

## USO DE ANALOGOS DE LA GnRH EN HURONES DOMESTICOS

Jacobo Giner, Carlos Martinez

Centro Veterinario Menescalía, Valencia

menescalía@menescalía.com

### Introducción:

El objetivo de este estudio es determinar la respuesta clínica a los análogos de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) en hurones domésticos (*Mustela putorius furo*) con enfermedad de glándula adrenal (EGA)<sup>1-5</sup> así como su uso en la prevención de esta enfermedad tanto en hurones esterilizados<sup>6</sup> como hurones intactos<sup>7-10</sup> a fin de evitar, en estos últimos, la orquiectomía u ovariosterectomía temprana, uno de los factores determinantes para la aparición de EGA<sup>1,11,12</sup>.

### Material y Métodos:

Se llevó a cabo un estudio retrospectivo desde Enero 2009 hasta Agosto 2011 con 100 hurones: 60 hembras (32 ♀ no esterilizadas, 28 ♀ esterilizadas) y 40 machos (7 ♂ no castrados, 33 ♂ castrados), a los que se administró análogos de la GnRH (leuprorelina acetato y/o implantes de deslorelina acetato). Se utilizaron 158 monodosis de leuprorelina y 93 implantes de deslorelina. Se dividieron en 4 grupos:

**Grupo 1:** 43 hurones no esterilizados como alternativa a la esterilización quirúrgica y prevención de EGA.

**Grupo 2:** 14 hurones esterilizados tempranamente (cirugía previa a la primera estación reproductiva) menores de 3 años de edad al inicio del estudio y sin síntomas clínicos de EGA, como prevención de la aparición de EGA. En la actualidad se encuentran con edades comprendidas entre 2 y 6 años, siendo el 75% mayor de 3 años y el 50% mayor de 4 años.

**Grupo 3:** 13 hurones esterilizados con diagnóstico de EGA como tratamiento médico/sintomático de ésta junto a adrenalectomía<sup>2, 5,11-14</sup>. Dicha enfermedad se diagnosticó mediante signos clínicos junto a visualización ecográfica de las glándulas adrenales y/o resultado de histopatología en caso de realizar adrenalectomía. Consideramos hurones con enfermedad de glándula adrenal aquellos animales que presentan signos clínicos compatibles (vulva edematizada, hipertrofia de glándulas mamarias, piometra de muñón, alopecia endocrina, prurito, alteraciones prostáticas, alteraciones en el comportamiento sexual como aumento de agresividad entre otros) y ecográficamente presentan un aumento en el grosor en alguno de los polos de la glándula adrenal (>3.9mm), una estructura heterogénea, aumento de la ecogenicidad y/o contienen mineralizaciones<sup>15</sup>. Se realiza exploración ecográfica abdominal a todos los hurones en estudio, descartando además otras patologías (remanentes ováricos, posibles tumoraciones del aparato reproductor...) cuyos signos clínicos externos pudieran ser similares. No incluimos el diagnóstico mediante determinación de hormonas sexuales (estradiol, androstenediona y 17-hidroprogesterona) por no disponer de ningún laboratorio con un método validado de análisis para dicho panel hormonal en esta especie (a excepción del servicio clínico de endocrinología de la Universidad de

Tennessee, USA); asimismo, la fluctuación de los niveles hormonales en el tiempo aumenta la probabilidad de falsos negativos.

Tras la adrenalectomía se realizó estudio anatomopatológico de 11 muestras (7 carcinomas adrenocorticales, 3 hipertrofias adrenocorticales, 1 adenoma adrenocortical). 2 muestras no fueron analizadas.

**Grupo 4:** 30 hurones esterilizados con EGA como tratamiento médico/sintomático sin adrenalectomía previa.

Para el estudio que se plantea se utilizaron dos análogos de la GnRH:

*Leuprorelina acetato* (Ginecrin Depot® 3.75 mg Lab. División Productos Ross Abbot Científica, S.A., Madrid, España). Duración mensual.

La dosis utilizada fue de 100-200 µg/kg IM

-26 hurones del grupo 1 reciben una única dosis a partir del día 10 del inicio del celo y se repite únicamente cuando vuelve a entrar en celo.

-Ningún hurón del Grupo 2 recibe leuprorelina puesto que, al inicio del estudio, comienza la comercialización del implante de deslorelina de manera que modificamos en ese momento nuestro protocolo previo que consistía en 1 inoculación anual de leuprorelina al inicio de la estación reproductiva<sup>6</sup>.

-11 hurones del grupo 3 y 19 hurones del grupo 4 reciben 1 dosis mensual recomendando a los que reciben únicamente leuprorelina un tratamiento de, al menos, 4 meses o hasta la desaparición de los síntomas y se instaura nuevamente a la aparición de síntomas. A los hurones que van a recibir, además, el implante de deslorelina (6 hurones grupo 3 y 6 hurones grupo 4) se les administra únicamente una dosis de leuprorelina previa al implante de deslorelina.

*Deslorelina acetato* (Suprelorin® 4.7 mg, Implante para perros Lab. Virbac, Carros, France) SC de liberación prolongada con una duración media de 13,7 +/- 3.5 meses<sup>5</sup>.

-17 hurones del grupo 1 reciben el implante a partir del día 10 de celo.

-A 14 hurones del grupo 2 se les inoculó un implante cada 10-12 meses<sup>6,16</sup>.

-A 8 hurones del grupo 3 y 17 hurones del grupo 4 se les administró un implante de deslorelina cada 8 meses basándonos en el riesgo mínimo de efectos secundarios y evitando así la aparición de signos clínicos.

A 58 hurones se les administró una o más inoculaciones de leuprorelina y a 56 hurones se les administró uno o más implantes de deslorelina. A 14 hurones se les inoculó leuprorelina e implante de deslorelina.

La respuesta clínica en los hurones del Grupo 3 y Grupo 4, hurones diagnosticados de EGA, se monitoriza cada 2-4 meses mediante examen clínico en el centro.

Se realizó una análisis de la varianza factorial con los Grupos 3 y 4 siguiendo el modelo estadístico siguiente:  $Y_{(ijkl)} = \mu + a_i + b_j + c_k + \xi_l(ijk)$  siendo las variables i=Respuesta al tratamiento; j = N° inoc.leuprorelina; k = N° inoc.deslorelina y l=Duración del tratamiento hasta la fecha y los factores a=género(♀ y ♂); b=diferentes tratamientos en estudio (t° con leuprorelina, t° con deslorelina y t° con leuprorelina + deslorelina); c=tratamiento quirúrgico asociado (adrenalectomía y no adrenalectomía) y  $\xi$  = error residual como se muestra en la tabla 1, tabla 2 y tabla 3. Para ello se utilizó el programa estadístico Genstat v13.1.

Se pretende comparar la respuesta de los dos análogos de la GnRH que se encuentran en estudio en las diferentes situaciones (Grupo1-Grupo4) y los diferentes tratamientos con

dichos análogos entre sí, en cuanto a su efectividad y duración entre otras variables. Sólo exponemos las variables y los factores que nos han proporcionado resultados interesantes a nivel clínico, excluyendo resto del análisis realizado por considerarlo irrelevante dado los datos obtenidos.

### **Resultados:**

**Grupo 1:** El 100% respondió a la administración de leuprorelina e implante de deslorelina desapareciendo los signos típicos del celo; del subgrupo al que se inoculó leuprorelina el 64% sólo necesitó 1 inoculación/año mientras que el 28,5% 2 inoculaciones/año y el 7.14% 3 inoculaciones/año. Del subgrupo al que se le administró implante, ninguno ha necesitado la colocación de un nuevo implante durante el estudio y la duración media es mayor a 2 años.

**Grupo 2:** El 100% de los hurones no han manifestado signos de EGA hasta el momento de finalizar el estudio (el 26.6% recibió 1 implante, el 46.68% 2 implantes y el 26.6% 3 implantes). El 50% de los hurones de este grupo son mayores de 4 años y de estos, el 53,2% llevan en estudio más de 30 meses.

**Grupo 3 y Grupo 4:** El 81,39% de los hurones respondió favorablemente a la administración de análogos de la GnRH con la desaparición de los signos clínicos externos asociados a EGA. En los casos en los que además presentaban anemia por hiperestrogenismo se controlaron los parámetros hematológicos de forma periódica, así como en machos con alteraciones prostáticas se realizaron controles ecográficos de la misma. Consideramos que los hurones han respondido al tratamiento cuando dichos signos clínicos enumerados desaparecen o inician la mejoría en los primeros 2-4 meses desde el inicio del tratamiento. No realizamos medición de hormonas sexuales como control de la enfermedad, pero sí realizamos ecografía de glándulas adrenales como revisión de la ésta. Dicho control no lo incluimos en el estudio por no realizarse a un porcentaje del más del 70% de los hurones incluidos en el estudio por rechazo de los propietarios.

Se observa una tendencia a la significación ( $p < 0,1$ ) en la desaparición de estos síntomas clínicos en animales tratados con implantes de deslorelina frente a los tratados únicamente con leuprorelina con o sin adrenalectomía previa (tabla 2). Asimismo, el periodo sin sintomatología es significativamente mayor ( $p < 0,05$ ) en los individuos tratados con implante de deslorelina (tabla 2). El 92% de hurones de los grupos 3 y 4 que recibieron deslorelina respondió al tratamiento.

Al 41.6% de los hurones del Grupo 3 se les inoculó únicamente leuprorelina y de ellos, el 40% no respondió al tratamiento muriendo el 20%. El resto recibió una única dosis de leuprorelina con posterior implante de deslorelina y no respondió al tratamiento el 33,4% pero ninguno murió por enfermedad relacionada en la EGA.

Del grupo 4, la respuesta de los animales tratados únicamente con leuprorelina fue del 69.23% al tratamiento frente al 100% de respuesta satisfactoria en los animales a los que se les inoculó el implante de deslorelina (un individuo se eutanasió por complicaciones derivadas de metástasis hepáticas de carcinoma adrenocortical aunque no presentaba signos externos de la enfermedad).

No se observaron diferencias significativas entre sexos como muestra la tabla 1.

### **Discusión:**

Los análogos de la GnRH son una buena elección en hurones intactos para la prevención de la EGA ya que provocan la supresión del celo además de la reducción del olor almizclado producido por las glándulas sebáceas. De esta manera se puede evitar la esterilización quirúrgica. Estudios relacionados (Vinker et al. 2008) mencionan incluso que dichos análogos, concretamente el implante de deslorelina 4.7 mg, actúa mejor en el control de signos clínicos como la agresividad, que la esterilización quirúrgica<sup>19</sup>. Asimismo, en otro estudio<sup>10</sup> realizado por Schoemaker et al. (2008), se hace referencia a la mayor disminución del olor almizclado en hurones machos no esterilizados tratados químicamente con implante de deslorelina 9.4 mg que en hurones machos esterilizados mediante cirugía, posiblemente debido a que los niveles de androstendiona son superiores en éstos últimos. La duración media del implante de deslorelina 4.7 mg en nuestro estudio supera los 24 meses. Esta duración posiblemente sea mayor en el futuro ya que ningún hurón ha presentado signos típicos de celo nuevamente desde la implantación. Otros estudios reflejan una media de 18 meses (Proháczik et al. 2003), >19 meses (Proháczik et al. 2009)<sup>22</sup>, 23 meses (Proháczik et al. 2010)<sup>8</sup> y entre 10-40 meses en machos y 21-29 meses en hembras no esterilizadas (Schoemaker et al. 2010)<sup>9</sup>.

En hurones esterilizados de forma temprana, el implante de deslorelina es una posible alternativa, a pesar de su coste económico, para la prevención de la EGA. Sin embargo, el periodo de estudio debe ser más prolongado para confirmar su utilización con este fin. No obstante, los resultados son prometedores y se podría incluir un protocolo de prevención dentro del programa de mantenimiento anual que se ofrece a los propietarios en los centros veterinarios al igual que se ofrece la revacunación anual frente al moquillo y las desparasitaciones periódicas tal como recomienda Johnson-Delaney (2006).

En aquellos animales que hayan desarrollado la enfermedad, los análogos de la GnRH son recomendables para el tratamiento de sus signos clínicos. El implante de deslorelina 4.7 mg es el que presenta mayor porcentaje de respuesta favorable al tratamiento sintomatológico. Es más cómodo y satisfactorio para los propietarios que las inoculaciones repetidas de leuprorelina acetato que, a medio y largo plazo, resultan más costosas económicamente para el propietario y más molestas para el paciente con una menor efectividad. Asimismo, promete ser el más eficaz en el tiempo para las diferentes alternativas. Sin embargo, necesitamos un periodo de estudio más prolongado para valorar la duración y efectividad del mismo.

Aunque estos compuestos sean eficaces en el control de los signos clínicos de la enfermedad adrenocortical, hay que resaltar que, según Wagner et al. (2005), Simone-Freilicher (2008), Chen (2010) o Mayer (2006), los análogos de la GnRH no parecen detener el crecimiento de tumores adrenocorticales o sus metástasis<sup>5,12,14,20</sup>. En un estudio realizado por Wagner et al. (2009)<sup>21</sup>, De 30 hurones diagnosticados con EGA, 4 de ellos mostraron ecográficamente una disminución del tamaño de las glándulas adrenales tras la administración de implante de deslorelina 4.7 mg frente a 24 hurones que mostraron un aumento en el tamaño de las mismas y 2 que presentaron tumores de más de 1 cm antes de la recaída de signos clínicos. No obstante el autor no encuentra diferencias significativas en el tamaño de las glándulas adrenales antes y después de la implantación. El autor de dicho estudio no hace referencia a resultados anatomopatológicos de las glándulas adrenales que disminuyeron su tamaño, no informando si dichas glándulas estaban hipertrofiadas o tumoradas y, en ese caso, si consistían en tumoraciones hormono dependientes u hormono resistentes. En nuestro estudio, en los casos del Grupo 4 controlados ecográficamente no hemos encontrado una disminución significativa de tamaño. De 33 hurones diagnosticados de EGA, 3 murieron por tumoraciones de la glándula adrenal pese a la utilización de análogos de la

GnRH. Pensamos que no se debería recomendar como tratamiento único sin asociarlo a un tratamiento quirúrgico<sup>5,12,18,20,21</sup>.

En hurones con posible tejido adrenal ectópico o en aquellos no candidatos a ser sometidos a una cirugía por padecer asociadas otras patologías (insulinomas, linfoma, insuficiencia renal crónica, patologías cardíacas, etc.) o hurones con afección de la glándula adrenal derecha que invada parte de la pared de la vena cava, donde la extirpación total de la glándula pueda asociarse a complicaciones y se tome la decisión de no realizar dicha cirugía por la probabilidad de fracaso, el uso de análogos de la GnRH puede ser una buena opción como único tratamiento.

En nuestro estudio no han aparecido efectos adversos tras la administración de análogos de la GnRH confirmando los resultados de diversas publicaciones<sup>5,8,12</sup>. Tras la colocación de 103 implantes de deslorelina 4,7mg, 1 hurón lo rechazó a las 12 horas de su implantación. Se le volvió a colocar otro implante que también rechazó. Johnson-Delaney (1999) hace referencia a mínimos efectos adversos tras la administración de Leuprolide acetato como enrojecimiento y tumefacción de la zona hasta 12 horas después de la inoculación y pequeña molestia mostrándose el hurón más incomodo (boca abierta, arrastrarse por el suelo...).

No incluimos en este estudio otros análogos de la GnRH disponibles en el mercado, como la leuprorelina depot de duración trimestral, por existir pocas publicaciones y estudios al respecto. En dichas publicaciones se hace hincapié que, para determinados hurones, la duración del efecto permanece durante 60-75 días siendo la media de 60-90 y la mayoría de los autores no la incluyen en sus protocolos<sup>6, 12, 17,18</sup>.

Necesitamos un periodo de estudio más prolongado para valorar la duración y efectividad del implante de Deslorelina 4.7mg ya que no se ha establecido todavía un periodo determinado entre implante e implante en hurones con EGA. Diversos autores<sup>5,16,21</sup> dan periodos que varían entre 8-30 meses hasta la reaparición de signos clínicos. En este estudio hemos establecido un periodo de 8 meses puesto que es el periodo mínimo en el que pueden reaparecer signos clínicos. Dado que los efectos adversos del implante de Deslorelina 4.7 mg son nulos o mínimos hasta el momento, y debido a la imposibilidad de medición hormonal seriada a estos hurones, creemos oportuno inocularlo cada 8 meses. De este modo, se controla la estimulación hormonal vía hipófisis-glándulas adrenales, antes de la aparición de los signos clínicos asociados y paralelamente, reducir el riesgo de aparición de tumores

Por el mismo motivo hemos establecido un periodo entre implantes como prevención de la EGA de 10-12 meses buscando la media entre los rangos que aparecen en dichas publicaciones para hurones con la enfermedad.

### Tablas Grupos 3 y 4 (hurones con EGA):

Tabla 1:

	♀	♂	p
Respuesta clínica(%)	85.1	77,1	0.305
Nº inoc. leuprorelina	2.688	1.858	0.404
Nº inoc deslorelina	1.170	1.005	0.056
Muerte por EGA(%)	4.9	9.4	0.490
Muerte por otra causa(%)	32.0	23.2	0.702
Duración tratamiento(días)	413.1	288.6	0.037

Tabla 2:

	Tto. con leuprorelina	Tto. con deslorelina	Tto. con leup+deslo	p
Respuesta clínica(%)	67	96.96	86.13	0.082
Nº inoc. leuprorelina	3.366	0	3.548	<.001
Nº inoc. deslorelina	0	2.067	1.635	<.001
Muerte por EGA(%)	10.7	0.3	8.68	0.558
Muerte por otra causa(%)	39.5	13.3	26.38	0.335
Duración tratamiento(días)	180.8	480.4	481.3	0.003

Tabla 3:

	ADRENALECT.	NO ADRENALECT.	p
Respuesta clínica(%)	86.3	70.2	0.225
Nº inoc. leuprorelina	2.82	1.109	0.010
Nº inoc. deslorelina	0.929	1.47	0.045
Muerte por EGA(%)	7.2	6.5	0.945
Muerte por otra causa(%)	30.7	21.6	0.572
Duración tratamiento(días)	357.5	350.0	0.933

### Bibliografía:

1. Johnson-Delaney CA: Ferret adrenal disease: Alternatives to surgery. *Exotic DVM* 1999 , vol.1.4:19-22
2. Johnson-Delaney CA: Update on ferret adrenal research. *Exotic DVM* 4(3)2002:61-64
3. Schoemaker NJ: Gonadotropin receptor expression in the adrenal gland of healthy ferrets and ferrets with hyperadrenocorticism. Hyperadrenocorticism in ferrets; Thesis Universiteit Utrecht 2003: Chapter 9
4. Jaffré H, Siliart B.: La maladie surrénalienne du furet, *Pratique Vet* (2008) ;43:328-332
5. Wagner RA, Piche CA, Jöchle W, et al.: Clinical and endocrine responses to treatment with deslorelin acetate implants in ferrets with adrenocortical disease. *Am J Vet Res* 2005;66(5):910-4.
6. Johnson-Delaney CA.: Update of Ferret Adrenal Disease: Etiology, Diagnosis, and Treatment: AEMV Proceedings 2006; 124-128
7. Schoemaker NJ.: Current and future options for non-surgical neutering of ferrets. Hyperadrenocorticism in ferrets. Thesis Universiteit Utrecht 2003: Chapter 10
8. Proháczik A., Kulcsár M., Trigg T. et al.: Comparison of four treatments to suppress ovarian activity in ferrets (*Mustela putorius furo*); *Veterinary Record* (2010) 166:74-78

9. Schoemaker NJ, Pabon M., Moorman-Roest J,: Deslorelin Implants as an Alternative for Surgical Castration in Ferrets, AEMV Proceedings, 2010, session 180
10. Schoemaker NJ, van Deijk R, Muijlaert B, et al.: Use of a gonadotropin releasing hormone agonist implant as an alternative for surgical castration in male ferrets (*Mustela putorius furo*). *Theriogenology*. 2008 Jul 15;70(2):161-7
11. Lennox AM.: How I manage endocrine disorders in ferrets; Proceedings of the NAVC Congress 2007, Orlando Florida:1663
12. Simone-Freilicher E.: Adrenal Gland Disease in Ferrets, *Vet Clin Exot Anim* 11 (2008):134
13. Schoemaker NJ, Schuurmans M, Moorman H, et al.: Correlation between age at neutering and age at onset of hyperadrenocorticism in ferrets. *J Am Vet Med Assoc* 2000;216:195-7
14. Chen S.: Advanced Diagnostic Approaches and Current Medical Management of Insulinomas and Adrenocortical Disease in Ferrets (*Mustela putorius furo*) *Vet Clin Exot Anim* 13 (2010) :447
15. Kuijten AM, Schoemaker NJ, Voorhout G.: Ultrasonographic Visualization of the Adrenal Glands of Healthy Ferrets and Ferrets With Hyperadrenocorticism; *J Am Anim Hosp Assoc* 2007;43:78-84.
16. Schoemaker NJ, Kuijten AM, Voorhout G,: Effect of a Deslorelin Implant on Adrenal Size and LH-Receptor Activity in Ferrets with Hyperadrenocorticism, 18th *ECVIM-CA Congress*, 2008
17. Johnson-Delaney CA.: Medical Therapies for Ferret Adrenal Disease. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*, Vol 13, No 1 ( January), 2004: 3-7
18. Wagner RA, Bailey EM, Schneider JF, et al.: Leuprolide acetate treatment of adrenocortical disease in ferrets. *J Am Vet Med Assoc* 2001;218:1272–4.
19. Vinke CM , Remko van Deijk , Houx BB, et al.: The effects of surgical and chemical castration on intermale aggression, sexual behaviour and play behaviour in the male ferret (*Mustela putorius furo*). *Applied Animal Behaviour Science* 2008; 115 :104–121
20. Mayer J. :Update on Adrenal Gland Disease in Ferrets. Proceedings of the North American Veterinary Conference 2006; Vol 20:1744-1745
21. Wagner RA, Finkler MR, Fecteau KA, et al: The Treatment of Adrenal Cortical Disease in Ferrets with 4.7 mg Deslorelin Acetate Implants. *Journal of Exotic Pet Medicine* 2009 ;N°2(April):146-152
22. Prohaczik a., Kulcsar M., Huszenicza Gy. Deslorelin treatment of hyperoestrogenism in neutered ferrets (*Mustela putorius furo*): a case report. *Veterinari Medicina*, 2009;54 (2): 84–95