oveja ovariectomizada con tres dosis mensuales de 5000 U.I. de PMSG diluidas en adyuvante completo de Freund. El mismo fue valorado mediante bioensayo en ratones y ratas, evaluándose el bloqueo del efecto ovariotrófico de la PMSG. La concentración de anticuerpos específicos obtenida permitió bloquear la acción de la PMSG incluso a la menor dosis utilizada (1 l de suero por cada U.I. de PMSG).

Palabras clave: PMSG, bioensayo, ratas y ratones, suero anti-PMSG

SUMMARY

A PMSG antiserum was produced in an ovariectomized ewe by giving three monthly injections of 5000 I.U. of PMSG in complete Freund's adjuvant. It was tested by bioassay in mice and rats, evaluating the blockade capacity against PMSG ovariotrophic effect. The antiserum blockades completely the effect of PMSG, being effective the lowest doses used (1 l of antiserum by each I.U. of PMSG).

Key Words: PMSG, bioassay, murine, PMSG antiserum

INTRODUCCION

La PMSG (Pregnant Mare Serum Gonadotrophin) es utilizada frecuentemente para inducir superovulación en los rumiantes, pero presenta como inconveniente un alto porcentaje de desarrollo folicular sin ovulación, lo que disminuye la calidad de los embriones obtenidos (7,10). Esto ha sido atribuido a la larga vida media de la PMSG en sangre (5-7 días) (1, 12) lo que provoca que luego de la multiovulación permanezca una alta concentración de

hormona estimulando el ovario. Este desarrollo folicular diferido genera altos niveles circulantes de estrógenos (1, 4).

La administración de anticuerpos contra la PMSG ha sido postulada como técnica de bloqueo del sobreestímulo, aumentando así la calidad de los embriones obtenidos (3).

Sueros policlonales han sido producidos en laboratorios de investigación inmunizando diferentes especies animales: bovino (10), conejo (2), cabra (9), pavo (6), etc. Otros sueros monoclonales están disponibles

comercialmente desde hace algunos años.

El objetivo del presente trabajo ha sido producir un suero anti-PMSG ovino y valorar su capacidad neutralizante mediante el bloqueo de la acción ovariotrófica en roedores (5, 11).

MATERIALES Y METODOS

Producción del Antisuero

El antisuero fue producido en una borrega de 23 kg, previamente ovariectomizada. Se le administró una dosis

* Cátedra de Fisiología, Facultad de Veterinaria

**/ M.Sc. Asistente de Fisiología, Facultad de Veterinaria y Facultad de Ciencias

mensual intradérmica de 5000 U.I. de PMSG (Folligon-Intervet) contenida en 5 ml de adyuvante completo de Freund durante un período de tres meses (2, 6, 10).

Cada dosis fue inyectada en múltiples puntos de la región dorsal. Ocho días antes de cada sangrado recibió un recuerdo de 5000 U.I. por vía intravenosa. La sangre se obtuvo por venopunción yugular y luego de permitir la retracción del coágulo a temperatura ambiente (20° C) fue centrifugada y conservada a -20°C.

Bioensayo en ratonas

Para cuantificar la actividad

neutralizante del suero puro se realizó un bioensayo en ratonas, de acuerdo a la técnica descrita por Jabbour y Evans (4). Se utilizaron 52 ratonas hembras de 42-44 días y 21.7 ± 0.1 gr (media \pm E.S.) de peso, que fueron separados en 13 grupos iguales y mantenidos en iguales condiciones de luz (10L: 14D) y temperatura (18-22°), con libre acceso a agua y comida. La PMSG y el suero anti-PMSG fueron diluidos en solución salina para obtener diferentes concentraciones. Durante la tarde del día 0 recibieron una inyección subcutánea de 1, 2 o 4 U.I. de PMSG, y 5 minutos después se les administraron 0,

4, 20 o 100 l de suero anti PMSG, ambas diluidas en 0,2 ml. El grupo control recibió 2 inyecciones de 0.2 ml de solución salina. A las 48 hs. se repitió el tratamiento y a las 72 hs. los animales fueron pesados y sacrificados por decapitación, disecándose sus ovarios con precisión. Se registró el peso húmedo de ambos ovarios para cada animal.

Bioensayo en ratas

A partir de la aproximación realizada en ratonas se realizó una valoración más precisa con ratas. Se utilizaron 34 ratas Wistar de alrededor de 30 días



La pequeña dosis
de
grandes resultados

Fostamisol®

ANTIHELMINTICO INYECTABLE
FOSFATO DE LEVAMISOL AL 22,3%



Instituto
San Jorge
Bagó S.A.



LABORATORIO URUGUAYÉS
J.J. DESSALINES 1831-35 TEL: 69 29 45
MONTEVIDEO URUGUAY

C. AUGSBURGER

que no presentaran apertura vaginal (prepúberes). Los animales fueron separados en 4 grupos y mantenidos en iguales condiciones de luz (14L: 10D) y temperatura (18-22°), con libre acceso a agua y comida. A los animales del grupo PMSG (n=8) se les administraron 28 U.I. de PMSG, a los del grupo AS1 (n=8) igual dosis de PMSG seguida de 28 l de suero anti-PMSG, los del grupo AS2 (n=8) recibieron la misma dosis de PMSG seguida de 56 l de suero anti-PMSG. Los animales del grupo Control (n=10) recibieron dos inyecciones de solución salina. Todas las diluciones fueron llevadas a 1 ml y administradas por vía subcutánea. A las 24, 48 y 72 hs se observó la presencia de apertura vaginal. A las 72 hs los animales fueron pesados y sacrificados. Ambos ovarios fueron disecados con precisión, registrándose el peso húmedo de los mismos para cada animal.

Los resultados fueron analizados estadísticamente por análisis de varianza de una vía o test de chi cuadrado.

RESULTADOS

Como lo indica el Cuadro 1, se observa un bloqueo de la acción ovariotrófica de la PMSG a partir de la menor relación de dosis utilizadas (1l/1 U.I.) en ratonas.

Para el bioensayo en ratas, el

Cuadro 1				
Neutralización del efecto de la PMSG (28 U.I.) sobre el peso ovárico (mg, media ± e.s.) y sobre la inducción de apertura vaginal con dos diferentes dosis (AS1= 28 l, AS2= 56 l) de suero anti-PMSG				
	Control	PMSG	AS1	AS2
	a	b	a	a
peso ovárico	30.2 ± 1.3	124.4 ± 16.2	30.8 ± 1.9	32.2 ± 3.6
	c	d	c	c
apertura vaginal	4/10	8/8	3/8	3/8

Nota: a vs b p<0.01; c vs d p<0.05

bloqueo del efecto de la PMSG sobre el peso ovárico fue total para la menor dosis utilizada, que fue de 1 l de suero por U.I. de PMSG (<0.01). La frecuencia de animales que presentaron apertura vaginal a las 72 hs fue significativamente mayor en los animales tratados con PMSG con respecto al control. Ese efecto fue bloqueado en los dos grupos tratados con suero anti-PMSG (ver Cuadro 1).

DISCUSION

Los resultados indican que el método de inmunización utilizado resultó adecuado, ya que existió producción de anticuerpos específicos contra la PMSG.

La administración de suero anti-PMSG bloqueó completa-

mente la acción ovariotrófica de la PMSG, observándose dicho efecto incluso a la dosis más baja utilizada en el bioensayo de ratas, 1 l de suero anti-PMSG por U.I. de PMSG. Se concluye que el suero producido tiene un buen poder neutralizante, ya que a la menor dosis utilizada produjo un bloqueo total del efecto de la PMSG. Esta capacidad es similar a la obtenida por Bindon (2), y algo mayor que las mínimas dosis efectivas obtenidas por Dhondt et al. (6) y por Saumande y Chupin (10).

Actualmente se llevan a cabo diversos protocolos de superovulación en ovinos y bovinos con el fin de testar a nivel de campo la eficacia de la aplicación del suero como técnica de control del sobreestímulo foli-

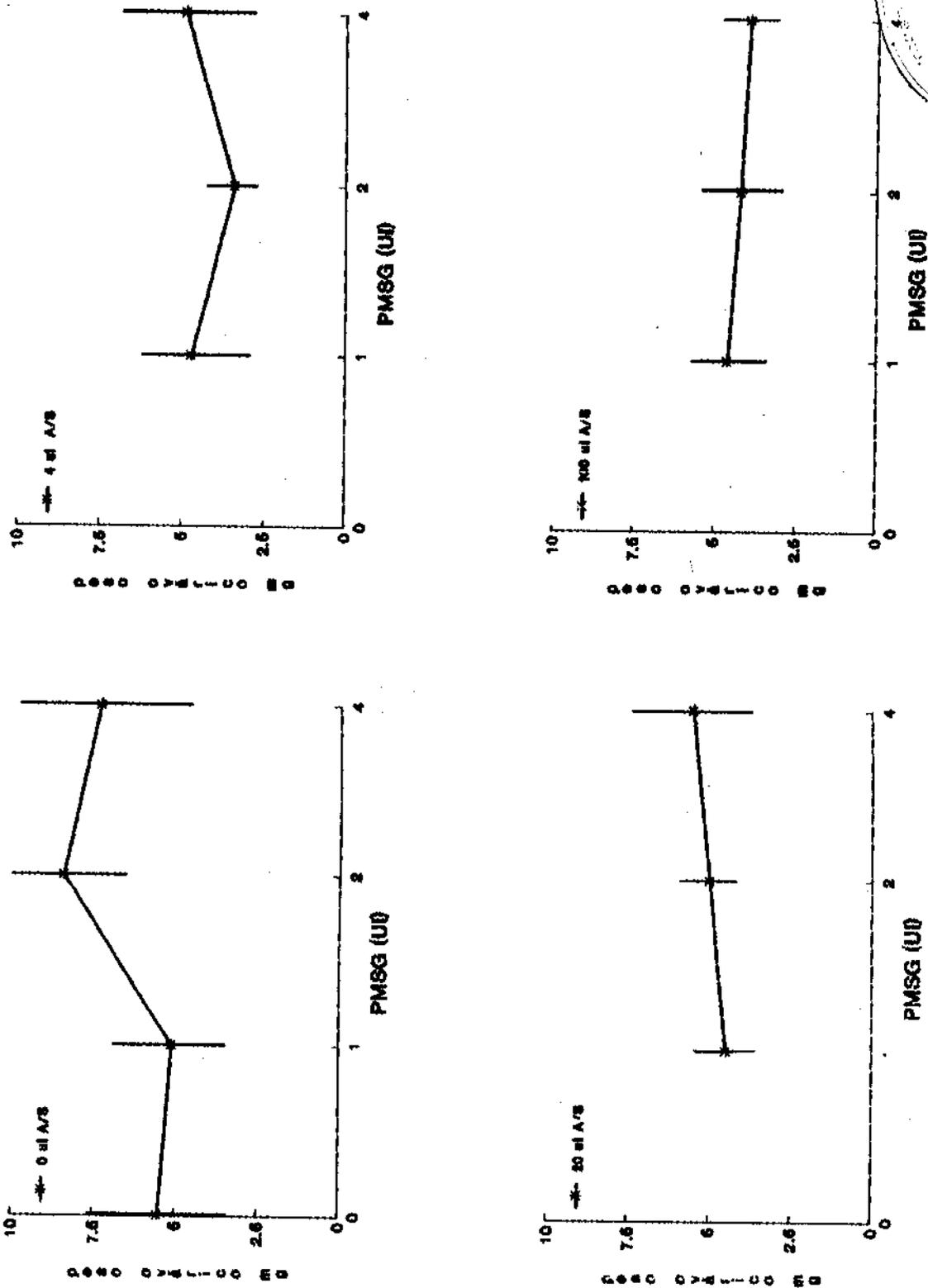
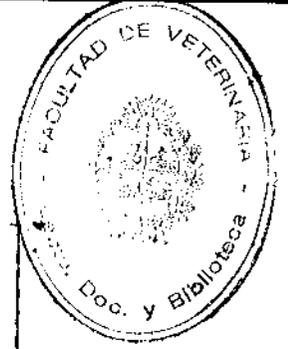


Fig. 1. Efecto inhibitorio del suero anti-PMSG sobre el trofismo ovárico de la PMSG en ratonas.

cular inducido por la PMSG.

BIBLIOGRAFIA

1. **Bevers, M.M. y Dieleman, S.J.**, 1987. Superovulation of cows with PMSG: variation in plasma concentrations of progesterone, oestradiol, LH, cortisol, prolactin and PMSG and in number of preovulatory follicles. *Anim. Rep. Sci.*, 15:37-52.
2. **Bindon, B.M.**, 1970. Prolonged activity in vivo of rabbit antisera to placental gonadotrophins. *J. Endocr.*, 46:221-227.
3. **Bindon, B.M. y Piper, L.R.**, 1977. Induction of ovulation in sheep and cattle by injections of PMSG and ovine anti-PMSG immune serum. *Theriogenology*, 8(4):171.
4. **Booth, W.D.; Newcomb, R.; Strange, H.; Rowson, L.E.A. y Sacher, H.B.**, 1975. Plasma oestrogen and progesterone in relation to superovulation and egg recovery in the cow. *Vet. Rec.*, 97:366-369.
5. **Claringbold, P.J. y Lamond, D.R.**, 1957. Optimum conditions for the biological assay of gonadotrophins. *J. Endocrn.*, 16:86-97.
6. **Dhondt, D.; Bouters, R.; Spincemille, J. Coryn, M. y Vandeplassche, M.**, 1978. The control of superovulation in the bovine with a PMSG-Antiserum. *Theriogenology* 9(6): 529-533.
7. **Gielen, J.Th.; Roerink, G.H.; Atoon, R.E.; Vonk Noordegraaf, C.A.; Pasman, J.; Hoeijmakers, M.J.H.; Steeg, R.H.M.; Coert, A.; Aguer, D. y Nell, T.**, 1990. Use of PMSG plus neutra-PMSG in dairy cows treated repeatedly for superovulation. *Theriogenology*, 33(1): 229.
8. **Jabbour, H.N. y Evans, G.**, 1991. Ovarian and endocrine responses of Merino ewes following treatment with PMSG and GnRH or PMSG anti-serum. *Anim. Rep. Science*, 24:259-270.
9. **Kummer, V.; Zraly, Z.; Schlegelova, J y Hruska, K.**, 1980. Superovulation in cattle: effect of goat anti-PMSG serum. *Theriogenology* 14:383-390.
10. **Saumande, J. y Chupin, D.**, 1981. Production of PMSG antiserum in cattle: assay of inhibitory activity and use in superovulated heifers. *Theriogenology* 15(1):108.
11. **Saumande, J y Chupin, D.**, 1987. The search for a reference method to test the effectiveness of anti-PMSG in superovulatory treatment in cattle. *Theriogenology*, 27(1):274.
12. **Yadav, M.C.; Walton, J.S. y Leslie, K.E.**, 1986. Plasma concentrations of luteinizing hormone and progesterone during superovulation of dairy cows using follicle stimulating hormone or pregnant mare serum gonadotrophin. *Theriogenology*, 26(4):523-540.

Aprobado para su publicación: 2/8/93.