

MONITORAGGIO ECOGRAFICO DELL'OVULAZIONE NELLA CAGNA: RISULTATI PRELIMINARI

ULTRASONOGRAPHIC MONITORING OF OVULATION IN BITCHES: PRELIMINARY REPORT

IACOPO VANNOZZI ⁽¹⁾, CECILIA BENETTI ⁽²⁾,
ALESSANDRA ROTA ⁽¹⁾, MONICA PREGLIASCO ⁽³⁾

RIASSUNTO

Gli autori descrivono la loro esperienza inerente il monitoraggio ecografico dell'ovulazione in sei cagne. I reperti ecografici sono stati interpretati correlandoli con la colpocitologia e il dosaggio del progesterone ematico durante le fasi di proestro ed estro. Durante la fase preovulatoria l'ovaia appare ovoidale e contiene strutture rotondeggianti anecogene (follicoli), nel periodo postovulatorio diventa bozzellata per la presenza di strutture ipocogene (corpi lutei) che sporgono dalla sua superficie. In nessun caso è stato possibile osservare il collasso dei follicoli durante l'ovulazione. Poiché è stata osservata una correlazione significativa tra l'aumento preovulatorio del progesterone plasmatico e l'ispessimento della parete follicolare (luteinizzazione preovulatoria), gli autori ritengono che l'ecografia possa costituire un valido ausilio nella determinazione del momento dell'ovulazione nella cagna.

Parole chiave: ecografia, ovaia, ovulazione, cagna.

SUMMARY

The authors describe their experience about ultrasonographic monitoring of ovulation in six bitches. Ultrasonographic findings were correlated with colpocitology and progesterone plasma concentration during proestrus and estrus. During the preovulatory period ovary is ovoidal-shaped and contains anechoic structures (follicles); after ovulation, the presence of hypoechogenic structures (corpora lutea) protruding above the surface of the ovary makes the ovarian profile irregular. Follicular collapse was not detected during ovulation. Because a significant correlation between preovulatory elevation of plasma progesterone levels and follicular wall thickening (preovulatory luteinization)

⁽¹⁾ Dipartimento di Clinica Veterinaria - Direttore Prof. Fabio Carlucci.

⁽²⁾ Dottorando in Medicina d'Urgenza Veterinaria, anno 2000.

⁽³⁾ Collaboratore esterno.

was observed, the authors assume that ultrasonography might be a useful tool in timing ovulation in bitches.

Key words: ultrasonography, ovary, ovulation, bitch.

INTRODUZIONE

La diffusione sempre maggiore dell'allevamento della specie canina richiede al veterinario maggiori competenze nel settore riproduttivo, in particolar modo per quel che concerne l'accoppiamento e la gravidanza. Visto il notevole incremento del valore dei soggetti impiegati nella riproduzione, risulta spesso fondamentale stabilire il momento migliore per l'accoppiamento in modo da ridurre al minimo gli insuccessi riproduttivi. Questo "momento" può risultare difficile da individuare facendo affidamento sulla sola osservazione del comportamento estrale della cagna: sono numerose le cagne che indipendentemente dalle fasi del ciclo sono disponibili o meno all'accoppiamento. Le modificazioni quali/quantitative delle perdite vaginali non forniscono indicazioni inequivocabili per stabilire il giorno in cui deve avvenire la monta. La ricerca per il miglioramento della prolificità nella specie canina ha portato quindi a cercare di definire con precisione il momento esatto dell'ovulazione e quindi il giorno propizio per l'accoppiamento.

La cagna è un animale monoestrale stagionale: presenta un solo ciclo estrale per ogni stagione sessuale e l'intervallo tra i due cicli è mediamente di 7-8 mesi, con variazioni che oscillano dalle 16 alle 56 settimane (Aguggini e coll., 1992). Il ciclo estrale è costituito da quattro fasi:

- Proestro: fase di incremento dell'attività follicolare ovarica che precede l'estro. Inizia con la comparsa delle perdite siero-ematiche vulvari e termina con l'insorgenza di atteggiamenti di recettività sessuale.
- Estro: fase fertile in cui si verifica l'ovulazione, è caratterizzato dalla disponibilità all'accoppiamento.
- Diestro: caratterizzato dall'inizio dell'attività luteinica ovarica. Inizia con la sospensione della disponibilità all'accoppiamento.
- Anestro: intervallo tra la fine della fase luteinica e l'inizio del successivo proestro.

Durante la fase proestrale gli estrogeni rappresentano la componente endocrina predominante e sono responsabili di tutte le modificazioni anatomiche e comportamentali peculiari di questa fase del ciclo. Nelle prime fasi del proestro gli estrogeni raggiungono concentrazioni superiori a 25 pg/ml, con oscillazioni fino a 60-70 pg/ml in proestro avanzato. Il picco estrogenico principale si realizza 24-48 ore prima dell'inizio dell'estro, fase che vedrà una progressiva riduzione del tasso di estrogeni fino al raggiungimento della soglia basale (15 pg/ml). I tassi di progesterone sono invece ridotti per tutta la fase proestrale, con la sola eccezione delle ultime 12-24 ore, nelle quali superano il livello basale (da valori inferiori a 0,5 ng/ml a valori compresi tra 0,5 e 1 ng/ml) segnando la fine del proestro. Nelle fasi immediatamente precedenti il calore e in concomitanza con la riduzione di sintesi degli estrogeni, si verifica la luteinizzazione di alcune cellule follicolari, con conseguente sintesi di progesterone. Quest'ultimo supera la concentrazione di 1 ng/ml 24-48 ore prima del picco di LH, indicando quindi la presenza di tessuto luteinico attivo, antecedente la formazione dei corpi lutei. Il picco di LH scatena i processi ovulatori entro 24-72 ore e la successiva formazione dei corpi lutei con massiva sintesi di progesterone, la cui concentrazione continuerà ad aumentare nelle 1-3 settimane successive. A differenza di altre specie animali, quindi, la sintesi di progesterone inizia prima ancora della formazione dei corpi lutei (Feldman & Nelson, 1998).

Tab. I. Correlazione tra livelli sierici di progesterone e fasi del ciclo riproduttivo nella cagna (Root Kustritz).

Progesterone sierico ng/ml	Fase del ciclo
Inferiore a 1	Anestro o proestro
1,0-1,9	3 giorni prima dell'ovulazione
2,0-2,9	2 giorni prima dell'ovulazione
3,0-3,9	1 giorno prima dell'ovulazione
4,0-10,0	Ovulazione
–	2 giorni dopo l'ovulazione
Superiore a 10	1-5 giorni dopo l'ovulazione

Diversi metodi di indagine del ciclo estrale sono stati descritti da molti autori; alcuni, come l'endoscopia vaginale, risultano efficaci, ma talvolta non facilmente applicabili; altri, invece, come la colpocitologia ed il dosaggio dei livelli ematici del progesterone e degli estrogeni risultano più facilmente realizzabili (Concannon e coll., 1977).

Per quanto riguarda l'impiego dell'ecografia come metodica non invasiva per la determinazione del momento esatto dell'ovulazione non sono ancora a disposizione risultati definitivi (Bigliardi e coll., 2001). Nella cagna infatti l'osservazione ecografica delle gonadi risulta spesso difficoltosa, in particolar modo nelle fasi di diestro e anestro (Boyd e coll., 1993).

Lo scopo della nostra ricerca è stato quello di monitorare lo sviluppo dei follicoli ovarici e l'ovulazione tramite indagine ecografica, confrontando le immagini ottenute con la citologia vaginale e la concentrazione ematica del progesterone.

MATERIALI E METODI

L'indagine è stata condotta su 6 cagne di razza diversa (Golden Retriever, Dobermann, Greyhound, Piccolo Levriero Italiano, Dalmata, meticcio) di età compresa tra due e otto anni. L'anamnesi riportava cicli estrali regolari per tutti i soggetti. Le cagne sono state sottoposte, ogni due giorni, a colpocitologia dall'inizio del proestro al fine di identificare la fase di tardo proestro e inizio dell'estro, momento in cui è iniziata anche l'indagine ecografica. È stato considerato come primo giorno di proestro quello in cui il proprietario riportava l'inizio delle perdite vaginali. L'esame ecografico è stato condotto ogni due giorni fino ad ovulazione avvenuta, momento individuato sulla base della concentrazione plasmatica del progesterone. Dall'inizio dell'estro è stato infatti eseguito il dosaggio del progesterone ematico. La determinazione quantitativa del progesterone è stata ottenuta mediante la tecnica ELFA (Enzyme linked Fluorescent Assay), che associa il metodo immunoenzimatico ad una rilevazione finale in fluorescenza.

L'esame ultrasonografico è stato eseguito impiegando un ecografo Toshiba Core Vision Pro (modello SSA-350 A) munito di due sonde: una Convex multifrequenza da 3,7 MHz (3,0 - 3,7 - 5,0 MHz) e una Microconvex multifrequenza da 7,0 MHz (5,0 - 7,0 - 8,0 MHz). I sog-

getti sono stati posizionati in decubito dorsale, oppure laterale destro per l'osservazione dell'ovaia sinistra e viceversa per l'ovaia controlaterale. L'ovaia è stata individuata utilizzando come punto di repere il polo caudale del rene corrispondente: la gonade si trova generalmente 1-2 cm posteriormente al rene, medialmente o lateralmente ad esso. Per lo studio ecografico delle ovaie sono state impiegate solo scansioni longitudinali viste le ridotte dimensioni dell'asse trasversale delle gonadi.

RISULTATI

Le immagini ecografiche delle ovaie sono state interpretate correlandole alla citologia vaginale e alla concentrazione plasmatica del progesterone. Durante il tardo proestro (momento in cui è iniziata l'indagine ecografica) è stato possibile osservare la presenza di piccoli follicoli (circa 2 mm di diametro) che apparivano come strutture rotondeggianti anecogene contenute all'interno dell'ovaia stessa. In questa fase i follicoli non risultavano sporgere dalla superficie della gonade che aveva quindi un aspetto globoso. La dimensione dei follicoli è aumentata con il progredire del proestro e dell'estro fino a raggiungere i 6-7 mm di diametro nella fase preovulatoria, cioè quando la concentrazione plasmatica del progesterone risultava compresa tra 1 e 4 ng/ml. Durante quest'ultima fase i follicoli risultavano ben visibili, con pareti iperecogene sufficientemente distinguibili. Confrontando le immagini ecografiche con la concentrazione plasmatica del progesterone è risultato che questo ispessimento della parete follicolare corrisponde al fenomeno della luteinizzazione preovulatoria del follicolo. Durante l'ovulazione non è stato possibile osservare il collasso dei follicoli con scomparsa dell'antro anecogeno, ma si è riscontrato un progressivo ispessimento della parete follicolare con aumento di ecogenicità che suggerisce una diminuzione del contenuto liquido e un aumento di tessuto. Una volta avvenuta l'ovulazione (progesterone > 10 ng/ml) l'esame ecografico ha messo in evidenza la presenza di strutture ipoecogene rotondeggianti, simili a follicoli, con parete relativamente spessa (corpi lutei) sporgenti sulla superficie della gonade che aveva così assunto un aspetto bozzellato, a grappolo.

DISCUSSIONE

Durante il diestro e l'anestro, viste le ridotte dimensioni, le ovaie risultano di difficile individuazione; lo sviluppo follicolare e l'aumento delle dimensioni della gonade durante il proestro e l'estro facilita la sua osservazione ecografica. All'inizio della fase proestrale l'ovaia presenta un'ecogenicità uniforme del parenchima, uguale o leggermente superiore a quella della corticale renale. La forma è ovale e i margini poco distinti (Poulsen Nautrup & Tobias, 1998). A partire dal secondo giorno del proestro risultano identificabili piccoli follicoli anecogeni, che aumentano di dimensione con il progredire del proestro e dell'estro. In questo periodo anche l'ovaia aumenta di dimensioni, mantenendo sempre una forma globosa e margini regolari. Durante l'estro i follicoli risultano facilmente distinguibili sotto forma di strutture anecogene rotondeggianti e, nella fase preovulatoria si osserva un progressivo ispessimento della loro parete. Correlando i rilievi ecografici con le concentrazioni plasmatiche del progesterone, si è potuto osservare che quest'ultimo fenomeno si verifica quando il progesterone ha una concentrazione di 1-4 ng/ml ovvero in concomitanza alla luteinizzazione delle cellule della granulosa del follicolo che precede l'ovulazione.

Al momento dell'ovulazione, nella cagna, i follicoli non collassano ma si trasformano gradualmente in corpi lutei e questo rende difficile l'individuazione del momento esatto dell'ovulazione con la sola indagine ecografica. Il mancato collabimento del follicolo potrebbe essere attribuibile all'ispessimento preovulatorio della parete che si verifica in conseguenza del fenomeno di luteinizzazione. Nella fase postovulatoria è ancora possibile osservare la presenza di aree anecogene che rappresentano strutture contenenti liquido: queste ultime possono essere follicoli che non hanno ovulato, corpi emorragici, corpi lutei iniziali o cisti luteiniche. La possibilità di dosare il progesterone plasmatico consente comunque di interpretare correttamente questo tipo di rilievo. La difficoltà nel determinare il momento dell'ovulazione è perciò da attribuire fundamentalmente alla persistenza dell'area ipo/anecogena anche dopo l'ovulazione.

Le uniche informazioni rilevabili ecograficamente sono dunque rappresentate dalle modificazioni di dimensioni e di struttura a cui va incontro l'ovaia. Durante il proestro e l'estro, fino all'ovulazione, l'o-

vaia aumenta di volume, mantenendosi uniforme ed ovoidale; durante l'ovulazione e la formazione del corpo luteo, l'ovaia assume invece una forma bozzellata con margini irregolari.

Risulta quindi evidente che è necessario acquisire una notevole esperienza nell'osservazione delle modificazioni ecografiche a cui vanno incontro le gonadi in modo da poterle interpretare correttamente e individuare sulla base di queste il momento dell'ovulazione. Potendo usufruire di apparecchiature di elevata qualità, probabilmente è possibile osservare con precisione il momento in cui si verifica la luteinizzazione preovulatoria del follicolo e programmare sulla base di questo rilievo l'eventuale accoppiamento. La citologia vaginale rimane comunque un metodo di fondamentale importanza per determinare le fasi del ciclo ed indirizzare l'esame ecografico, essendo inoltre facile da attuarsi e poco dispendiosa. Il dosaggio del progesterone plasmatico resta un esame fondamentale per predire il momento dell'ovulazione, considerando che il fenomeno della luteinizzazione preovulatoria si verifica circa tre giorni prima dell'ovulazione.

I limiti principali del monitoraggio ecografico sono rappresentati dalla scarsa collaborazione di alcuni soggetti e dalla disponibilità del proprietario a sottoporre la cagna ad esame ecografico per diversi giorni consecutivi. In alcuni casi può inoltre risultare difficile visualizzare le gonadi per la presenza di abbondante tessuto adiposo periviscerale o per l'interposizione di anse intestinali meteoriche. In conclusione, individuare il momento dell'ovulazione in una cagna non è facile. Comunque, potendo usufruire di un ecografo di alta qualità, con più tipi di sonde, e avvalendosi della citologia vaginale come metodo di indagine di supporto, eventualmente accompagnato dal dosaggio del progesterone al momento opportuno, si possono raggiungere buoni risultati.

BIBLIOGRAFIA

- AGUGGINI G., BEGHELLI V., GIULIO L.F. (1992). Fisiologia degli animali domestici con elementi di etologia. UTET, Torino.
- BIGLIARDI E., PARMIGIANI E., MORINI G., AMBROSI V. (2001). Monitoraggio ecografico dell'ovulazione nella cagna. Convegno su biodiversità e riproduzione animale. Bari.
- BOYD J.S., RENTON J.P., HARVEY M.J., NICKSON D.A., ECKERSALL P.D., FER-

- GUSON J.M. (1993). Problems associated with ultrasonography of the canine ovary around the time of ovulation. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 47: 101-105.
- CONCANNON P.W., HANSEL W., MC ENTEE K. (1977). Changes in LH, progesterone and sexual behaviour associated with preovulatory luteinization in the bitch. *Biology of Reproduction*, 17: 604-613.
- FELDAMN E.C., NELSON R.W. (1998). *Endocrinologia e riproduzione del cane e del gatto*. UTET, Torino, seconda edizione.
- POULSEN NAUTRUP C., TOBIAS R. (1998). *Testo atlante di ecografia del cane e del gatto*. UTET, Torino.
- ROOT KUSTRITZ M.V. Use of Commercial Luteinizing Hormone end Progesterone Assay Kits in Canine Breeding Management. In: Concannon P.W., England G., Verstegen J.: *Recent Advances in Small Animal Reproduction*.