

# Fisiologia del ciclo estrale nella cagna

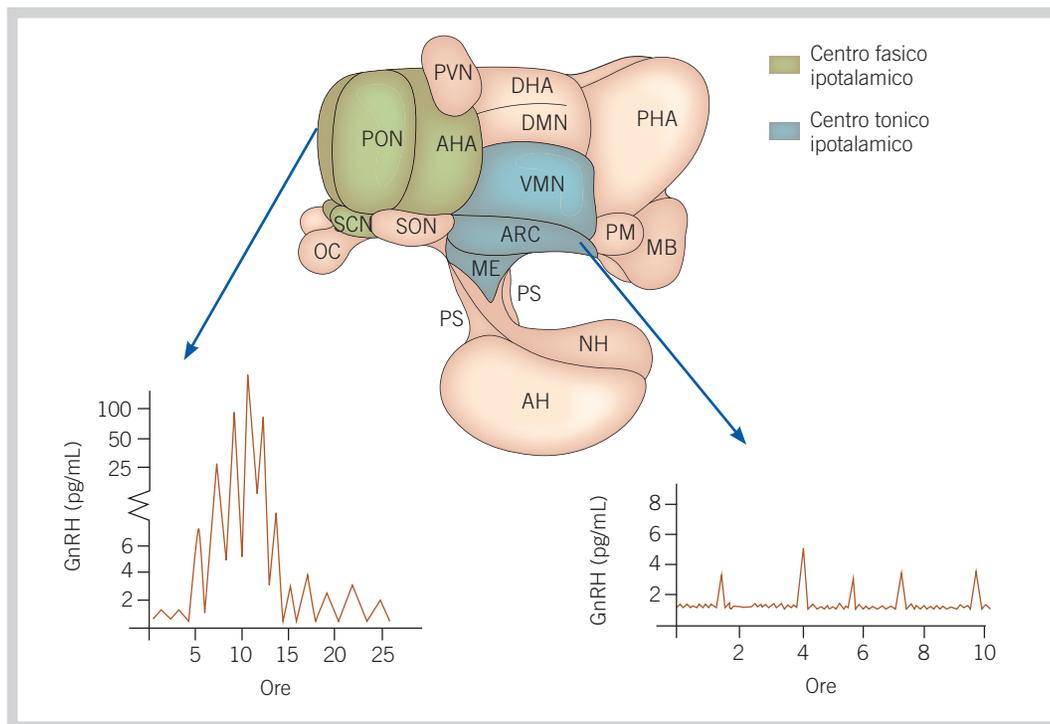
*Maria Carmela Pisu*

La fisiologia del ciclo estrale della cagna è particolarmente interessante poiché presenta delle peculiarità rispetto all'attività ciclica ovarica delle altre specie di mammiferi.

Nelle femmine delle diverse specie, il ciclo sessuale è controllato dall'asse riproduttivo ipotalamo-ipofisario, i cui organi sono già in grado in fase embrionale di svolgere il proprio ruolo e secernere il proprio ormone di competenza, a seguito di una corretta stimolazione. Ciò che ancora non è presente è la corretta comunicazione ormonale tra questi organi.

Nelle femmine dei mammiferi, a livello ipotalamico sono presenti due distinti centri neuronali che secernono l'ormone rilasciante le gonadotropine (GnRH): il Centro tonico secerne GnRH in maniera costante a livelli basali, mentre il Centro fasico produce l'ormone a picchi di ampiezza e frequenza differenti a seconda della specie (Fig. 1.1).

Durante il periodo di vita endouterina e la prima fase post nascita è il Centro tonico a essere attivo, mentre il Centro fasico risulta dormiente. L'ipotalamo secerne quindi piccole quantità di GnRH che stimolano la



**Figura 1.1** Rappresentazione schematica dell'attività dei due centri ipotalamici. Il Centro fasico secerne GnRH in picchi di altezza e frequenza definiti; il Centro tonico secerne costantemente piccole quantità di GnRH.

AH: Anterior Hypophysis; AHA: Anterior Hypothalamic Area; ARC: Arcuate Nucleus; DHA: Dorsal Hypothalamic Area; DMN: Dorsomedial Nucleus; MB: Mammillary Body; ME: Median Eminence; NH: Neurohypophysis; OC: Optic Chiasm; PHA: Posterior Hypothalamic Area; PM: Premammillary Nucleus; PON: Preoptic Nucleus; PS: Pituitary Stalk; PVN: Paraventricular Nucleus; SCN: Suprachiasmatic Nucleus; SON: Supraoptic Nucleus; VMN: Ventromedial Nucleus.

produzione di FSH (ormone follicolo stimolante) e l'accrescimento di alcuni follicoli. Le cellule della granulosa dei follicoli producono di conseguenza estradiolo, in quantità però non sufficiente a stimolare l'ipotalamo a secernere una concentrazione di GnRH tale da promuovere il picco di LH (ormone luteinizzante).

Al momento della maturazione ipotalamica si assiste a un abbassamento della soglia di stimolazione dei neuroni che diventeranno in grado di rispondere a piccole quantità di estradiolo; di conseguenza la maturazione ipotalamica si può dire avvenuta, nel momento in cui l'ipotalamo è in grado di rispondere correttamente a feedback positivi e negativi da parte degli ormoni sessuali.

Lo sviluppo dei neuroni ipotalamici è influenzato da alcuni parametri: il raggiungimento di una taglia minima, la genetica e l'esposizione a particolari stimoli ambientali come la presenza di maschi in attività e di femmine in calore.

In tutte le specie, il momento dell'insorgenza della pubertà di solito è di poco successivo al raggiungimento di circa il 75% del peso e dell'altezza da adulto. Nella cagna questo momento è fortemente influenzato dalla razza: gli esemplari di piccola taglia hanno pubertà più precoce rispetto a quelli di media e grande taglia (fino a 10 mesi) e le razze giganti hanno un'insorgenza delle prime manifestazioni estrali molto più tardiva (18-24 mesi).

La cagna è un animale monoestrale, cioè ha un solo ciclo estrale per periodo riproduttivo, seguito da un lungo periodo di riposo sessuale chiamato anaestro. È un animale non stagionale poiché non si possono riconoscere nell'arco dell'anno dei precisi periodi riproduttivi, ma si possono avere cagne in attività in qualsiasi periodo dell'anno. Sarebbe più corretto definirla "destagionalizzata", poiché le lupe, le razze canine più ancestrali (Basenji, Malamut, Lupo italiano), e le cagne che vivono in branchi allo stato brado, mostrano precise stagioni riproduttive durante l'anno, influenzate dal fotoperiodo: nell'emisfero Nord queste razze hanno calori più frequentemente nei mesi primaverili ed estivi, mentre nell'emisfero Sud in quelli autunnali e invernali.

L'intervallo medio, ovvero la distanza tra due cicli sessuali, nella specie canina è di 7 mesi. È importante parlare di intervallo *medio* perché il periodo interestrale è molto variabile tra le razze: cagne di piccola taglia possono avere anche tre cicli sessuali all'anno, mentre razze nordiche, ancestrali o africane, come il Basenji, presentano un intervallo anche di 11-12 mesi e quindi un solo calore all'anno.

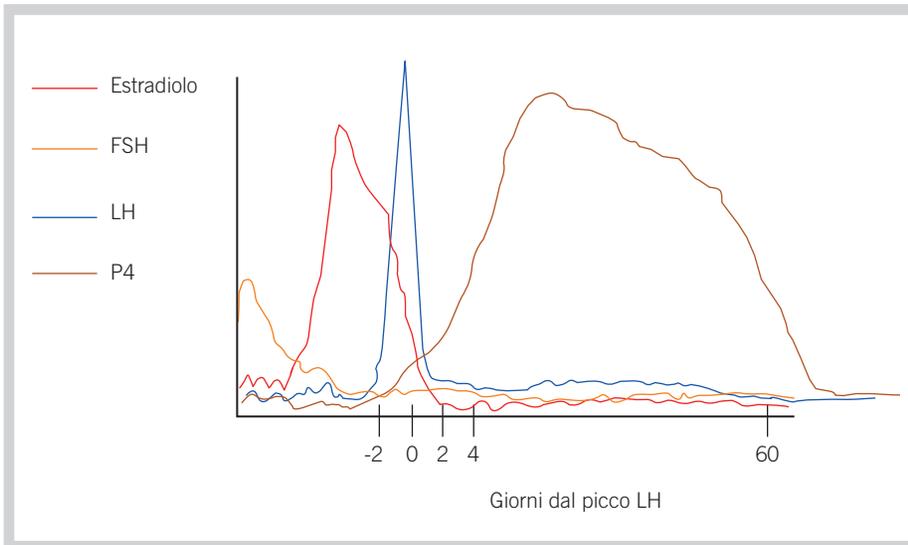
La cagna non ha inoltre una menopausa, perciò il ciclo si manifesta per tutta la vita, anche se, con il passare degli anni, diventa irregolare, con interstria prolungati o a volte molto brevi e periodi proestrali molto più lunghi e intensi.

## Il ciclo estrale

A dare il via alla cascata di eventi di un ciclo sessuale è la produzione e secrezione pulsatile, da parte dei neuroni secretori ipotalamici, di GnRH. Questo neuroormone attraverso lo shunt ipotalamo-ipofisario arriva ai recettori dell'ipofisi e stimola la produzione di FSH. L'FSH secreto nel torrente circolatorio arriva alle ovaie dove promuove la crescita dei follicoli. In realtà alcuni follicoli iniziano a crescere anche durante l'anaestro, ma andranno rapidamente incontro ad atresia; solo i follicoli in crescita sotto l'influenza dell'FSH giungono a maturazione e acquisiscono le aromatasi, enzimi indispensabili per la biosintesi degli estrogeni, insieme alla capacità di portare a maturazione gli ovociti presenti al loro interno. In ogni ovaio vengono reclutati 10-15 ovociti ma solo alcuni (2-8) matureranno e raggiungeranno le dimensioni corrette per ovulare. I follicoli oofori primari, costituiti da uno strato di cellule follicolari che circondano l'ovocita immaturo, sotto lo stimolo delle gonadotropine ipofisarie (FSH e LH) vanno incontro a una serie di modificazioni (maturazione), con le cellule follicolari che si moltiplicano e formano più strati (membrana granulosa) intorno all'ovocita. Le cellule della granulosa producono e secernono principalmente estradiolo e inibina.

Gli estrogeni raggiungono la loro massima concentrazione plasmatica negli ultimissimi giorni di proestro per poi iniziare a diminuire, provocando delle modificazioni cliniche e comportamentali tipiche della fase proestro-estrale (Fig. 1.2). Per una particolarità della cagna, alcune cellule follicolari in questo momento subiscono una luteinizzazione preovulatoria e iniziano quindi a produrre progesterone. Questo particolarissimo assetto ormonale, con gli estrogeni in discesa e il progesterone in aumento, ha un feedback positivo sull'asse ipotalamo-ipofisario e stimola la liberazione da parte dell'ipofisi della seconda gonadotropina: l'ormone luteinizzante (LH).

L'LH viene liberato dall'ipofisi in maniera repentina con un picco di durata inferiore alle 24 ore, che



**Figura 1.2** Grafico delle concentrazioni ematiche dei vari ormoni durante un ciclo sessuale. Il giorno 0 è il giorno del picco dell'LH.

promuove la deiscenza follicolare, l'espulsione dell'ovocita e la luteinizzazione delle cellule della granulosa che convertiranno la biosintesi ormonale nella produzione totale di progesterone.

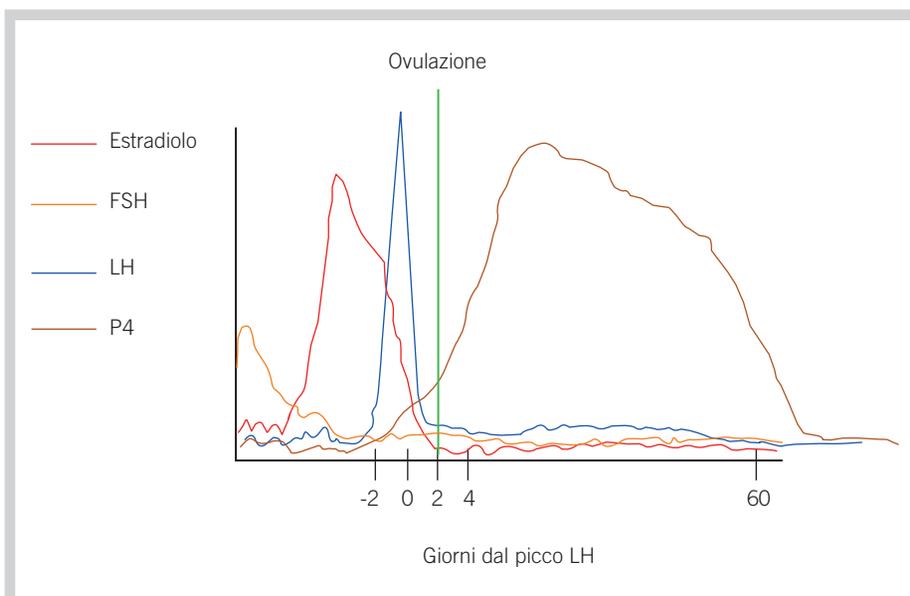
Sia gli estrogeni sia il progesterone hanno attività di feedback negativo:

- sull'ipotalamo, bloccando la secrezione pulsatile di GnRH;
- direttamente sull'ipofisi, bloccando la produzione e la secrezione di gonadotropine.

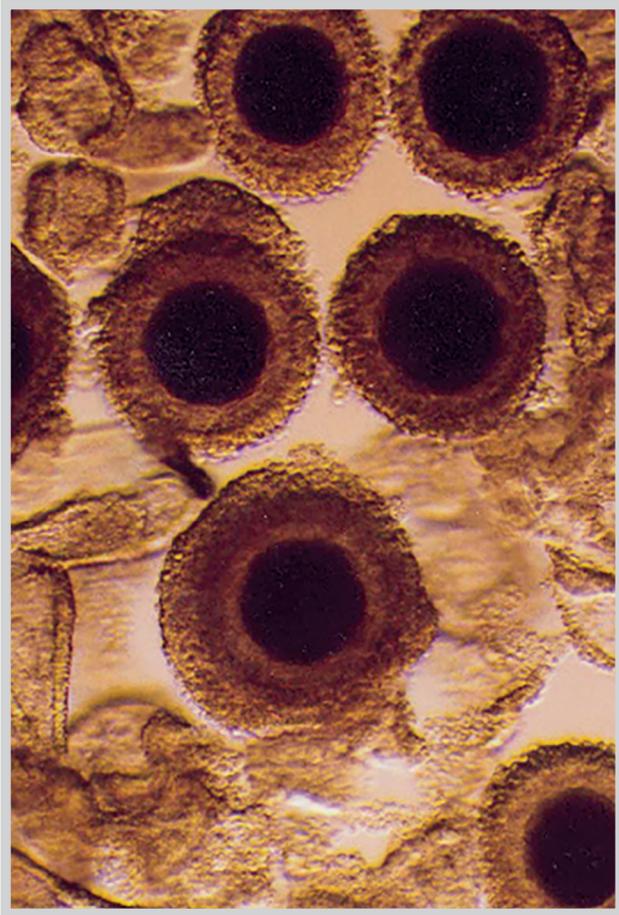
Nelle femmine delle altre specie domestiche a ovulazione spontanea, l'ovulazione avviene solitamente

circa 12 ore dopo la secrezione di LH e il momento di massima fertilità coincide con il periodo compreso tra le 12 ore precedenti la liberazione di LH e le 24-36 ore successive. Nella cagna, invece, si assiste a un'altra importante particolarità: probabilmente a causa di una minore suscettibilità dei recettori follicolari all'LH o a una loro ritardata competenza, i follicoli ovulano solo 48 ore dopo la liberazione dell'ormone (Fig. 1.3).

Gli ovociti liberati non risultano però ancora maturi, ma sono fermi alla metafase della prima divisione meiotica (Fig. 1.4) quindi non ancora fertili. Saranno necessarie ulteriori 48 ore nelle tube uterine per espellere il



**Figura 1.3** Indicazione del momento ovulatorio all'interno del ciclo riproduttivo: si noti che cade 48 ore dopo il picco dell'LH.



**Figura 1.4** Ovociti in metafase I: si noti come sia ancora presente il cumulo ooforo compatto.

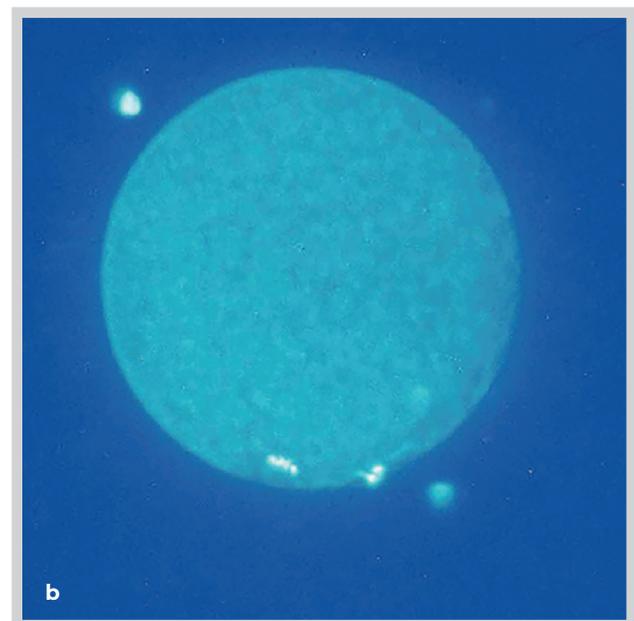
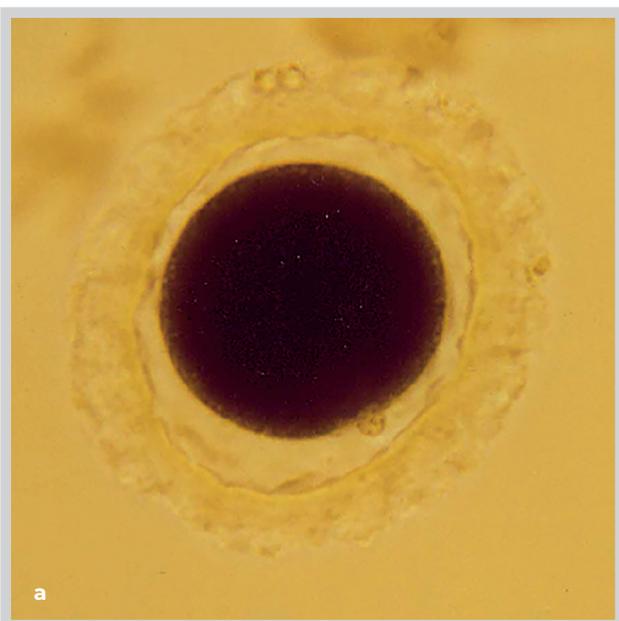
primo globulo polare, raggiungere lo stadio di metafase II, espellere il secondo globulo polare ed essere quindi fertili (Fig. 1.5 a, b).

Come per le altre specie, la sopravvivenza dell'ovocita maturo nella cagna è di circa 48 ore, quindi il periodo di massima fertilità sarà compreso tra le 48 e le 72 ore post ovulazione, e di conseguenza 4-5 giorni successivi al picco di LH. Secondo alcuni autori, la sopravvivenza ovocitaria può arrivare anche a 5 giorni.

Il corpo luteo continua a maturare per alcuni giorni e raggiunge la sua massima attività. La cagna è la specie che raggiunge la più alta concentrazione progesteronica in assoluto, arrivando anche oltre i 50 ng/mL.

Da questo momento, nelle altre specie di mammiferi si assiste a una differenziazione del ciclo fisiologico a seconda che si sia instaurata o meno una gravidanza:

- nel caso non ci sia fecondazione, dopo circa 14-21 giorni a seconda della specie, a livello endometriale vengono prodotte e secrete PGF<sub>2</sub> (prostaglandine F<sub>2</sub>), che hanno azione di lisi sul corpo luteo; con il crollo della progesteronemia che ne deriva, viene rimosso il blocco ipotalamico e un nuovo ciclo estrale può iniziare;
- nel caso ci sia stata una fecondazione e si sia quindi instaurata una gravidanza, l'embrione produce particolari sostanze o stimola determinate attività (per es. l'embrione umano produce la gonadotropina



**Figura 1.5 (a, b)** Ovociti in metafase II: si notino i due globuli polari espulsi.

**Box 1.1 Il riconoscimento materno di gravidanza.**

Il motivo per cui la fase luteale della cagna ha la stessa durata con una gravidanza in corso o no dipende dal fatto che in questa specie non c'è un riconoscimento materno di gravidanza, cioè non è presente un segnale da parte degli embrioni della loro presenza, per cui la natura ha trovato un *escamotage* per tutelare il possibile frutto della fecondazione.

Al contrario, nella maggior parte delle specie, tale meccanismo è presente e anche ben noto, per cui se non parte la serie di eventi attraverso i quali l'embrione segnala la propria presenza, a livello uterino si innescano i meccanismi che porteranno alla luteolisi e alla ripartenza di un nuovo ciclo.

A seconda della specie, gli embrioni arrivano in utero tra il 2° e il 9° giorno post ovulazione.

**Bovini e ovini**

Gli embrioni ancora non impiantati secernono una particolare classe di interferone  $\tau$  (ovino o bovino) che blocca a livello endometriale la secrezione di prostaglandine.

**Equini**

L'embrione della cavalla attiva due differenti meccanismi per farsi riconoscere: tra il 12° e il 14° giorno migra attraverso le corna uterine per almeno 12 volte prendendo contatti con l'endometrio e disattivando la secrezione di prostaglandine. Poco dopo inizia anche a secernere eCG (gonadotropina corionica equina).

**Suini**

Gli embrioni della scrofa (alla fase di blastocisti) producono estradiolo che impedisce l'attività delle prostaglandine  $2\alpha$  impedendone l'assorbimento ematico e dirottandole verso il lume uterino, dove vengono disattivate.

**Umani**

Al momento dell'iniziale impianto (7-9° giorno) l'embrione umano secerne HCG, che ha un effetto simile all'LH e che impedisce la lisi del corpo luteo.

Un meccanismo ormonale di riconoscimento materno è ora noto anche nei marsupiali e nei delfini.

corionica umana HCG), che hanno lo scopo di inibire la secrezione endometriale di prostaglandine e quindi permettere la sussistenza e l'attività dei corpi lutei, sino al momento in cui la placenta interverrà nella produzione progesteronica (**Box 1.1**).

Nella cagna non esiste un "riconoscimento materno della gravidanza" perché gli embrioni non producono alcuna molecola né hanno attività per inibire la produzione prostaglandinica uterina. Per questo motivo non si assiste alla differenziazione del ciclo tra una cagna gravida e una non gravida ma a un andamento ormonale che tende a tutelare il frutto di un possibile concepimento.

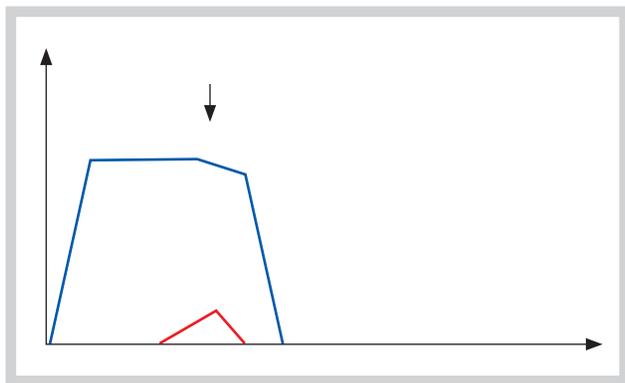
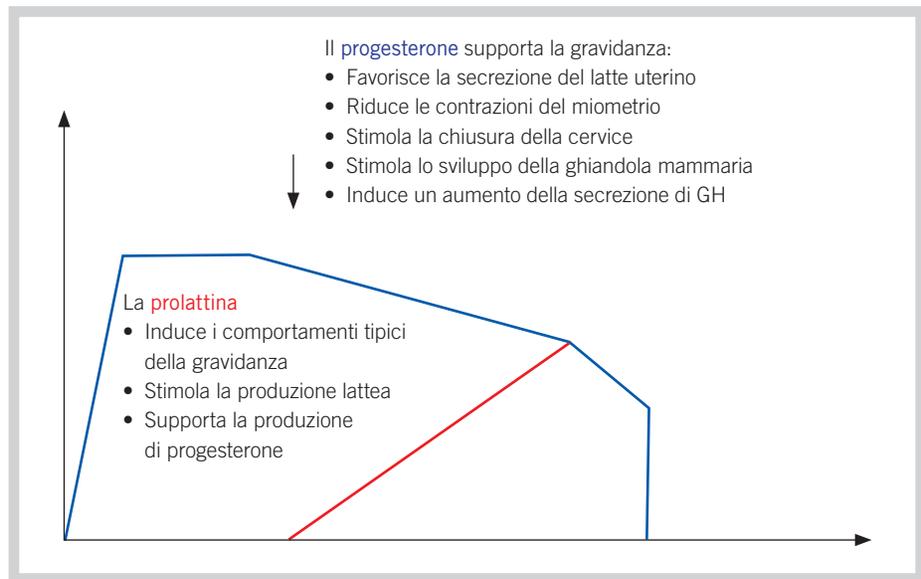
I corpi lutei continuano quindi la loro attività secretoria per un periodo sovrapponibile alla durata della gravidanza. Anche nella specie canina dopo circa 20 giorni dalla loro formazione, l'LH non risulta più sufficiente, i corpi lutei tendono a essere meno attivi e si assiste a un leggero decremento della progesteronemia. La lieve inflessione stimola la repentina secrezione di

prolattina da parte dell'ipofisi. Questo ormone polipeptidico, secreto da particolari cellule della ghiandola chiamate lattotrofi, nella cagna ha un'importante azione luteotropa permettendo la sussistenza e l'attività secretoria dei corpi lutei per circa 60 giorni. Di conseguenza, dal 25° giorno circa post ovulazione si nota l'aumento della prolattina in circolo (**Fig. 1.6**).

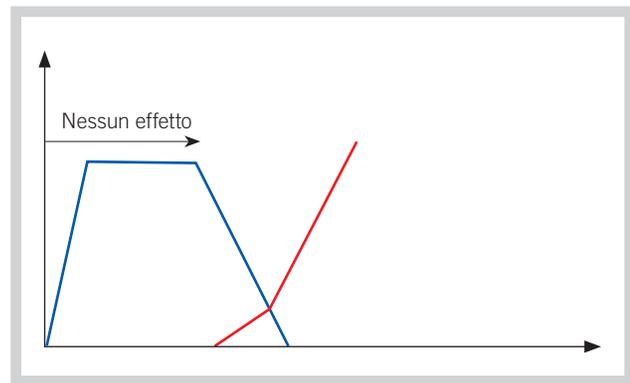
È evidente come la *pseudociesi* (pseudogravidanza o gravidanza isterica) sia una condizione in realtà fisiologica, comune a tutte le cagne, poiché supportata da un preciso quadro ormonale: alcune mostrano sintomi clinici evidenti, altre subiscono solo le modificazioni fisiche o comportamentali legate all'influenza di progesterone e prolattina ma senza aspetti patologici.

Data la strettissima correlazione tra i due ormoni, somministrando un farmaco antiprolattinico dopo il 20° giorno dall'ovulazione si assiste al crollo del progesterone; al contrario, se la concentrazione plasmatica di progesterone crolla improvvisamente, si evidenzia un repentino innalzamento della prolattina (**Fig. 1.7**).

**Figura 1.6** Schema delle funzioni di progesterone e prolattina che evidenzia come dopo circa 25 giorni dall'ovulazione la prolattina diventi il principale ormone luteotropo.



**Figura 1.7** Schema che indica come i farmaci antiprolattinici somministrati dopo il 20° giorno, inibendo la produzione dell'ormone, hanno come conseguenza anche il crollo del progesterone.



**Figura 1.8** Schema che evidenzia come, intervenendo in modo iatrogeno a impedire l'attività del corpo luteo, si ha di conseguenza un improvviso aumento della concentrazione prolattinica.

La somministrazione di antiprolattinici seguendo protocolli corretti porta quindi a un accorciamento dell'intervallo interestrile nelle cagne non gravide e ad aborto nelle cagne gravide; d'altronde è dimostrato che ovariectomie dopo i primi 20 giorni di diestro possono portare a fenomeni di pseudogavidanza sintomatica (**Fig. 1.8**).

Dopo circa 60 giorni i corpi lutei risultano invecchiati e si ha quindi una differenziazione tra cagne gravide e non gravide:

- nelle cagne gravide, come verrà spiegato nel Capitolo 5, saranno gli embrioni a portare all'attivazione del processo del parto e alla secrezione delle prostaglandine, che provocheranno la lisi dei corpi

senescenti e il conseguente calo repentino della progesteronemia;

- nelle cagne non gravide, l'abbassamento della progesteronemia dipende quasi esclusivamente dall'invecchiamento dei corpi lutei, per cui la fase luteinica risulterà più lunga e il declino progestinico più lento.

Alla fase di diestro segue un lungo periodo in cui tutti gli ormoni sessuali sono a livello basale, anche se si possono osservare piccole fluttuazioni.

In fase di anaestro si assiste a uno stato di riposo a livello ipofisario e ovarico, in cui gli organi dell'apparato riproduttore tornano inattivi e si preparano a un nuovo ciclo.

## Clinica del ciclo estrale

Le modificazioni ormonali che si succedono durante il ciclo estrale hanno evidenti conseguenze cliniche.

Il ciclo sessuale viene suddiviso in quattro fasi anche a livello clinico, a seconda della concentrazione ematica dei vari ormoni: proestro, estro, diestro e anaestro (Fig. 1.9).

### PROESTRO

Durante la fase di proestro, che corrisponde a livello ormonale all'innalzamento della concentrazione degli estrogeni data dalla crescita dei follicoli ovarici, a livello clinico si assiste a diverse modificazioni fisiche e comportamentali, conseguenti ai seguenti ormoni:

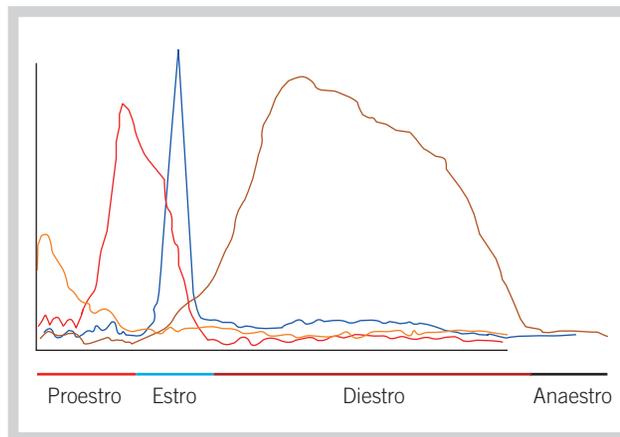
- il principale effetto degli estrogeni è quello di preparare il canale genitale all'accoppiamento e al conseguente annidamento embrionale a livello endometriale;
- gli estrogeni aumentano quindi la vascolarizzazione e portano all'iperafflusso dell'apparato genitale, rendono meno serrate le giunzioni cellulari a livello vascolare, ritardano la cicatrizzazione e aumentano l'edema dei tessuti.

Questi effetti portano al quadro clinico tipico delle cagne in proestro: edema della vulva e dei tessuti perivulvari (Fig. 1.10 a, b), edema del canale genitale con formazione di importanti pieghe longitudinali ridondanti della parete vaginale, ben visibili in endoscopia.

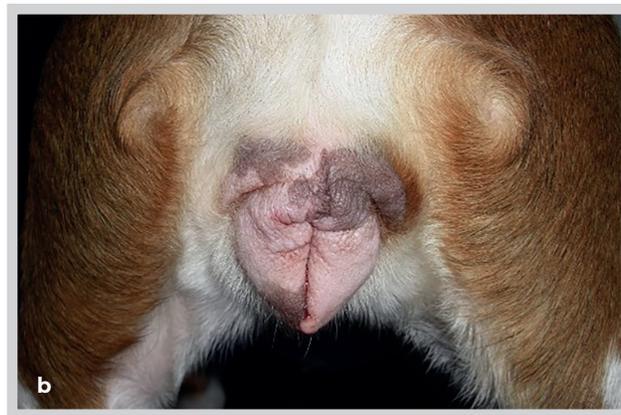
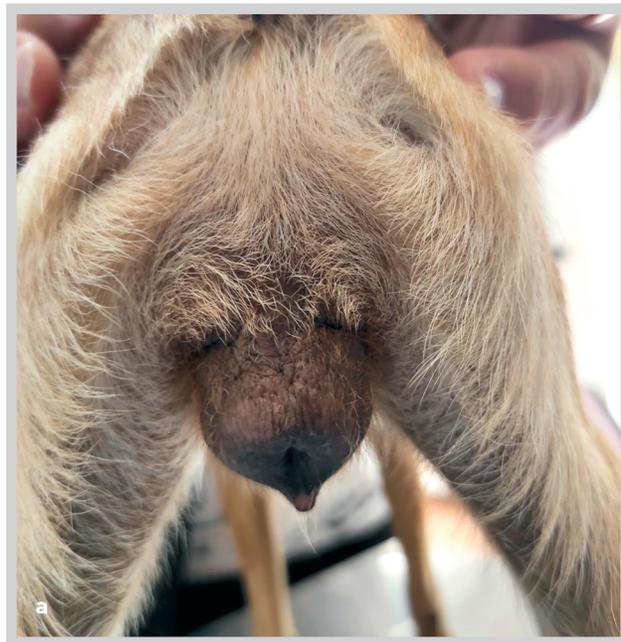
L'aumento di permeabilità vascolare permette la diapedesi degli eritrociti dai capillari sanguigni uterini e vaginali con le conseguenti perdite ematiche vulvari tipiche del calore (Fig. 1.10 b), ma soprattutto favorisce la moltiplicazione delle linee cellulari della mucosa vaginale che passa da epitelio pavimentoso semplice a pluristratificato.

Con la moltiplicazione delle linee cellulari, la linea più superficiale si viene a trovare a distanza dalla linea basale e le cellule, poco nutrite dall'apporto ematico, vanno quindi incontro a cheratinizzazione, picnosi e morte. La cheratinizzazione protegge la mucosa da possibili traumi durante gli accoppiamenti.

È proprio la modificazione della mucosa provocata dagli estrogeni che viene sfruttata per la valutazione della fase del ciclo con la colpocitologia (si veda Cap. 36). Ecograficamente è possibile riconoscere a livello ovarico la formazione dei follicoli e il loro corretto



**Figura 1.9** Divisione schematica di un ciclo sessuale nelle sue fasi convenzionali.



**Figura 1.10 (a, b)** Vulva di cagna in estro: si notino l'edema e lo scolo sieroso-ematico.

accrescimento, e a livello uterino si evidenzia l'aumento di spessore endometriale e l'edema dell'intera parete conseguente all'iperafflusso. A livello endoscopico si rileva l'edema della mucosa vaginale sollevata nelle tipiche pieghe.

In questa fase le ghiandole vaginali e quelle della cute vulvare iniziano a produrre e a secernere ferormoni sessuali che hanno attività di attrazione verso i maschi.

La cagna in questa fase è nevrile, giocosa e cerca il contatto con i maschi; rifiuta però ancora la monta.

### ESTRO

In fase estrale propriamente detta, quando cioè si assiste all'inversione della concentrazione degli ormoni sessuali, tutti gli effetti estrogeno-dipendenti si attenuano sino a regredire: la vulva diventa meno edematosa e iperemica e diminuisce lo scolo ematico sino a diventare limpido e filante, simile ad albume d'uovo.

A livello ecografico si evidenziano i follicoli di dimensioni sempre maggiori, sino ad arrivare al diametro di circa 1 cm poco prima dell'ovulazione e si evidenzia l'ispessimento della parete del follicolo stesso causata dalla luteinizzazione preovulatoria; a livello della parete uterina diminuisce l'edema ma permane l'ispessimento endometriale.

Nel momento ovulatorio non si assiste alla scomparsa follicolare come avviene nelle specie da allevamento, proprio a causa del diverso meccanismo ovulatorio senza "scoppio follicolare" e dello spessore della parete del follicolo in luteinizzazione.

La secrezione ferormonale diventa massima e cambia l'assetto comportamentale della cagna che, se stimolata, sposta lateralmente la coda e si immobilizza in accettazione della monta.

Negli ultimi anni sono però in aumento i casi di cagne che hanno segni proestro-estrali molto poco pronunciati, senza scolo e inturgidimento vulvare, e che non hanno corretti comportamenti di monta, rifiutando anche l'accoppiamento, soprattutto nei casi di convivenza a stretto contatto con i proprietari.

Come già spiegato, la cagna è realmente fertile il 2° e il 3° giorno post ovulazione, ma solitamente accetta la

monta per un periodo più lungo, arrivando a estendere il comportamento estrale anche a 10 giorni.

Verso il 5° giorno post ovulazione, l'estrogenemia della cagna è di nuovo basale e la concentrazione progestinica assoluta fa sì che il quadro clinico, comportamentale e citologico cambi improvvisamente e completamente: inizia il diestro.

### DIESTRO

A livello clinico non ci sono dati evidenti: è possibile osservare che la vulva riprende le caratteristiche che aveva prima dell'ascesa degli estrogeni e torna alle sue normali dimensioni e turgore; in alcune cagne si può osservare un aumento del volume mammario, anche se non si è instaurata una gravidanza.

Ecograficamente a livello ovarico si possono riconoscere i corpi lutei con una ecogenicità disomogenea e leggermente inferiore a quella del tessuto circostante.

Anche a livello comportamentale il cambio è netto: la femmina rifiuta l'accoppiamento, il maschio non mostra attrazione nei suoi confronti e, se stimolata alla monta, può girarsi per mordere; da questo momento la cagna diventa più calma, sotto l'influenza del progesterone, e spesso si assiste a un leggero aumento dell'appetito.

La colpocitologia evidenzia un cambio netto e molto chiaro (si veda Cap. 36) ed è proprio questo il momento in cui convenzionalmente si fa iniziare la fase di diestro.

Il diestro è la fase del ciclo con la durata più stabile a livello ormonale, ma questo dato non è rilevabile clinicamente poiché il passaggio alla fase anaestrale dopo la discesa della concentrazione progestinica non è evidente.

### ANAESTRO

La fase anaestrale non ha alcun rilievo clinico, dato che gli organi dell'apparato sessuale sono a riposo senza l'influenza ormonale.

Questa fase è indispensabile per il ripristino della corretta funzionalità delle ovaie e soprattutto della mucosa uterina; fisiologicamente deve avere una durata non inferiore alle 8 settimane e in genere si protrae per circa 4 mesi.