

Ciclo ovarico nella cagna e criteri di monitoraggio della fase fertile

Luisa Valentini

*Professore associato di Clinica Ostetrica e Ginecologia Veterinaria - Università degli Studi Aldo Moro, Bari
Dottore di Ricerca in Biologia della Riproduzione Umana ed Animale
Specialista in Fisiopatologia della Riproduzione degli Animali Domestici*

Ciclo ovarico

La cagna è una femmina monoestrale non stagionale, in quanto presenta un solo ciclo estrale per stagione riproduttiva e l'attività ciclica non è condizionata dalle variazioni fotoperiodiche annuali; pertanto, l'estro può manifestarsi in qualunque mese dell'anno. La pubertà è correlata alla crescita somatica: nella maggior parte delle cagne è raggiunta intorno agli 8-12 mesi, ma soggetti di taglia grande/gigante possono essere più tardivi e diventare puberi oltre l'anno, mentre quelli di taglia piccola possono diventare puberi già a 4-5 mesi. In ogni caso, si considerano i 24 mesi come limite ancora fisiologico, oltre si parla di ritardo patologico. L'intervallo medio tra due cicli successivi è di 6-7 mesi, con limiti compresi tra 4-12 mesi. La variabilità è in funzione del soggetto, ma anche della razza: il Basenji ha un calore annuale stagionale; alcune cagne appartenenti a razze di tipo primitivo (ad es. Cane Lupo Cecoslovacco) manifestano un calore/anno; in altre razze, come Rottweiler o Pastore Tedesco, non sono infrequenti soggetti con intervalli interestrals più brevi, di 4-5 mesi. Intervalli inferiori ai 4 mesi possono interferire negativamente con la fertilità. In ogni caso, è sempre auspicabile un intervallo interestrals lungo, in quanto le cagne con calori ravvicinati, se non hanno una riproduzione relativamente frequente, sono più esposte al rischio di patologie, quali piometra e neoplasie mammarie.

L'avvio del ciclo riproduttivo è in parte influenzato da fattori ambientali e sociali: la coabitazione con altre cagne intere in genere porta nel tempo a una sincronizzazione degli estri, stimolati dai feromoni, ed è pratica usuale cercare di indurre il calore in una cagna tenendola vicino a una già in estro.

Il ciclo ovarico è costituito da quattro fasi: proestro, estro, diestro, anestro.

Il *proestro* è la fase di rapida crescita e di attività endocrina dei follicoli ovarici preovulatori, caratterizzata dall'incremento ematico degli estrogeni prodotti dalle cellule follicolari della granulosa che induce le manifestazioni tipiche del calore. La sua durata media è di 10-12 giorni, ma può essere molto breve (3-4 gg) o prolungarsi fino a 24-25 giorni. Da un punto di vista endocrino, il proestro è una fase prevalentemente, ma non sempre esclusivamente, estrogenica. Gli estrogeni rappresentano la componente ormonale predominante e sono responsabili delle modificazioni anatomiche, comportamentali (insieme al progesterone e, forse, agli androgeni) e colpocitologiche. Esteriormente, si manifesta con progressivo edema vulvare e perineale e comparsa delle tipiche perdite siero-ematiche dalla rima vulvare, di origine endometriale (**Foto 1**).

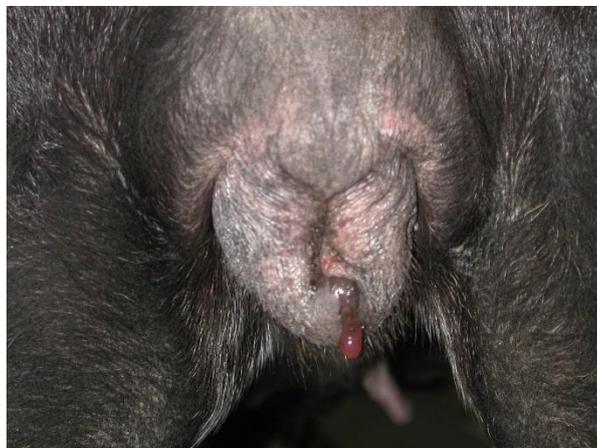


Foto 1 – Modificazioni fisiche del calore nella cagna: edema vulvare e tipiche perdite siero-ematiche, di origine endometriale.

Tuttavia, le modificazioni fisiche sono molto variabili da soggetto a soggetto e in alcune cagne, specie se di taglia contenuta, possono essere minime e non facilmente rilevabili. Anche l'entità e la durata delle perdite vulvari è molto variabile, in relazione a caratteristiche individuali, età (le cagne geriatriche tendono ad avere manifestazioni più blande), alimentazione.

All'inizio del proestro, nelle ovaie sono presenti follicoli di 1-1.5 mm; verso la fine, quando le concentrazioni di progesterone sono ancora inferiori a 1 ng/ml, i follicoli presentano dimensioni di 2-5 mm.

A livello uterino, gli estrogeni determinano iperplasia dell'endometrio e, con l'approssimarsi dell'estro, è probabile che siano coinvolti nel determinare l'apertura della cervice, in modo da permettere l'ingresso in utero degli spermatozoi. Tuttavia, i fattori che regolano le modificazioni funzionali della cervice nella cagna non sono ancora stati ben definiti.

Nel proestro, la cagna inizialmente mostra un atteggiamento di rifiuto netto all'accoppiamento, respingendo il maschio anche con aggressività, poi progressivamente diventa meno reattiva, limitandosi ad assumere posture che impediscono la monta.

I livelli ematici di estradiolo aumentano progressivamente, fino a 60-70 pg/ml nel proestro avanzato, anche se vi è ampia variabilità individuale. Nella maggior parte delle cagne, i valori massimi sono raggiunti 24-48 ore prima dell'inizio dell'estro, per poi iniziare a diminuire in concomitanza con l'incremento preovulatorio di progesterone. I livelli ematici di progesterone rimangono basali per quasi tutta la fase proestrale, aumentando leggermente nelle ultime 24-48 ore (da valori <0,5 ng/ml a valori compresi tra 0,9-2 ng/ml) a seguito della luteinizzazione di alcune cellule della teca follicolare; questo evento innesca il rilascio del picco preovulatorio di LH (l'ormone che stimola l'ovulazione) e, da un punto di vista comportamentale, la recettività all'accoppiamento. Le concentrazioni ematiche di progesterone in genere superano 1 ng/ml 24-48 ore prima del rilascio del picco di LH, che in genere avviene con valori compresi tra 1.5-2 ng/ml. Tuttavia, alcune cagne mantengono per più giorni questi valori prima di ovulare.

L'estro ha durata media di 5-8 giorni, con limiti di 1-18 giorni, e si identifica da un punto di vista comportamentale come il periodo di accettazione del maschio. Inizia col primo giorno di recettività al salto e termina col primo giorno di rifiuto. La cagna assume l'atteggiamento tipico di spostamento laterale della coda e contrazione del perineo. Il quadro comportamentale di disponibilità all'accoppiamento comprende fasi di accettazione progressiva: risposte riflesse (spostamento laterale o verso l'alto della coda, contrazioni del perineo con esposizione della vulva, lieve flessione e divaricazione degli arti posteriori; **Foto 2**); salto; penetrazione; formazione del nodo copulatorio. Queste possono comparire in rapida sequenza, nell'arco di un giorno, o in maniera più graduale, nell'arco di più giorni.



Foto 2 - Postura di cagna in estro: spostamento laterale e verso l'alto della coda, esposizione della vulva, divaricazione degli arti posteriori.

Nella maggior parte delle cagne, l'avvio coincide con l'incremento preovulatorio del progesterone; tuttavia, alcune possono essere già recettive prima, solo a seguito dell'aumento estrogenico o, al contrario, più avanti. In alcuni soggetti fertili, con normale profilo endocrino, il comportamento estrale può manifestarsi già 2

giorni prima del picco di LH, o molto tardi, 6 giorni dopo, o essere del tutto assente. Rispetto agli eventi fisiologici, il suo inizio può quindi variare da un soggetto a un altro. Le cause di tale variabilità comportamentale non sono definite, ma è ipotizzabile che fattori sociali, eventuale coabitazione col maschio, stimolazioni feromonalì, possano incidere in tal senso.

È importante tenere presente che l'estro comportamentale non sempre coincide con l'estro colpocitologico (**Foto 3**).

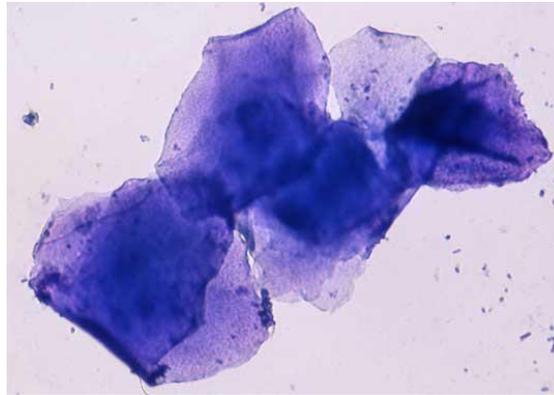


Foto 3 – Cellule epiteliali vaginali della fase estrale.

Le ovulazioni, ovvero la rottura dei follicoli e il rilascio dei relativi oociti nelle tube uterine, si verificano in genere in tale fase; i follicoli che hanno ovulato evolvono in corpi lutei, che producono attivamente progesterone determinandone il rapido incremento ematico. In generale, col diminuire degli estrogeni, l'edema e il turgore vulvare tendono a rientrare progressivamente e le perdite tendono a diventare più pallide o più scure e dense, e progressivamente meno frequenti. Tuttavia, esiste una notevole variabilità tra le cagne e in alcune la componente ematica rimane marcata per tempi più lunghi.

Il diametro follicolare aumenta progressivamente fino allo stadio preovulatorio, quando i follicoli raggiungono dimensioni di 5-7 mm. I follicoli si caratterizzano per una parete spessa e all'esame ecografico non sempre sono facilmente distinguibili dai corpi lutei in formazione.

Da un punto di vista endocrino, è una fase caratterizzata dalla progressiva riduzione dell'estradiolo che rapidamente rientra ai valori basali, inferiori a 15 pg/ml, e dall'incremento progressivo del progesterone. Il picco di LH, che nella maggior parte dei soggetti si verifica 24-48 ore dall'inizio di tale fase, stimola le ovulazioni, che avvengono 36-50 ore dopo.

Gli oociti non sono fecondabili subito dopo l'ovulazione, a differenza di diverse altre specie, ma richiedono 2-3 giorni per evolvere in maturi. I valori di progesteronemia in questi tempi possono essere già molto diversi tra le cagne.

Il *diestro* è caratterizzato esclusivamente dall'attività luteale e si identifica con il primo giorno di rifiuto all'accoppiamento, fino al rientro del progesterone ematico ai livelli basali (< 0.5 ng/ml) per completa regressione dei corpi lutei; la durata media è di 70-75 giorni, ma può arrivare anche a 80-85 giorni. Nelle cagne gravide termina prima a seguito della rapida luteolisi che precede il parto. A livello ovarico, sono presenti corpi lutei attivi (**Foto 4**), la cui attività diventa massima intorno a 3-4 settimane dopo l'ovulazione, quando i livelli di progesteronemia sono più elevati, poi iniziano progressivamente a ridursi. L'utero è ispessito, per l'ipertrofia indotta dal progesterone, che determina intensa attività delle ghiandole endometriali. La cervice è chiusa.

Nella seconda metà del diestro, spesso le cagne presentano manifestazioni cliniche e comportamentali simili a quelle della gravidanza, in quanto l'assetto endocrino è sovrapponibile. Infatti, a partire dalla seconda metà del diestro, inizia ad essere prodotta la prolattina che, in sinergia col progesterone, determina modificazioni fisiche, come ipertrofia mammaria di varia entità, produzione di latte e, più raramente, dilatazione addominale, cui spesso si accompagnano atteggiamenti comportamentali tipici delle cagne gravide prossime

al parto, come il raspare, l'adozione di oggetti, disoressia, nervosismo. Tali manifestazioni possono protrarsi anche per 1-2 mesi, in assenza di terapia farmacologica.



Foto 4 – Reperto anatomico: ovaio in diestro in cui sono presenti 5 corpi lutei in piena attività. La freccia indica un corpo luteo.

L'*anestro* è la fase di inattività ovarica. È, quindi, il periodo compreso tra la fine dell'attività luteale e l'inizio del proestro successivo. Clinicamente non è distinguibile dal diestro e solo con la valutazione della progesteronemia è possibile distinguere le due fasi. Da un punto di vista funzionale è una fase molto importante, in quanto è durante questo periodo che la mucosa uterina (endometrio) regredisce e recupera le condizioni iniziali, modificate prima dalla stimolazione estrogenica nella fase follicolare e poi dal progesterone, in fase luteale. La maggiore o minore durata dell'intervallo interestrile è dovuta sostanzialmente alla lunghezza dell'anestro. Un anestro più lungo permette un recupero dell'endometrio migliore ed è sempre auspicabile. Un anestro breve può portare nel tempo a riduzione della fertilità e predispone l'utero alla piometra. Non sono ancora ben definiti i fattori che regolano la durata di questa fase.

Criteri di monitoraggio del periodo fertile

Il monitoraggio dell'ovulazione è fondamentale per garantire il massimo potenziale riproduttivo di una cagna, non solo come probabilità di gravidanza, ma anche come numero di cuccioli. La maggior parte dei casi di insuccesso fecondativo consegue a un non corretto monitoraggio della fase fertile. In altri termini, molte cagne considerate ipo-infertili, in realtà non hanno alcun problema clinico e un corretto management permette di risolvere il problema nel 90% dei casi.

La conoscenza del periodo ottimale di fertilità permette di programmare un singolo accoppiamento, evitando inutili stress aggiuntivi alla cagna ed eccessivo sfruttamento del maschio, se soggetto particolarmente richiesto dagli allevatori. Solo nel caso di soggetti non più giovani, o con seme di qualità mediocre, potrebbe essere necessario ripetere il salto, altrimenti una singola monta è sufficiente a garantire il massimo numero di fecondazioni possibili.

Definire in modo esatto il momento ovulatorio permette, inoltre, al clinico di calcolare con molta più precisione la data parto. Ciò risulta particolarmente importante, in quanto garantisce un intervento in tempi corretti in caso di distocia, specialmente nei soggetti che presentano inerzia uterina assoluta, in cui i segnali di parto sono minimi o nulli, o nel caso di gravidanze di 1-2 feti, in cui molto spesso il parto non si avvia e la gravidanza si protrae per tempi patologici che portano a morte i feti, se non si interviene tempestivamente. Il monitoraggio dell'ovulazione si basa su diversi criteri: modificazioni esteriori e comportamentali della cagna; esame colpocitologico; monitoraggio della progesteronemia; rilievo dell'incremento ematico prevulvatorio dell'LH; ecografia ovarica. Fatta eccezione per il rilievo dell'LH, che è un parametro molto preciso, tutti gli altri risentono di alcune variabili che devono sempre essere tenute presenti dall'allevatore e dal clinico.

I **segni fisici del calore** sono sostanzialmente l'edema vulvare, che determina progressivo ingrossamento e turgescenza della vulva, e le perdite vulvari, inizialmente di colore rosso vivo e progressivamente rosso più

scuro e più dense; alla fine del calore, tendono a schiarirsi e a ridursi di entità. Il sangue è di provenienza uterina e fluisce all'esterno per gravità. Tutte queste modificazioni sono indotte dall'aumento ematico dell'estradiolo, ma i segni si protraggono per alcuni giorni dopo la sua diminuzione.

Molti allevatori hanno l'usanza di accoppiare in maniera empirica la cagna intorno al dodicesimo giorno dall'inizio del rilievo delle perdite. Tale pratica è assolutamente imprecisa e non sono infrequenti gli accoppiamenti forzati, pratica assolutamente deprecabile, perché i giorni non sono quelli corretti. Il rilievo del calore è un dato soggettivo, non oggettivo. Un calore può essere non rilevabile, in quanto i segni sono poco evidenti; nelle cagne che vivono all'aperto, molto spesso i primi giorni possono sfuggire e quindi il calore è in fase più avanzata rispetto a quella ipotizzata. Inoltre, sempre più spesso, si osservano calori quasi silenti, con scarse perdite, manifestati solo dal comportamento estrale, in fase periovulatoria.

Il **comportamento estrale**, pur indotto dall'equilibrio endocrino, è anch'esso molto variabile da cagna a cagna. Come già riportato, la maggior parte delle cagne inizia ad accettare il maschio in concomitanza col rilascio del picco preovulatorio di LH, ma questa non è regola assoluta; inoltre, alcune cagne, per cattiva socializzazione o, purtroppo, per cattiva selezione, non attivano i corretti schemi comportamentali e rifiutano del tutto l'accoppiamento. La cagna pronta manifesta tutti i comportamenti descritti, in genere nell'arco di una giornata. Alcune cagne, invece, sono più graduali e progressive, per cui possono manifestare la tipica postura e lo spostamento della coda, ma poi rifiutare la penetrazione, o reagire quando i bulbi del glande si gonfiano per formare il nodo copulatorio, perché ancora non hanno attivato tutti gli schemi. Quindi, lo spostamento laterale della coda, non necessariamente indica una cagna pronta all'accoppiamento.

In molti casi, il rifiuto è dato dalla non corretta gestione della cagna quando viene portata del maschio, in quanto non si permette ai due partner di avvicinarsi gradualmente e di compiere il rituale di corteggiamento tipico della specie. L'ideale sarebbe sempre quello di mantenere i due soggetti liberi, dopo un primo approccio, in spazi adeguati e con pavimenti idonei, stabili e non scivolosi. Molti accoppiamenti mal gestiti esitano poi in contenimenti forzati, assolutamente da evitare. In casi di rifiuto, è sempre preferibile ricorrere all'inseminazione artificiale.

La **citologia vaginale** è un esame immediato e di facile esecuzione. L'epitelio vaginale si ispessisce per attiva replicazione delle cellule epiteliali indotta dall'incremento dell'estradiolo follicolare. Questo porta a una modificazione progressiva dei quadri citologici, che però risulta tendenzialmente speculare nella fase di proestro e di diestro iniziale, anche se nel diestro sono state descritte altre due tipiche morfologie cellulari. Tuttavia, le differenze spesso sono minime e non permettono di arrivare a conclusione certa senza l'ausilio di altri dati. Tale esame non ha precisione assoluta, in quanto i quadri possono non corrispondere perfettamente con la fase ovarica, per cui è utile come primo screening ma deve essere sempre associato ad altre valutazioni, quali il dosaggio ematico del progesterone o dell'LH. Nella fase finale, circa 96 ore post-ovulazione, il quadro si modifica rapidamente con comparsa di cellule intermedie e neutrofili e rapida riduzione dell'indice di cheratinizzazione. Il quadro di diestro citologico compare 5-6 giorni dopo il rilascio del picco preovulatorio di LH. Contrariamente alla fase follicolare, in cui la variabilità è più ampia, questo dato è più preciso per cui, in caso di valutazione tardiva, il rilievo del primo giorno di diestro colpocitologico permette di calcolare indirettamente il momento ovulatorio.

Il dosaggio del **picco preovulatorio dell'LH** è sicuramente un esame molto preciso, se eseguito correttamente. Tuttavia, richiede prelievi distanziati di circa 12 ore, in quanto intervalli giornalieri potrebbero non farlo rilevare, data la durata breve. Questo, risulta spesso troppo impegnativo per il proprietario.

Ormai è prassi comune monitorare le **variazioni del progesterone sierico**. Un errore ricorrente è quello di cercare un preciso range di valori ritenuti adeguati per l'accoppiamento. Più corretto, invece, è monitorare già prima, in modo da avere un quadro preciso del momento del rilascio dell'LH e delle ovulazioni. Questo perché l'incremento del progesterone già dall'ovulazione risente di una certa variabilità soggettiva, che si accentua col progredire dei giorni. Nella mia esperienza, ho ottenuto cagne gravide e con numero di cuccioli nella media della razza, accoppiate con valori di progesteronemia molto più elevati rispetto a quelli medi, disponendo dei rilievi precedenti.

Un altro aspetto importante è la tipologia di analisi eseguita. Tralasciando i test semi-quantitativi, che non permettono un monitoraggio altrettanto preciso, le tecniche di analisi quantitative (RIA; ELISA; chemiluminescenza) determinano piccole differenze di stima, che diventano più significative con l'aumentare dei valori. È quindi assolutamente importante che i dosaggi vengano fatti in laboratori qualificati e letti

sempre dalle stesse macchine, per evitare di introdurre variabili che possono portare a interpretazioni non corrette.

L'**esame ultrasonografico delle ovaie** può determinare il momento dell'ovulazione con buona accuratezza, valutando il transitorio aumento di ecogenicità dei follicoli al momento dell'ovulazione per un periodo di uno-due giorni, per poi ritornare anecogeni con la formazione del corpo luteo antrale. A oggi, non è noto se l'aumento di ecogenicità ovarico sia dovuto all'emorragia, al collasso follicolare o al cambiamento della composizione del fluido follicolare. Tuttavia, la tecnica ecografica nella cagna è meno precisa rispetto ad altre specie poiché i follicoli ovarici preovulatori hanno parete molto spessa e sono molto simili ai corpi lutei in formazione, alcuni follicoli non collassano al momento dell'ovulazione e inoltre spesso rimangono dei follicoli non ovulati. Per queste ragioni, andrebbero eseguiti almeno due esami ecografici al giorno per determinare l'ovulazione con più accuratezza, cosa abbastanza impegnativa. L'esame ecografico può essere utile per una stima, sia pure approssimativa, dei follicoli preovulatori.

In conclusione, un corretto monitoraggio dell'ovulazione non può essere fatto sulla base di una singola analisi, ma dall'integrazione delle diverse informazioni e indagini.

I segni esteriori e comportamentali dell'estro sono sicuramente utili, ma non sufficienti a definire in modo preciso lo stadio.

L'esame colpocitologico ha il vantaggio dell'immediatezza e della facile esecuzione ed è molto utile come prima indagine, ma deve essere sempre poi associato al rilievo del progesterone o dell'LH ematico.

Il rilievo del picco preovulatorio di LH è molto preciso, ma più impegnativo in quanto richiede prelievi più ravvicinati.

La valutazione della progesteronemia è l'esame più eseguito nella pratica clinica, associato alla citologia vaginale come primo screening. L'incremento del progesterone già all'ovulazione, ma soprattutto dopo, è variabile tra le cagne; è consigliabile effettuare più prelievi in modo da rilevare il valore (1.5-2 ng/ml) corrispondente al picco preovulatorio dell'LH e a distanza di 48 ore ripetere per confermare l'ovulazione (4-10 ng/ml). La cagna potrà essere accoppiata dopo 36-48 ore, considerando i tempi elevati di sopravvivenza degli spermatozoi canini nelle vie genitali femminili (in caso di seme congelato l'inseminazione è un po' più tardiva). I tempi per ripetere l'esame sono in funzione del valore precedente riscontrato, pertanto vanno definiti di volta in volta.

I campioni dovrebbero essere valutati sempre presso lo stesso laboratorio.

È fondamentale che la cagna venga gestita correttamente, sia per quanto riguarda l'accoppiamento che per il prosieguo. Accoppiamenti forzati, dovuti più spesso al non rispetto dell'etologia di specie che a reali problemi comportamentali, come anche lasciare la cagna dal maschio per alcuni giorni, può inficiare il risultato in quanto lo stress interferisce negativamente sia sulla fecondazione che sullo sviluppo embrionale. Inoltre, fare più accoppiamenti, oltre a non essere necessario in caso di monitoraggio corretto e utilizzando un maschio di accertata fertilità, può favorire infezioni uterine nel caso in cui le condizioni dell'utero o generali della cagna non fossero ottimali.

È importante sottolineare che il monitoraggio dell'ovulazione serve a identificare il momento migliore per la fecondazione della cellula uovo, ma non fornisce alcuna informazione riguardo alla condizione dell'apparato genitale o dello stato generale della fattrice. Pertanto, è sempre importante far controllare la cagna nell'imminenza del calore, in modo da escludere criticità e da permettere di affrontare la gravidanza nelle migliori condizioni.