

**UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI NAPOLI  
"FEDERICO II"**

**FACOLTA' DI MEDICINA VETERINARIA**

**Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie**

**Sezione di Clinica Ostetrica**



**DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE CLINICHE E FARMACO-  
TOSSICOLOGICHE VETERINARIE**

**Ricerca sull'impiego della concentrazione di progesterone plasmatico  
quale indicatore dello stadio del ciclo estrale nella cagna, per la  
prevenzione della pseudogvidanza iatrogena.**

**Il Coordinatore del Corso di Dottorato**

Ch.mo Prof. Angelo Persechino

**Il Docente guida:**

Ch.mo Prof. Marco Russo

**Tesi di Dottorato del:**

Dr.ssa Rita Romano

**XIX DOTTORATO DI RICERCA  
2003 – 2006**

# INDICE

## PARTE I

<b>INTRODUZIONE .....</b>	<b>5</b>
 <b>CAPITOLO 1:</b>	
<b>ANATOMIA DEGLI ORGANI RIPRODUTTIVI .....</b>	<b>6</b>
<i>L'OVAIO .....</i>	<i>7</i>
<i>Struttura dell'ovaio .....</i>	<i>8</i>
 <b>VIE GENITALI .....</b>	<b>10</b>
<i>Tube uterine .....</i>	<i>10</i>
<i>Utero .....</i>	<i>11</i>
<i>Vagina .....</i>	<i>14</i>
<i>Vulva.....</i>	<i>15</i>

<b>FISIOLOGIA DEGLI ORGANI RIPRODUTTIVI .....</b>	<b>17</b>
<i>CICLO OVARICO .....</i>	<i>17</i>
<i>Corpo luteo .....</i>	<i>20</i>
<i>Follicoli atresici .....</i>	<i>21</i>

## **CAPITOLO 2:**

<b>IL CICLO ESTRALE .....</b>	<b>23</b>
<i>INTRODUZIONE .....</i>	<i>23</i>
<i>Il ciclo estrale nella cagna .....</i>	<i>24</i>
<i>Citologia vaginale .....</i>	<i>32</i>

## **CAPITOLO 3:**

<b>LA PSEUDOCIESI NELLA CAGNA .....</b>	<b>35</b>
<b>LA STERILIZZAZIONE E SUE COMPLICANZE .....</b>	<b>42</b>

## PARTE II

<b>OBIETTIVO</b> .....	46
<b>MATERIALI E METODI</b> .....	47
<i>ARRUOLAMENTO DEI SOGGETTI</i> .....	47
<i>INTERVENTO DI OVARISTERECTOMIA</i> .....	48
<i>FOLLOW UP</i> .....	50
<i>TEST DI LABORATORIO</i> .....	52
<i>ELISA test e campionamento del progesterone</i> .....	52
<i>Esame istologico delle ovaie</i> .....	53
<b>RISULTATI</b> .....	55
<b>DISCUSSIONE</b> .....	64
<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	68

<b>TABELLA III</b> .....	73
<b>APPENDICE I</b> .....	I
<b>APPENDICE II (PARTE A)</b> .....	III
<b>APPENDICE II (PARTE B)</b> .....	V

# **P A R T E I**

## INTRODUZIONE

La pseudogavidanza è un disturbo relativamente comune nella pratica clinica veterinaria, che solitamente si manifesta nelle cagne 40 – 70 giorni dopo l'estro. E' noto che la sterilizzazione eseguita durante il diestro (a più di 60-70 giorni dopo l'ovulazione) può indurre pseudogavidanza, a causa di un improvviso aumento della *prolattina* dopo la rimozione del progesterone (Allen, 1986). In talune circostanze, quali in caso di estri silenti e non manifesti o per inesperienza del proprietario, l'estro può rimanere inosservato e pertanto il medico veterinario può trovarsi nella condizione di eseguire la sterilizzazione durante la fase diestrale. Per tale motivo è importante che il suddetto periodo venga rapidamente e concretamente identificato. L'obiettivo della ricerca è di saggiare la concentrazione di progesterone plasmatico prima di eseguire l'ovaristerectomia e di dimostrare se il saggio ormonale può rappresentare un indice attendibile nell'individuazione dello stadio del ciclo estrale, per ovviare al rischio di sterilizzare le cagne durante il periodo, che con molta probabilità, induce pseudociesi iatrogena.

Al contempo ci si è prefissi di valutare la percentuale di femmine che entrano in pseudogavidanza dopo l'ovaristerectomia.

# CAPITOLO I

## ANATOMIA DEGLI ORGANI RIPRODUTTIVI

L'apparato genitale femminile è costituito **dall'ovaio, dalle vie genitali e dagli organi genitali esterni.**

**L'ovaio** è un organo pari contenuto nella cavità addominale, in posizione sottolombare, che produce gli elementi germinali femminili, gli ovociti, e che mediante la sua funzione endocrina interviene nella regolazione dell'attività delle vie genitali femminili e nello sviluppo dei caratteri sessuali secondari.

**Le vie genitali** in tutti i mammiferi e quindi anche nella cagna hanno un organizzazione complessa, poiché in questa classe è universalmente presente la viviparità, che comporta durante il periodo della gravidanza, lo sviluppo di uno o più embrioni in un organo altamente specializzato: l'utero.

Le vie genitali sono costituite dalle *tube uterine*, ove avviene la fecondazione dell'ovulo, *dall'utero e della vagina* che rappresenta la via di espulsione del feto al termine della gravidanza.

La *vagina* si continua posteriormente nel *vestibolo della vagina* che si apre nella *vulva*. Quest'ultima e gli organi connessi costituiscono i **genitali esterni.**



## ■ L'OVAIO

*Le ovaie* rappresentano le gonadi femminili e sono disposte in cavità addominale in posizione sottolombare, subito dietro ai reni, in corrispondenza della terza-quarta vertebra lombare, grosso modo a metà strada fra l'ultima costa e la cresta iliaca. Solitamente l'ovaio destro è situato leggermente più in alto rispetto al controlaterale, ma causa l'invecchiamento e le numerose gravidanze, si verifica una migrazione di entrambe le ovaie in direzione ventro-caudale. Le ovaie sono caratteristicamente di forma ovoidale e nella cagna hanno una lunghezza media di circa due centimetri. Ciascuna ovaia è protetta per intero da una tasca peritoneale detta *borsa ovarica* che nella cagna è molto infiltrata di grasso, e che mediante il *legamento sospenditore dell'ovaio* prende connessione con l'ultima costola e continua posteriormente con il *mesovario* (propaggine dei legamenti larghi), a sua volta connesso con l'utero. La superficie ovarica è irregolare, per lo sviluppo dei *follicoli oofori* e *corpi lutei*. L'estremità craniale di ciascuna gonade è libera (detta anche estremità tubale) e guarda verso la tuba uterina, mentre l'estremità uterina è connessa all'utero mediante il *legamento proprio dell'ovaio*. Dei suoi due margini solo uno riceve l'inserzione del *mesovario* e costituisce il margine legato ove è situato l'*ilo* dell'organo, attraverso il quale penetrano vasi e nervi e che nelle cagne e nei carnivori in genere non è ben distinto; il margine opposto è detto libero.

## **Struttura dell'ovaio**

L'*ovaio* consta di due regioni distinte: la *zona corticale*, detta anche parenchimatosa, a disposizione periferica ed una *zona midollare* disposta in posizione centrale.

### Zona corticale

La *zona corticale* per un tratto più o meno ampio è rivestita dall'epitelio ovarico, sotto cui appare lo stroma addensato in una lamina connettivale, chiamata *falsa albuginea*. Lo *stroma* occupa la corticale circondando gli *organuli ovarici* ed assumendo peculiari caratteristiche, che si modificano in rapporto alla fase del ciclo sessuale. Le sue cellule in vicinanza degli organuli formano delle particolari membrane dette *teche*, che mostrano la capacità di sintetizzare ormoni steroidi. Tali elementi specializzati dello *stroma* possono anche presentarsi in piccoli gruppi sparsi nell'ambito della *corticale*, indipendentemente dagli organuli.

Gli organuli ovarici sono rappresentati dai *follicoli oofori evolutivi*, dai *corpi lutei* e dai *follicoli atresici*.

## Zona midollare

La *zona midollare* è strettamente connessa all'*ilo* della gonade ed è costituita da tessuto connettivo lasso, in cui sono presenti fibre elastiche e fibrocellule muscolari lisce.

In essa confluiscono i vasi arteriosi che formano delle ramificazioni ad andamento spirale. Sia la forma che la consistenza della *midollare* variano in rapporto all'abbondanza di sangue nei vasi. La rete linfatica è ben rappresentata. Tipica è la presenza di elementi epitelioidi sovrapponibili alle cellule interstiziali del testicolo, conosciute come *cellule dell'ilo*.

Di possibile riscontro sono i residui embrionali sotto forma di piccoli canalicoli, chiamati *rete ovarii* e che sono in connessione con la *midollare*.

## ■ VIE GENITALI

### **Tube uterine**

Conosciute anche con il nome di *salpingi* od *ovidutti* (o *Trombe di Falloppio*), le *tube uterine* costituiscono la porzione iniziale delle vie genitali femminili e vanno dal polo anteriore di ciascun ovaio all'utero. Sono un organo pari ad andamento flessuoso contenute nei foglietti del *mesosalpinge*; invece, il rivestimento strutturale interno è costituito dalla mucosa dell'organo rivestita di epitelio, la cui porzione cellulare più abbondante è formata da cellule ciliate e da cellule secernenti. Nella cagna le tube raggiungono la lunghezza di 5-6 cm. La funzione delle *salpingi* è di trasportare gli oociti dall'ovaio all'utero. Ciascuna passa cranialmente nella porzione laterale della borsa ovarica, si ripiega verso l'estremo caudale nella porzione anteriore della borsa e decorre caudalmente lungo la parete mediale, fino a raggiungere l'estremità anteriore delle corna uterine.

Le *tube uterine* sono suddivise in distinte porzioni: *infundibolare*, *ampollare*, *istmica* e *intramurale*.

La porzione *infundibolare* (o padiglione) si apre verso l'ovaio (vicino alla fessura della borsa ovarica) con un'estremità slargata ad imbuto, mentre l'altra

continua nella porzione ampollare a livello dell'ostio addominale della tuba. Il suo rivestimento mucoso interno è sollevato in pliche che ad andamento raggiato, si portano verso la periferia dell'organo, terminando in strutture specializzate digitiformi dette fimbrie; alcune di queste prendono diretta inserzione sull'ovaio costituendo le *fimbrie ovariche*.

La porzione *ampollare* invece è la parte più sviluppata delle tube uterine ad andamento particolarmente tortuoso. Verso l'utero essa si assottiglia progressivamente fino a passare in un tratto breve e piuttosto ristretto, *l'istmo della tuba*, che confina con la regione intramurale. La mucosa della porzione ampollare raggiunge la massima complessità: anch'essa sollevata in pliche conferisce a questa regione in sezione d'organo un aspetto labirintico.

L'ultima porzione è quell' *intramurale* compresa nelle pareti dell'utero nel quale si apre su una piccola papilla.

## **Utero**

L'*utero* è un organo muscolo-membranoso, deputato ad accogliere il prodotto del concepimento, consentendone lo sviluppo per tutta la durata del periodo gravidico; al termine di questo periodo mediante la contrazione delle sue tuniche muscolari ne permette l'espulsione.

L'utero è contenuto per lo più in cavità addominale e per un breve tratto in

quella pelvica, prendendo connessione con la regione sottolombare della cavità addominale e con le pareti laterali di quella pelvica mediante due ampie pliche peritoneali: i *legamenti larghi*. Da questi legamenti si distaccano due porzioni destinate all'ovaio (*mesovario*) e alle salpingi (*mesosalpinge*).

L'organo è anatomicamente suddiviso in una parte pari craniale, le *corna uterine*, che è in rapporto con le tube ed una parte impari definita *corpo*, che confina posteriormente con la vagina. Nella cagna le corna uterine sono piuttosto lunghe e strette a differenza del corpo: in una cagna di taglia media le corna raggiungono i 12-15 cm, mentre il corpo è lungo solo 2-3 cm. Esse hanno andamento rettilineo, calibro relativamente uniforme e divergono a "V". Un piccolo legamento intercornuale le collega in prossimità della loro origine dal corpo. In ciascun corno ritroviamo un margine libero, *la grande curvatura* convessa e una piccola curvatura concava lungo la quale s' inserisce il legamento largo. L'estremità anteriore riceve lo sbocco della corrispondente tuba uterina, mentre posteriormente si continua nel corpo.

Il corpo uterino è dislocato in parte nella cavità addominale e in parte in quella pelvica. Esso è in rapporto dorsalmente con il retto ed altri tratti di intestino e ventralmente con la vescica, mentre sui due margini laterali si inseriscono i legamenti larghi, che nella cagna sono infiltrati di globuli di grasso. Riveste particolare importanza la *cervice* del corpo uterino, porzione ristretta che collega l'utero alla vagina, (in cui si apre con *l'orificio uterino esterno*) e che

nell'ultimo tratto (porzione intravaginale) è circoscritta da una plica anulare della mucosa vaginale, che costituisce intorno ad essa, una doccia circolare indicata come *fornice della vagina*.

Nella cagna l'orifizio esterno della cervice si apre su un promontorio, proprio al di sotto della piega dorsale mediana post-cervicale della vagina; questa piega prende il nome di *pseudocervice*.

Stratigraficamente l'utero nella sua interezza è costituito, dall'interno verso l'esterno, dalla mucosa (*endometrio*) che nell'utero a riposo è sollevata in pliche, ma che durante le fasi del ciclo estrale e nella gravidanza, va incontro a peculiari trasformazioni.

L'epitelio che la riveste è costituito da cellule ciliate e secernenti. Queste ultime elaborano sostanze di natura essenzialmente mucinica.

L'endometrio nel tratto della cervice appare variamente specializzato e in esso sono presenti ghiandole uterine, deputate anch'esse alla produzione di mucine. Sottostante alla mucosa e rivestita esternamente dalla sierosa, è presente una tunica muscolare tristratificata, il *miometrio*, riccamente vascolarizzato, in cui lo strato più esterno e quello interno è composto essenzialmente da fibrocellule muscolari, che hanno rispettivamente andamento longitudinale e circolare. Proprio per questa sua peculiare caratteristica l'organo esercita la sua funzione contrattile, fondamentale per l'espulsione del prodotto del concepimento.

## Vagina

Anche la *vagina* è un organo muscolo-membranoso che attraversa il pavimento della cavità pelvica, capace di estendersi notevolmente in larghezza e in ampiezza durante la gravidanza e l'espletamento del parto. Anteriormente è connessa all'utero e posteriormente si continua nel vestibolo. E' in rapporto dorsalmente con il retto, ventralmente con la vescica urinaria e con l'uretra e da ciascun lato con le pareti laterali della parte posteriore del bacino.

La vagina si apre nel vestibolo mediante un orificio, disposto superiormente allo sbocco dell'uretra con il meato uretrale esterno. In questo punto origina l'*imene*, che può riscontrarsi come una plica trasversale di forma molto varia, persistente nelle femmine che non si sono accoppiate. Anch'essa come l'utero stratigraficamente è contraddistinta in tre tuniche, che dall'interno verso l'esterno sono costituite dalla mucosa, la muscolare e la sierosa.

La mucosa sollevata in pliche, è lassamente legata alla muscolare ed è rivestita da un epitelio pavimentoso stratificato, destinato a modificarsi durante le fasi del ciclo riproduttivo. Infatti, il suo rivestimento interno è strettamente dipendente dalle concentrazioni degli steroidi ovarici circolanti e può essere impiegato per determinare le fasi del ciclo estrale.

La tunica muscolare si presenta tristratificata come nell'utero. La sierosa peritoneale riveste esternamente e in modo parziale la vagina, avvolgendone la porzione craniale, per poi ribaltarsi dorsalmente sul retto e ventralmente alla



vescica, pertanto la vagina è essenzialmente sottoperitoneale. La restante parte dell'organo è avvolta da connettivo lasso, plessi venosi e globuli di grasso, che la connette alle strutture circostanti.

## **Vulva**

La vulva rappresenta l'apertura posteriore del vestibolo vaginale ed è disposta immediatamente sotto l'ano. E' delimitata, da ciascun lato, da due labbra riunite da una commessura dorsale ed una ventrale. La commessura dorsale è ampia e separata dall'orificio anale, da una banda di cute che rappresenta il perineo propriamente detto. Quella ventrale cade sotto l'arcata ischiatica ed incappuccia il clitoride. Nella cagna la vulva ha una tipica forma triangolare ed è ben distanziata dall'ano. Le labbra sono costituite da tessuto connettivo fibroelastico, da fibre muscolari lisce e da abbondante tessuto adiposo che le rende morbide ed adattabili.

Il clitoride è dotato di un corpo cavernoso ed in questa specie presenta un nucleo cartilagineo omologo all'osso del pene.

Il rivestimento interno della vulva è offerto dalla tunica mucosa priva di ghiandole; oltre la rima, le labbra sono rivestite da cute spesso pigmentata e ricca di ghiandole sebacee e sudoripare. Nello spessore della vulva è ben distinta una tunica muscolare, fornita dal muscolo *costrittore posteriore* della

vulva le cui fibre dorsalmente si confondono con quelle dello sfintere anale. Questo muscolo contraendosi restringe l'orificio dell'organo e solleva il clitoride favorendo i rapporti con il pene maschile.

Alla costituzione della muscolare concorre anche il *muscolo sospensore della vulva* e i *muscoli ischiocavernosi*; il primo è una derivazione del muscolo elevatore dell'ano, i secondi sono molto ridotti e coprono le radici del clitoride.

# **FISIOLOGIA DEGLI ORGANI RIPRODUTTIVI**

## **CICLO OVARICO**

L'ovogenesi avviene nell'ovaio, dove gli elementi germinali sono racchiusi in particolari formazioni dette *follicoli ovarici*.

Tra gli organuli presenti nella corticale dell'ovaio figurano i follicoli oofori evolutivi, che si presentano con un differente stadio di maturazione, per questo possono essere distinti in: *follicoli primordiali, primari, secondari (o antrali) e maturi (o di Graaf)*.

Alla nascita e fino alla pubertà l'ovaio contiene solo *follicoli primordiali*, ammassati alla periferia della corticale, costituiti da una cellula germinale (*oocita*) circondata da un unico strato di cellule follicolari. Dei follicoli primordiali presenti alla nascita una parte va in atresia ed un'altra, dalla pubertà e per tutto l'arco della vita feconda, giunge a maturazione secondo una periodicità variabile per specie.

I fenomeni che periodicamente disciplinano i processi maturativi costituiscono il *ciclo ovarico*. Nella cagna per ogni ciclo ovarico più follicoli giungono a maturazione, attraversando una serie di tappe evolutive sotto il controllo ormonale dell'ipofisi anteriore.

In concomitanza con il ciclo ovarico e in dipendenza da questo, anche la mucosa uterina va incontro ad una serie di modificazioni, che vanno sotto il nome di *ciclo uterino*.

Nel follicolo primordiale, destinato ai processi maturativi, si assiste ad un'attiva moltiplicazione delle cellule follicolari, che disponendosi in più strati concentrici, circondano l'oocita e che sono indicate come *cellule della granulosa (o corona radiata)*. Tra queste e la membrana vitellina dell'oocita si forma una membrana sottile particolarmente ricca di glicoproteine, elaborate dalle cellule della granulosa, chiamata *zona pellucida*.

Le cellule della corona radiata emettono prolungamenti citoplasmatici, che attraverso la zona pellucida raggiungono l'oocita. Questi prolungamenti servono a veicolare materiale nutritivo destinato alla cellula uovo, che nel frattempo è aumentata di volume.

Il follicolo primordiale si è così trasformato in *follicolo primario* di maggiori dimensioni e sempre più approfondito nella corticale. In contemporanea, anche lo stroma immediatamente a ridosso del follicolo comincia la propria evoluzione, organizzandosi in peculiari guaine tecali (o *teche*), una interna ed una esterna. Quella interna si trasforma in tessuto endocrino riccamente vascolarizzato, in cui abbondano cellule ad attività steroidogenetica. Simili caratteristiche si riscontrano anche negli strati più profondi della teca esterna, mentre gli strati superficiali conservano le caratteristiche del tessuto stromale ed appaiono infiltrati di vasi.

Tra le cellule della granulosa cominciano ad apparire delle lacune in cui si raccoglie il *liquor follicoli* ricco di estrogeni elaborati sia dalle cellule follicolari, che da quelle della teca interna. Tali spazi inizialmente separati, si

accrescono progressivamente, confluendo in un'unica cavità definita *antro* occupata dal liquido follicolare. In questo stadio della maturazione le cellule follicolari (*cellule della granulosa*) sono spinte perifericamente al follicolo e si dispongono in pochi strati attorno all'oocita rivestendolo. L'antro in sezione assume un aspetto semilunare perché la cellula uovo, ricoperta da qualche strato di cellule della granulosa, vi fa sporgenza costituendo il *cumulo ooforo*. Il follicolo primario evolve, quindi, in follicolo *secondario o antrale*, che aumenta gradualmente di volume, sia per l'accrescimento dell'oocita, sempre nettamente delimitato dalla membrana pellucida, sia per l'ampliarsi della sua cavità, spostandosi via, via perifericamente verso la corticale, fino a sporgere sulla superficie dell'ovaio. A questo punto, il follicolo ha completato la sua maturazione ed è definito come *follicolo terziario o di Graaf*.

Ad ogni ciclo riproduttivo è presente un numero limitato di follicoli maturi.

L'aumento considerevole dell'antro sospinge sempre più perifericamente il cumulo ooforo ed assottiglia lo spessore della granulosa parietale; si assiste quindi, allo scoppio del follicolo di Graaf che caratterizza l'ovulazione, con conseguente deiscenza della cellula uovo e della corona radiata che la circonda. Lo scoppio del follicolo avviene per la lacerazione della sua parete a livello dello *stigma*, in corrispondenza del quale, la parete follicolare diviene ischemica, sottile e sporgente, opponendo sempre minore resistenza all'elevata pressione antrale.

La cellula uovo con la corona radiata che le resta aderente, prende la via della tuba uterina in attesa di essere fecondata.

Durante tutto il ciclo di maturazione del follicolo ooforo evolutivo l'ovocita continua la sua meiosi, quindi al momento dell'espulsione è in metafase della seconda divisione meiotica; quest'ultima si completa solo dopo la fecondazione.

### **Corpo luteo**

Dopo l'ovulazione la parete follicolare, per la perdita del liquor follicoli, si affloscia e la cavità residuante viene invasa dalle cellule della granulosa rimaste in situ e da tessuto riccamente vascolarizzato della teca interna. Le cellule della granulosa si trasformano in luteociti.

I luteociti sono cellule ad attività endocrina, così definite perché si caricano di un pigmento giallo.

Così, nella compagine dell'antico follicolo si forma una struttura più o meno voluminosa indicata come *corpo luteo*.

Quest'organo endocrino ha la caratteristica di secernere progesterone. Se l'ovulo non viene fecondato, il corpo luteo è indicato come *corpo luteo progestativo o spurio* ed è destinato a regredire, trasformandosi in *corpo albicante*.

Al contrario, in caso di fecondazione esso persiste per un periodo più o meno lungo, (ricordiamo che il progesterone è indispensabile per il mantenimento della gravidanza) ed in questo caso sarà definito *corpo luteo gravidico*.

Esso si accresce maggiormente rispetto a quello spurio e la sua persistenza è variabile, a seconda del tempo nel quale la placenta inizia a produrre a sua volta progesterone; da questo momento in poi il corpo luteo gravidico involge analogamente a quello spurio.

Come ricordato in precedenza, solo un numero limitato di follicoli oofori primordiali matura, raggiungendo poi l'ovulazione. La gran parte, infatti, subisce processi degenerativi che avvengono in varie fasi dello sviluppo. Quelli che compiono solo in parte il ciclo maturativo, si trasformano più o meno precocemente in *follicoli atresici*.

### **Follicoli atresici**

Durante l'atresia follicolare si assiste ad un processo degenerativo dell'ovocita, per picnosi e cromatolisi del nucleo, che si accompagna ad un ispessimento della membrana basale tra cellule follicolari e teca interna. Successivamente, i processi degenerativi interesseranno le cellule della granulosa, quindi il connettivo perifollicolare tecale prolifera, invadendo la cavità del follicolo, che occludendosi, sarà sostituita da un piccolo nodulo fibroso. Durante l'atresia dei follicoli antrali di maggiori dimensioni si assiste ad una degenerazione delle cellule follicolari e ad un'ipertrofia degli elementi tecali, che assumendo caratteristiche proprie di cellule secernenti steroidi, costituiranno una *ghiandola tecale*.

Tuttavia, poco dopo anche queste cellule degenereranno, attraversando tappe evolutive analoghe a quelle già descritte; questo tipo di atresia è detta *obliterante*.

Quando però la proliferazione connettivale non riesce ad annullare la cavità del follicolo, questa rimane ampia dando luogo alla formazione di una cisti, sulle cui pareti a volte, persistono cellule della granulosa e in questo caso parliamo di *atresia cistica*.



## **CAPITOLO II**

### **IL CICLO ESTRALE**

#### **INTRODUZIONE**

Il ciclo estrale rappresenta un evento fisiologico assai complesso. La regolazione e le interrelazioni endocrine della funzionalità riproduttiva sono controllate dall'asse ipotalamo-ipofisi-ovaie-utero.

L'attività riproduttiva ha come sede funzionale il sistema nervoso centrale, dove nell'ipofisi anteriore sono sintetizzate le gonadotropine FSH (ormone follicolo stimolante) e LH (ormone luteinizzante).

Queste gonadotropine endogene per essere rilasciate in circolo, necessitano di una regolazione ipotalamica data dal GnRH (Gonadotrophin releasing Hormone).

L'ormone luteinizzante presiede fundamentalmente alla crescita e alla maturazione del follicolo, ma soprattutto alla sintesi degli ormoni steroidei, in particolare degli estrogeni che sono prodotti principalmente a livello della granulosa del follicolo in accrescimento e in minor misura dalle cellule della teca interna. Gli ormoni estrogeni rilevabili a livello ematico, agiscono determinando ipertrofia ed iperplasia dell'utero ed ipertrofia della vagina e

della vulva. Sul distretto ipotalamo-ipofisario essi agiscono con un meccanismo di feedback positivo dal momento che, quando raggiungono la massima concentrazione ematica, stimolano un'abbondante secrezione ipotalamica di GnRH; quest'ultimo a livello ipofisario determina un aumento della frequenza della secrezione di FSH e di LH. L'aumento della concentrazione plasmatica di LH è caratterizzato da un picco preovulatorio che innesca l'ovulazione.

L'azione degli estrogeni a livello del sistema nervoso centrale determinerà alcune modificazioni comportamentali, che saranno particolarmente evidenti al momento dell'estro, in cui gli estrogeni si legano rapidamente ai recettori presenti nel sistema nervoso centrale.

## **Il ciclo estrale nella cagna**

La cagna è un animale monoestrale stagionale, in quanto presenta un solo ciclo estrale per ogni stagione sessuale.

Ad ogni ciclo estrale alle modificazioni che avvengono nell'ovaio, fa riscontro nella mucosa uterina un alternarsi di stati ipertrofici ed atrofici a carico delle ghiandole e dei vasi, che va sotto il nome di ciclo uterino.

Il ciclo estrale nella cagna è comunemente suddiviso nelle seguenti fasi:

■ **Proestro:** nella cagna il *proestro* è quella fase del ciclo riproduttivo caratterizzata da attrazione del maschio, tumefazione vulvare, scolo sieroemorragico e che ha termine nel momento in cui la cagna accetta l'accoppiamento. E' il periodo di incremento dell'attività follicolare (che corrisponde alla formazione di un piccolo follicolo antrale) che precede l'estro. La sua durata media è di circa 9 giorni (England, 1998a), ma può variare dai 2 ai 15 giorni. Durante questa fase, detta anche *proliferativa*, la mucosa uterina diviene iperemica e aumenta di spessore gradualmente. Le ghiandole uterine si allungano e assumono andamento tortuoso e i capillari acquistano maggiore permeabilità. Anche l'epitelio delle tube uterine va incontro a modificazioni arricchendosi di cellule ciliate, mentre quello vaginale diviene pluristratificato. Durante questo periodo l'organismo produce *estrogeni* per lo sviluppo follicolare e quindi la fase di proestro è dominata da questi ormoni. Si assiste ad un aumento delle concentrazioni plasmatiche di *estradiolo*, che provocano tumefazione vulvare, edema e corneificazione vaginale e sanguinamento uterino, che si manifesta all'esterno sotto forma di uno scolo vulvare sieroematico. *L'estradiolo* sale rapidamente nei primi 6-7 giorni del proestro e molti studiosi concordano nel ritenere che il picco della sua concentrazione plasmatica si verifica 1 o 2 giorni prima della fine del proestro, per poi diminuire nel momento in cui la femmina accetta per la prima volta il maschio. (Concannon et al., 1975; Nett et al., 1975; Wildt et al., 1979 ). Infatti, verso la fine del periodo, la concentrazione plasmatica di

*estradiolo* decresce e in contemporanea il tasso di *progesterone* aumenta, superando il valore basale (<1ng/ml); ciò rappresenta l'imput iniziale dell'estro (Feldman et Nelson, 1987).

Durante la maggior parte del proestro la concentrazione di LH resta vicino ai valori basali, ma nel tardo proestro e la prima fase dell'estro si incrementa la produzione di GnRH da parte dell'ipotalamo, che causa un aumento improvviso dell'*ormone preovulatorio luteinizzante* (LH).

■ **Estro o calore:** è la fase del ciclo estrale che segue il proestro e nella quale avviene l'ovulazione. **L'estro** comportamentale è caratterizzato dal fatto che la femmina accetta l'accoppiamento assumendo la cosiddetta "posizione di calore", in cui uno dei segnali è lo spostamento laterale della coda (sbandieramento), suscitabile occasionalmente tramite il picchiettamento del perineo, indice del fatto che la cagna è in estro. Si associano talvolta irrequietezza ed irritabilità. La durata media dell'estro è di 9 giorni (Kustritz et Johnston, 1999) con limiti compresi fra 3 e 21. Il rifiuto del compagno segnala la fine del suddetto periodo. Nell'estro l'endometrio raggiunge il massimo dell'ipertrofia, aumenta la vascolarizzazione ed è pronto a ricevere l'eventuale prodotto del concepimento. La cervice si rilascia e presenta particolari secrezioni mucose, che costituiranno una parte importante delle secrezioni vulvari, ricche di sostanze odorose che attraggono il maschio, osservabili al momento del calore. La vulva rigonfia è meno turgida che durante il proestro e

lo scolo vulvare di solito, è meno emorragico, anche se le cagne normali mostrano spesso uno scolo ematico in entrambi le fasi del ciclo. Di conseguenza, le variazioni dell'aspetto macroscopico dello scolo non costituiscono indicatori affidabili della transizione del proestro all'estro. In coincidenza con il declino delle concentrazioni plasmatiche di *estradiolo*, le cellule del follicolo ovarico della cagna iniziano ad andare in contro a luteinizzazione e a secernere *progesterone*. I livelli plasmatici di questo ormone aumentano al di sopra delle concentrazioni in anaestro di 1ng/ml, appena prima del picco preovulatorio dell'LH (Chakraborty, 1987). Il declino dei livelli plasmatici di *estrogeni* e l'incremento delle concentrazioni plasmatiche di *progesterone* alla fine del proestro, sono ritenuti responsabili dell'avvio del cambiamento comportamentale associato all'insorgenza dell'estro e dell'induzione del picco preovulatorio della secrezione di FSH ed LH. L'innalzamento dei livelli dell'LH a sua volta avvia l'ovulazione e la conseguente formazione dei corpi lutei. L'ovulazione avviene spontaneamente 36-50 ore dopo l'incremento dell'ormone luteinizzante (Concannon et al., 1989).

Il comportamento estrale di solito insorge entro 1 giorno o 2 dal picco dell'LH, ma può apparire già 4 giorni prima o fino a 6 giorni dopo. Nella maggior parte delle cagne, entro 48 ore da esso si ha l'ovulazione degli oociti primari, che richiedono altri 2-3 giorni di maturazione prima che si possa avere la fecondazione. Tuttavia come detto in precedenza, non tutti i follicoli

ovarici vanno in contro a rottura contemporaneamente, pertanto il periodo ovulatorio può superare le 96 ore (Feldman et Nelson, 1987). Gli oociti maturi hanno apparentemente una vita fertile di 2-3 giorni, tempo che è stato indicato come “periodo fertile”. Al termine dell’ovulazione si formano i corpi lutei e i follicoli che non hanno ovulato vanno in contro ad atresia.

Lo sperma canino appena eiaculato, conserva potenzialmente la sua capacità di fecondare per 3-4 giorni ed occasionalmente, anche per 6.

■ **Diestro:** il *diestro* inizia quando la cagna rifiuta l’accoppiamento e ha termine quando la concentrazione di *progesterone* precipita al di sotto di 1ng/ml.

Non esistono manifestazioni esterne che lo contraddistinguono, fatta eccezione per la cessazione dei segni dell’estro. Il diestro rappresenta la fase luteinica del ciclo. La secrezione luteinica del *progesterone* dipende dall’LH ipofisario e dalla *prolattina*. I livelli plasmatici di *progesterone* prodotto dai corpi lutei, aumentano rapidamente durante le prime due settimane (10 – 20 ng/ml) dopo il picco dell’LH e dell’ovulazione. Per i primi 25 giorni i corpi lutei sono autonomi, periodo in cui questo plateau è mantenuto, ma successivamente dopo circa 30 giorni, la concentrazione di *progesterone* diminuisce, mentre la *prolattina* (ormone luteotropo prodotto nella pituitaria anteriore) interviene agendo su di essi (Concannon et al., 1989).

La durata del diestro è di circa 60-70 giorni e la sua diminuzione avviene

indipendentemente dal fatto che la gravidanza si sia instaurata o meno. Nella cagne gravide si assiste ad una rapida caduta preparto dei livelli di *progesterone* che si riduce a meno di 2 ng/ml. Ciò avviene circa 64 giorni dopo il picco dell'LH e circa 24 ore prima dell'inizio del parto ed è dovuto all'azione delle *prostaglandine* uterine ad azione luteolitica (Concannon et al., 1988).

Il declino del *progesterone* verso i valori basali è più lento e graduale nelle cagne non gravide (Olson et al., 1989) e può non raggiungere concentrazioni di 0,2 – 0,5 ng/ml per 90 giorni. E' importante sottolineare che è durante questo periodo di tardo diestro, in cui aumenta la concentrazione di *prolattina* e diminuisce il *progesterone*, che si sviluppa la pseudogavidanza.

Le concentrazioni plasmatiche di LH, FSH e di *estradiolo* e *prolattina* rimangono relativamente stabili per tutta la durata di questa fase.

■ **Anaestro:** dopo ogni ciclo riproduttivo la cagna entra in un periodo di quiescenza ovarica detto *anaestro*, che termina con l'insorgenza del ciclo successivo. La durata del periodo che intercorre tra la fine del diestro, come viene definito in base alle concentrazioni plasmatiche di *progesterone*, e l'insorgenza del proestro è estremamente variabile, ma in media risulta di quattro mesi (England, 1998). Durante l'anaestro la concentrazione dell'ormone della riproduzione è ai livelli basali, con una concentrazione di *progesterone* che può essere minore di 1 ng/ml (Olson et al., 1989). Poiché

non ci sono segni esterni associati all'anaestro, questa fase è stata descritta erroneamente come un periodo di quiescenza sessuale. In realtà durante l'anaestro l'asse ipofisi-ovarico e l'utero sono attivi. Sono state identificate fluttuazioni pulsanti degli ormoni ipofisari LH ed FSH e delle secrezioni di *estrogeni* ovarici. Ondate di *estrogeni* imperversano per tutto il periodo dell'anaestro (Olson et al., 1982), probabilmente legate allo sviluppo follicolare. I follicoli in questione non raggiungono la maturità, ma vanno incontro ad atresia, per tale motivo la concentrazione di *progesterone* rimane bassa (Feldman et Nelson, 1987).

Durante l'anaestro l'endometrio si distacca. Le dimensioni e l'attività delle ghiandole endometriali e lo spessore del miometrio e dell'endometrio diminuiscono, benché non arrivino ai valori osservati nelle cagne prepuberi. La riparazione endometriale continua per circa 120 giorni dopo i cicli non gravidi e per un periodo leggermente più lungo (150 giorni) dopo un ciclo gravido.

Date le estreme variazioni della durata del proestro e dell'estro, la mancanza di correlazione tra il primo giorno di estro comportamentale e il picco dell'LH, la variabilità dell'intervallo da quest'ultimo alla ovulazione, la necessità di maturazione degli oociti dopo essa e la durata della vita fecondabile degli oociti maturi e degli spermatozoi, si può facilmente comprendere come gli eventi del ciclo riproduttivo della cagna non possano



venire adeguatamente previsti o monitorati unicamente sulla base del numero di giorni trascorsi dall'inizio del proestro, delle variazioni fisiche e comportamentali della femmina o dal numero di giorni trascorsi dall'accoppiamento.

## Citologia vaginale

Questa metodica risulta di autentica e grande importanza nella gestione della riproduzione e nella valutazione delle femmine colpite da disordini riproduttivi. I campioni possono essere prelevati con un tampone dalla punta di cotone inumidita, oppure mediante lavaggio e aspirazione di un piccolo volume di soluzione fisiologica dalla vagina e possono poi venire colorati con qualsiasi delle numerose tecniche disponibili in commercio (Wright, Wright-Giemsa, Blu di Metilene).

Con questa tecnica si valuta il numero e le caratteristiche morfologiche delle cellule dell'epitelio vaginale, dei leucociti e degli eritrociti. I preparati vengono anche esaminati per individuare la presenza di altri materiali, quali batteri, muco, detriti cellulari, cellule endometriali ed elementi neoplastici. La citologia vaginale viene utilizzata oltre che per stabilire le date degli accoppiamenti e dei parti anche **per determinare lo stadio del ciclo estrale** ed identificare la natura di certi processi anormali all'interno dell'apparato riproduttore.

L'epitelio vaginale rappresenta uno dei tessuti bersaglio degli ormoni ovarici, pertanto le modificazioni a carico di esse sono il risultato della variazione della secrezione ormonale.

Poiché durante il **proestro** le concentrazioni plasmatiche *dell'estradiolo* aumentano con la maturazione dei follicoli, si assiste ad una proliferazione e

maturazione (corneificazione) delle cellule dell'epitelio vaginale e alla diapedesi eritrocitaria attraverso i capillari uterini. Durante la fase iniziale del proestro gli elementi predominanti sono le cellule *parabasali* ed *intermedie* dell'epitelio vaginale (più dell'80%). Le cellule *parabasali* sono le più piccole delle cellule epiteliali, d'aspetto tondeggianti e con nucleo grande; quelle *intermedie* sono di varia misura, ma solitamente le loro dimensioni sono doppie rispetto alle cellule *parabasali*. Esse sono disposte fra gli strati delle cellule *parabasali* e *superficiali* e presentano un nucleo rotondo. Man mano che il proestro procede, la popolazione delle cellule esfoliate va gradualmente in contro a maturazione; gli *elementi parabasali* scompaiono mentre quelli *superficiali* aumentano di numero. Le cellule epiteliali *superficiali* sono in assoluto le più grandi visibili su uno striscio vaginale. Esse si allineano sulla superficie luminale della vagina ed hanno margini piatti o ripiegati. Alla fine del proestro le *cellule squamose superficiali* e *anucleari* costituiscono il 70-80% degli elementi epiteliali.

Nelle fasi iniziali del proestro si osservano inoltre i granulociti neutrofili, la cui presenza diminuisce via, via durante la fase intermedia fino a sparire del tutto durante la fase terminale; gli eritrociti sono invece presenti per tutta la durata del proestro. Anche i batteri sono una presenza numericamente rilevante e comune, ma il loro riscontro è possibile in ogni momento del ciclo estrale. I campioni di citologia vaginale prelevati durante **l'estro** sono caratterizzati da predominanza di *elementi superficiali*, assenza di granulociti

neutrofili e sfondo chiaro. Durante l'estro il 90% o più degli elementi epiteliali è costituito da *cellule squamose superficiali* e *anucleate*. In questa fase, i leucociti sono normalmente assenti. Si riscontrano invece frequentemente eritrociti e batteri extracellulari.

L'inizio del **diestro** è caratterizzato da un brusco cambiamento della citologia vaginale. Questa fase del ciclo è contraddistinta da un'improvvisa riduzione delle cellule *superficiali* e dalla ricomparsa di *elementi intermedi*, neutrofili e detriti di fondo. Al primo giorno del diestro citologico, le cellule *parabasali* ed *intermedie* superano numericamente quelle *squamose superficiali* e *anucleate*. Spesso si osservano anche foglietti di *elementi intermedi*. Durante i primi due giorni di diestro ritornano anche in gran numero i leucociti. Eritrociti e batteri scompaiono. Questa prima drastica modificazione dell'aspetto citologico è seguita da un graduale mutamento verso il quadro tipico dell'anaestro (predominio di *cellule parabasali*). Sulla base dell'esame di un solo campione citologico non è possibile distinguere il proestro iniziale o in fase intermedia dal diestro.

Interessante è la modificazione dell'epitelio vaginale durante l'**anaestro**, in cui le concentrazioni plasmatiche del *progesterone* e dell'*estradiolo* sono bassissime. In questo periodo la citologia vaginale è del tutto acellulare: sono presenti primariamente elementi *parabasali* e piccole *cellule epiteliali intermedie*. La presenza o meno dei neutrofili è variabile, ma generalmente il loro numero è inferiore a quello riscontrato nelle fasi iniziali del diestro.

## CAPITOLO III

### LA PSEUDOCIESI NELLA CAGNA

La **pseudociesi** è una condizione fisica e comportamentale che simula la gravidanza con manifestazione da parte della femmina non gravida, del comportamento materno associato alla lattazione alla fine del diestro (fase luteinica). Questa condizione si riscontra comunemente nelle cagne integre con cicli, è considerata normale ed in questa specie assume caratteri differenti da tutte le altre. Nelle cagne intere la pseudogravidanza solitamente si manifesta intorno alle 6 - 10 settimane dopo l'estro (England, 1998b).

Si ritiene che inizialmente essa sia legata a cambiamenti dei livelli di *progesterone*, per eccessiva produzione di *prolattina* o per un aumento della risposta ad essa (Allen, 1986).

Il progesterone determina lo sviluppo della ghiandola mammaria e l'aumento di peso, indipendentemente dallo status gravidico, ma non la lattazione né altre modificazioni comportamentali e fisiche della falsa gravidanza. L'ormone responsabile della lattazione e del comportamento materno durante la pseudociesi è la *prolattina*, ma i meccanismi con cui esercita questi effetti non sono stati del tutto compresi. Le sue concentrazioni aumentano durante la seconda metà della gravidanza. Nelle cagne è il principale agente luteotropo

durante questo periodo. Sulla sua secrezione influiscono molti ormoni, come la *serotonina*, l'ormone *tireotropino – rilasciante* (TRH, Thyrotropin – Releasing Hormone), l'*ossitocina* ed altri. La *dopamina* è invece considerata il principale fattore inibitorio della *prolattina*. Anche il *progesterone* inibisce la secrezione di *prolattina* attraverso un feedback negativo. Nella cagna la falsa gravidanza è causata dal declino dei livelli plasmatici di *progesterone*, associato al termine della fase luteinica, che a sua volta provoca un incremento della concentrazione plasmatica di *prolattina*, proprio come avviene al momento del parto. Infatti, essa è spesso osservata in cagne normali non gravide durante il diestro, in cui si assiste alla diminuzione del tasso di *progesterone* (Gerres et Hoffmann, 1994) o ad una sua improvvisa rimozione (Allen, 1986). Durante il diestro le cagne non gravide con funzione ovarica normale hanno concentrazioni plasmatiche di *progesterone* indistinguibili dalle cagne gravide; inoltre la diminuzione di questo ormone e l'aumento della *prolattina* alla fine della fase diestrade, causano manifestazioni simili a quelle di una partoriente.

Dato che la cagna ovula spontaneamente ed entra sempre in una lunga fase luteinica, la falsa gravidanza negli animali di questa specie che hanno cicli estrali, costituisce un fenomeno comune. Nella cagna questo fenomeno si osserva anche in seguito alla cessazione della somministrazione di progestinici esogeni e dopo ovariectomia eseguita durante il diestro, poiché la rimozione delle ovaie determina un rapido decremento del *progesterone*. Ciò rimuove il

feedback negativo di *progesterone* a livello di pituitaria e aumenta la concentrazione di *prolattina* (Harvey et al., 1997). In questo caso le cagne entrano in pseudogavidanza, talvolta semi permanente e relativamente refrattaria al trattamento (Harvey et al., 1999).

La pseudociesti non è associata ad alcun'anomalia riproduttiva, come irregolarità del ciclo, piometra o infertilità. Al contrario, la sua insorgenza costituisce la prova che nel corso del ciclo precedente è avvenuta l'ovulazione e che l'asse ipotalamo-ipofisi-gonadi è integro. S'ignora il perché alcune cagne siano più predisposte allo sviluppo dei segni clinici e perché l'intensità di questi ultimi vari da un ciclo all'altro. Nelle cagne sintomatiche le concentrazioni plasmatiche di *prolattina* aumentano in seguito alla sospensione del *progesterone*, ma non sono sempre elevate nella stessa misura, né rimangono ininterrottamente alte. Inoltre, a parità di concentrazioni di *prolattina* alcune cagne mostrano i segni clinici della pseudociesti ed altre no. Sembra pertanto esistere una certa predisposizione individuale allo sviluppo della condizione. Probabilmente essa è un residuo ancestrale esistente fra il cane domestico e quello selvatico. Infatti, nei canidi selvatici come il lupo e il cane selvatico africano, tutte le femmine del branco entrano in proestro contemporaneamente, ma mentre le sole femmine alfa ovulano e allevano la cucciolata (Voith, 1980), quelle non dominanti entrano in pseudogavidanza, mostrando un aumento della concentrazione della *prolattina* con sviluppo delle mammelle, produzione latte e manifestando

istinto materno, tale da renderle predisposte ad allevare i piccoli. In questo modo i cuccioli hanno maggiore possibilità di sopravvivenza e il branco può continuare a crescere (Voith, 1980). Tuttavia il rischio è l'insorgenza di mastiti e alcune femmine rimangono stremate; pochissime raggiungono perfino uno stato di pseudoparto.

Nella cagna i segni clinici legati alla pseudogavidanza sono diversi e spesso preoccupano i proprietari, che spaventati da queste manifestazioni, portano il proprio animale a visita. Oltre a sintomi generici quali l'inappetenza e una certa aggressività, in corso di pseudociesi si assiste a modificazioni comportamentali caratteristiche ed inequivocabili come la preparazione del nido, l'adozione di altri animali o la maternalizzazione di oggetti inanimati e quanto mai patognomonicamente, lo sviluppo delle ghiandole mammarie e la galattorrea. La diagnosi è eseguita sulla base dei riscontri anamnestici e clinici in una cagna non gravida. Occorre tenere conto che si può osservare anche dopo ovariectomia durante il diestro e in seguito alla sospensione di progestinici esogeni. Per escludere una reale gravidanza si può prendere in considerazione il ricorso alla radiografia o all'ecografia addominale.



## Trattamento

I segni clinici della falsa gravidanza sono autolimitanti e di solito si risolvono dopo due o tre settimane (England, 1998a), perciò l'atteggiamento più appropriato del clinico è quello di non intervenire. Ciononostante, molti proprietari ne sono turbati e richiedono che l'animale venga trattato. L'applicazione di impacchi caldi o freddi sulle ghiandole mammarie possono promuovere la lattazione e sono da evitare. Nelle cagne che mostrano un significativo comportamento aggressivo si può prendere in considerazione una lieve sedazione; tuttavia in questa situazione non vanno utilizzate le *fenotiazine* perché possono aumentare la secrezione di prolattina. Quando è necessario effettuare una terapia, per alleviare i segni comportamentali e clinici della falsa gravidanza, nella cagna risultano efficaci i farmaci che inibiscono il rilascio di *prolattina*, come gli agonisti della *dopamina* e gli antagonisti della serotonina. Vengono utilizzati due agonisti della *dopamina*, la **bromocriptina** e la **cabergolina**. La dose suggerita per la prima è di 10-100 µg/Kg per via orale due volte al giorno per 10-14 giorni. La *bromocriptina* è un potente agonista recettoriale della *dopamina* che inibisce il rilascio di *prolattina* dall'adenipofisi. Ha un effetto diretto sulla ghiandola pituitaria, attraverso la stimolazione di recettori dopaminergici post-sinaptici, mentre a livello ipotalamico stimola il rilascio di PIF (Fattore Inibente la Prolattina). Alcuni degli effetti collaterali legati alla *bromocriptina* sono di tipo

gastrointestinale (nausea, vomito), ma di solito sono dose-dipendenti e quindi minimizzabili con la riduzione del dosaggio e la somministrazione dopo i pasti. La *cabergolina* invece causa il vomito solo raramente. La somministrazione per via orale di una dose pari a 5 µg/Kg/die determina un miglioramento entro 3-4 giorni e la risoluzione dei segni clinici entro 7 giorni. Attualmente questo rappresenta il farmaco d'elezione. In molti casi di pseudociesi prolungata è risultato utile il trattamento con *cabergolina* anche se le concentrazioni di *prolattina* sono ai livelli basali. Questo suggerisce che i benefici effetti possono essere mediati a livello tissutale, indipendentemente dalle concentrazioni sieriche. Anche un antagonista della serotonina, la **metergolina**, inibisce la secrezione di *prolattina*. Il dosaggio suggerito è di 0.1-0.2 mg/Kg due volte al giorno per 8 giorni. Quest'agente non provoca il vomito, ma può essere causa di ipereccitabilità, aggressività e uggiolii. In rari casi anche la *cabergolina* può causare un aumento dell'aggressività.

I progestinici come il **megestrol acetato** e gli androgeni sopprimono la secrezione di *prolattina* e possono quindi diminuire i segni clinici della falsa gravidanza. Come è prevedibile, tuttavia, queste manifestazioni spesso recidivano dopo la sospensione della somministrazione dei farmaci, in quanto il declino delle concentrazioni di progesterone costituisce un importante stimolo al rilascio di *prolattina*. Di conseguenza, i progestinici non sono consigliati per il trattamento della pseudociesi. E' possibile prevenire definitivamente il problema della recidiva con l'ovaristerectomia eseguita alla fine dell'anaestrosi.

L'intervento non va attuato durante il diestro perché, come conseguenza della rimozione della fonte ovarica di progesterone si può avere proprio l'insorgenza di una pseudociesti ed è probabile che quest'ultima, quando s'insatura in seguito ad un ovaristerectomia, sia più persistente che nelle cagne intere. Alla luce di quanto esposto s'intuisce l'importanza che può assumere la valutazione del tasso di *progestrone* plasmatico, per la determinazione dello stadio del ciclo estrale, per intervenire chirurgicamente in tempi opportuni e ridurre lo sviluppo di questa condizione.

Anche nelle cagne sterilizzate durante un episodio di falsa gravidanza la condizione può essere prolungata, a volte per anni. Pertanto la sterilizzazione chirurgica durante la pseudogravidanza è assolutamente controindicata perché, come è stato ampiamente riconosciuto, può portare ad un' esasperazione del problema (Harvey et al., 1999).

In caso di recidiva in cagne ovaristerctomizzate va presa anche in considerazione la possibilità di residuo ovarico.

## **LA STERILIZZAZIONE E SUE COMPLICANZE**

Nelle femmine l'ovaristerectomia è comunemente consigliata, al fine di evitare gli inconvenienti legati all'estro e per prevenire le gravidanze indesiderate. Inoltre, la sua applicazione scongiura l'insorgenza dell'iperplasia endometriale cistica ed in tarda età della piometra ed è certamente utile praticarla nelle giovani femmine, in quanto diminuisce il rischio di insorgenza di neoplasie mammarie.

Si è lungamente dibattuto sui benefici, sugli effetti e su vari altri aspetti della sterilizzazione in età prepubere (Lieberman, 1988; Stubbs et Bloomberg, 1995; May, 1998).

A tale proposito Loar ha dimostrato che l'ovaristerectomia, praticata antecedentemente al primo calore, diminuisce l'incidenza di tumori mammari; il rischio si riduce allo 0.5% rispetto al 26% per le femmine sterilizzate dopo due o più cicli estrali (Loar, 1989).

D'altronde, non sono state riscontrate prove evidenti che la sterilizzazione in età prepubere abbia conseguenze più dannose, rispetto a quella praticata in femmine adulte. In Inghilterra la sterilizzazione è di norma eseguita prima o poco dopo il primo calore, quindi intorno ai sei mesi circa (Jago et Serpell, 1988). In quest'ultimo caso, prima di eseguire l'intervento, è necessario che siano trascorsi minimo tre mesi dal calore, al fine di consentire all'utero di divenire quiescente e per attendere la diminuzione del tasso di progesterone

plasmatico; in altre parole sarebbe auspicabile che le femmine si trovino in fase di anaestrosi al momento della sterilizzazione (Allen, 1986).

L'approccio chirurgico più comune è quello laparotomico mediale e prevede l'asportazione dell'intero apparato genitale. In Inghilterra la sterilizzazione nelle gatte viene eseguita mediante una breccia chirurgica praticata nel fianco; si tratta di una metodica scarsamente applicata nelle cagne, anche se talvolta questa tecnica può essere scelta in corso di sterilizzazione di giovani femmine (England, 1998a)

L'approccio laparotomico mediano presenta notevoli vantaggi, come la facile localizzazione delle ovaie nonché dei vasi e consente una buona ispezione della cavità addominale, riducendo il rischio d'inclusioni accidentali degli ureteri nella legatura chirurgica, che rappresenta in alcuni casi una delle complicanze legate all'intervento.

A tale proposito, anche se la sterilizzazione rientra negli interventi di routine nella pratica ambulatoriale, anch'essa può presentare delle serie complicanze. Una di queste è l'incontinenza urinaria dovuta o ad incompetenza dello sfintere uretrale (Thrusfield et al., 1998) o per errori chirurgici, quale l'inclusione accidentale dell'uretere nella legatura cervicale. Grazie ad uno studio retrospettivo Arnold ha riscontrato che il 20.1% delle femmine diventano incontinenti in seguito ad ovaristerectomia. Successivamente, è stato dimostrato che in 12 femmine il profilo pressorio uretrale (UPP) e la capacità di chiusura dello sfintere diminuivano dopo l'intervento e che nove

femmine del campione in esame hanno sviluppato incompetenza del meccanismo dello sfintere uretrale (SMI) (Arnold, 1993).

Altri inconvenienti legati alla sterilizzazione sono le emorragie, la patologia del moncone, la persistenza del ciclo dovuta a rimanenza di frammenti ovarici, la pseudogavidanza e l'obesità (White, 1998). L'insorgenza di fenomeni emorragici può essere dovuta ad incidenti chirurgici quali legature poco salde e rappresenta la più comune causa di morte post intervento (Pearson, 1973). Le femmine affette da questa complicanza guariscono lentamente, presentano mucose pallide, tempo di riempimento capillare lento, polso debole, tachipnea, distensione addominale e gemono trasudato dalla ferita chirurgica. Analogamente, anche la sterilizzazione eseguita durante la fase del ciclo estrale aumenta notevolmente i rischi di emorragie, giacchè la vascolarizzazione e' più sviluppata e il tratto anatomico in questione è più turgido e friabile (White, 1998). Nelle femmine in cui permangono frammenti di tessuto ovarico è possibile invece, osservare la persistenza dei segni dell'estro (scolo sieroemorragico nel caso in cui siano presenti anche frammenti di tessuto uterino). Ciò avviene per incompleta asportazione dell'ovaio o per la caduta accidentale di frammenti ovarici all'interno della cavità addominale al momento della resezione, oppure per la presenza di tessuto ovarico quiescente disposto al di là del peduncolo ovarico e che diventa successivamente attivo (Feldman et Nelson, 1987).

La patologia del moncone si sviluppa se al momento dell'intervento viene

lasciata in loco parte della cervice uterina e nel caso in cui siano presenti livelli di progesterone esogeno o endogeno.

Infine, l'obesità più che una complicanza è considerata una conseguenza dell'intervento. Edney e Smith (1986) hanno condotto in Inghilterra uno studio su cagne sottoposte a sterilizzazione, da cui è emerso che le femmine in questione avevano una possibilità due volte maggiore di diventare obese rispetto alle cagne intere; si è così supposto che ciò fosse dovuto ad una minore capacità di regolare la quantità di cibo assunta e pertanto in questi casi è consigliabile ricorrere ad un'alimentazione con diete ipocaloriche (White, 1998).

## **P A R T E II**



## ▣ OBIETTIVO

Scopo del presente lavoro è di saggiare la concentrazione plasmatica di progesterone nella cagna e di dimostrare se la sua valutazione può rappresentare un indice attendibile per individuare la fase del ciclo estrale, al fine di scongiurare l'insorgenza in caso di sterilizzazione della pseudogavidanza iatrogena.

## ■ MATERIALI E METODI

### **Arruolamento dei soggetti**

La ricerca in questione è stata eseguita presso la Sezione di Clinica Ostetrica dell'Università di Medicina Veterinaria di Napoli. Lo studio è stato condotto su 18 cagne di razze diverse, d'età compresa fra i 5 e i 20 mesi, di cui 9 soggetti giovani in presunta età prepubere e 9 adulte che avevano superato il primo calore. Per l'identificazione di ciascun soggetto arruolato è stata utilizzata una numerazione progressiva compresa fra 1 e 18 (Appendice I). Per ciascuna cagna è stata preparata una scheda di segnalazione e di diagnosi ed ogni soggetto è stato sottoposto ad accurata visita clinica, ponendo particolare attenzione all'esame ispettivo della vulva e delle ghiandole mammarie. Ai rispettivi proprietari è stato richiesto di compilare un breve questionario, per stabilire se le cagne avevano raggiunto o meno il loro primo calore, indicandone il periodo, eventuali precedenti gravidanze o pseudogavidanze. Sono state poi misurate le dimensioni delle mammelle caudali di destra e di sinistra (lunghezza, ampiezza e altezza espressa in millimetri), utilizzando carta millimetrata per ottenere le dimensioni basali delle ghiandole mammarie in fase pre operatoria, con il fine di osservare eventuali modifiche nel post operatorio (Tab.3).

Tutte le informazioni da noi ottenute per ciascun soggetto, sono state

regolarmente registrate nella scheda di cui sopra (Appendice II, Parte A).

Prima di eseguire l'intervento di ovaristerectomia da ciascun soggetto sono stati prelevati 3 ml di sangue dalla vena cefalica mediante cateterismo venoso, raccolto poi in provette eparinizzate per l'ELISA progesterone – test ed altri 4 ml di sangue, di cui 1 ml raccolto in provette contenente EDTA per l'esame emocromocitometrico e i restanti 3 ml stoccati in provette per i consueti esami ematobiochimici di routine.

L'ovarioisterectomia è stata eseguita in anestesia gassosa con approccio chirurgico laparotomico mediale.

### **Intervento di ovaristerectomia**

Ciascun soggetto è stato sottoposto ad intervento di ovaristerectomia in anestesia gassosa.

Per la premedicazione (T<sub>0</sub>) sono state iniettate in muscolo *Atropina* (0.025 mg/Kg) e *Domitor* (*medetomidina cloridrato* 10 µg/Kg); trascorsi 10 minuti (T<sub>1</sub>) è stato iniettato *Diazepam* (0.25 mg/Kg) per via endovenosa.

Per l'induzione è stato impiegato il *Propofol* (4 mg/Kg) per via endovenosa (T<sub>2</sub>). A questo punto il soggetto è stato intubato e il mantenimento dell'anestesia ottenuto mediante O<sub>2</sub> (15 ml /Kg/ min.) ed *Isoflurano* al 2%.

Con il soggetto in decubito dorsale l'addome è stato tricotomizzato, preparato chirurgicamente e delimitato da teli sterili. Con approccio chirurgico

laparotomico mediale è stata praticata un'incisura nel 3° craniale, interessando cute e sottocute; incidendo e dissezionando per via smussa i tessuti, è stata esposta la fascia addominale e mediante l'impiego di forbici è stato praticato un taglio in corrispondenza della linea mediana, penetrando così in cavità addominale. Una volta localizzato il corno uterino di destra è stata posizionata una pinza sul legamento proprio dell'ovaio, operando una trazione e rompendo manualmente il legamento sospensore. Dopo aver praticato una fenestratura del mesovario caudalmente ai vasi ovarici, il peduncolo ovarico è stato clampato con 3 pinze e reciso tra la pinza posta più vicina all'ovaio e quella mediana. Una volta rimossa la pinza più distante dall'ovaio, la legatura chirurgica con filo riassorbibile è stata posizionata nella sua scanalatura. Successivamente, afferrato con una piccola pinza emostatica il peduncolo e rimosse le altre pinze, la parte è stata ispezionata per assicurarsi dell'assenza di sanguinamenti. Rimuovendo in fine anche la pinza emostatica, il peduncolo è stato rilasciato in addome. La stessa procedura è stata ovviamente eseguita in corrispondenza dell'ovaio controlaterale.

Successivamente, spostandosi verso la cervice uterina, sono state posizionate 3 pinze sul corpo uterino cranialmente alla cervice. Ciascun'arteria uterina è stata individualmente legata con doppio nodo chirurgico posteriormente alla pinza più caudale. La recisione del corpo uterino è stata eseguita tra la pinza mediana e quella prossimale. Una volta rimossa la pinza caudale, l'utero è stato suturato nella scanalatura che residuava ed il moncone uterino è stato

afferrato utilizzando un piccolo emostato ed ispezionato, per accertarsi di eventuali sanguinamenti. Infine esso è stato riposizionato in addome, rimuovendo la pinza emostatica. Dopo aver ispezionato la cavità addominale accertandosi di aver rimosso tutte le garze laparotomiche impiegate, è stata instillata in addome una soluzione antibiotica e si è provveduto alla chiusura della breccia laparotomica. La muscolatura, la fascia addominale e il sottocute sono stati suturati impiegando *catgut cromico EP*, per la cute invece è stata eseguita una sutura a punti nodosi staccati, impiegando materiale non assorbibile.

### **Follow up**

I soggetti sono stati ricontrollati a 10 giorni dall'intervento, al momento della rimozione delle suture e in quella stessa occasione è stato richiesto ai proprietari di compilare un altro breve questionario, con domande riguardanti la degenza post operatoria dei propri animali. Lo scopo è stato quello di stabilire se le cagne avevano mostrato modificazione di comportamento o di temperamento (Appendice II, Parte B).

Ognuna delle cagne è stata sottoposta poi a nuovo esame clinico secondo il seguente schema:

▪ **Esame obiettivo particolare:**

- Ispezione della vulva, per individuare l'eventuale presenza di emorragie o scoli vaginali;
- Ispezione, palpazione e misurazione delle mammelle per il riscontro di eventuali ingrandimenti, valutando al contempo la presenza o meno di galattorrea;
- Ispezione e palpazione della ferita chirurgica per accertarne il corretto processo di guarigione.

Anche in questo caso, le informazioni ottenute dai rispettivi proprietari e i nuovi dati da noi acquisiti sono stati riportati nella scheda di segnalazione e di diagnosi (Appendice II, Parte B).

Le cagne sono state oggetto di osservazione per un periodo di 2 mesi.

## **Test di laboratorio**

### **a) ELISA Test e campionamento del progesterone**

Ciascun campione (3 ml) di sangue raccolto in provette eparinizzate è stato centrifugato e il plasma stoccato e congelato. Successivamente, i campioni sono stati inviati al laboratorio BIEsseA di Milano per la valutazione del progesterone plasmatico mediante test ELISA.

Allo scopo sono stati impiegati kit di ELISA – progesterone per determinare la concentrazione dell'ormone presente nei campioni raccolti. Sia i kit che i campioni sono stati conservati a temperatura ambiente; all'interno dei pozzetti è stata addizionata una quantità standard di 20 ul ottenuta dai campioni con 200 ul di enzima-progesterone marcato, e lasciati per 2 ore. Successivamente, i pozzetti sono stati sciacquati 4 volte con 200 ul di soluzione di lavaggio e di 200 ul di fosfatasi alcalina. Trascorsi 20 minuti il vetrino è stato letto, mediante l'uso di uno spettrofotometro a 550 nm e i risultati ottenuti confrontati con una curva standard.

Il test ELISA si basa su un legame competitivo del progesterone non conosciuto, presente nei campioni in esame e il progesterone marcato. I pozzetti sono rivestiti di uno strato di anticorpi anti progesterone ed il progesterone che si lega ad essi è valutato mediante reazione dell'enzima con il substrato. La quantità di progesterone marcato, è misurata da un cambiamento di colore ed è inversamente proporzionale al progesterone non marcato. I risultati ottenuti sono stati poi confrontati con una curva standard.

## **b) Esame istologico delle ovaie**

Eseguita l'ovaristerectomia, le ovaie sono state separate dalla borsa ovarica, catalogate ed inviate all'Istituto di Anatomia Patologica.

Per l'esame istologico ciascun campione è stato fissato in formalina al 10% per 24 ore; successivamente è stato sezionato con un bisturi per ottenere porzioni rappresentative ed è stato posto in apposite gabbiette di plastica con lo scopo di contenerlo nel corso delle fasi successive, portandolo così all'inclusione in blocchetti di paraffina. Da ciascuna porzione sono state allestite mediante *microtomo* sezioni istologiche dello spessore di 4 µm che previa sparaffinatura, sono state poi colorate con ematossilina ed eosina. Ciascuna sezione poi, è stata esaminata al microscopio prima a basso (40 x) e poi ad alto (100 x) ingrandimento, prendendo in esame lo sviluppo follicolare e la presenza dei corpi lutei.

I follicoli sono stati poi classificati come di seguito:

**primari** ( piccoli, non antrali);

**piccoli e antrali;**

**grandi e antrali.**

I corpi lutei invece, sono stati classificati come **appartenenti al**

**diestro o al tardo diestro**, secondo le loro caratteristiche istologiche (adattato da Anderson, 1970; Dore, 1989; Jeffcoate et al., 2000).

In breve, i corpi lutei del **diestro** apparivano grandi, con cellule rotondeggianti e nuclei con capsula sottile, provvisti



di un'estesa rete capillare e d'aspetto più denso rispetto a quelli del tardo diestro, per la minore apoptosi.

I corpi lutei del **tardo diestro** invece avevano un aspetto meno regolare, contenenti filamenti fibroblastici e nuclei allungati. A causa della significativa apoptosi essi apparivano meno densi e con esigua rete capillare.

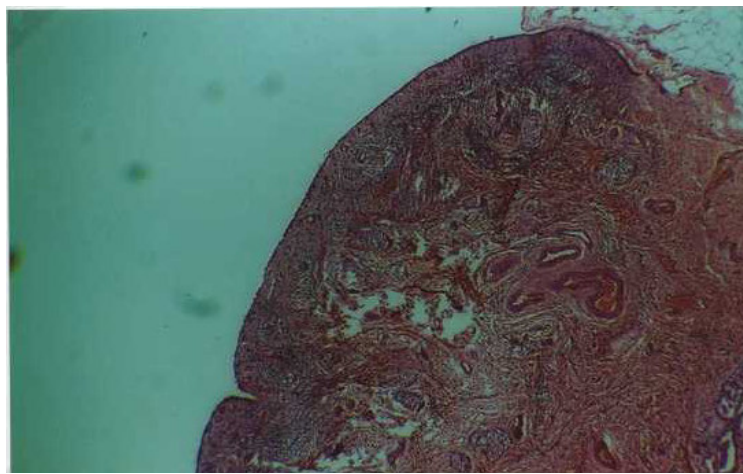
Maggiore densità avevano i **corpi lutei regrediti** ed il tessuto connettivo era ricco di strutture contenenti macrofagi.

## ■ RISULTATI

I risultati conseguiti sono stati ottenuti confrontando i dati prodotti dall'esame istologico con le concentrazioni plasmatiche di progesterone, valutate mediante ELISA progesterone – test. Tale confronto ci ha consentito di stabilire lo stadio del ciclo estrale dei soggetti in esame. Occorre precisare che all'atto del segnalamento dai proprietari avevamo appreso che tutte le femmine adulte avevano superato il calore da circa tre – quattro mesi e che nessuna delle giovani cagne aveva raggiunto il primo calore.

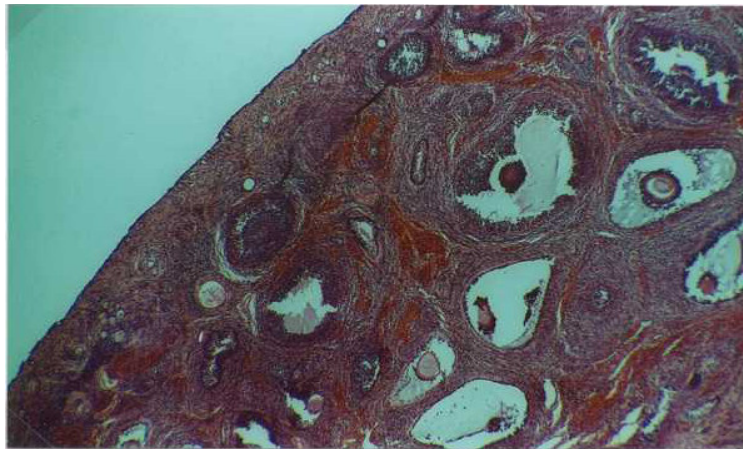
Le cagne in età *prepubere* (Fig. 1) presentavano ovaie silenziose con follicoli primari e concentrazioni di progesterone plasmatico inferiore ad 1 ng/ml (Tab. 1).

**Figura 1.** Istologia ovarica di una femmina prepubere con follicoli primari multipli.



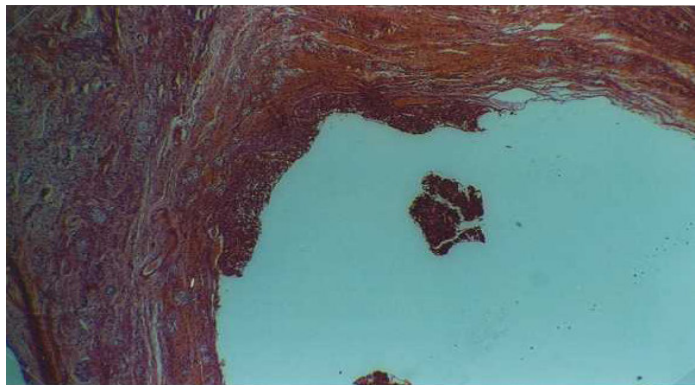
I soggetti in fase di *proestro* (Fig. 2) all'esame istologico mostravano invece, piccoli follicoli antrali e l'ELISA progesterone – test indicava concentrazioni di progesterone inferiori a 5 ng/ml (Tab.1).

**Figura 2.** Istologia ovarica di una femmina in fase di *proestro* con follicoli antrali.



Le femmine in fase *estrale* (Fig. 3) avevano grandi follicoli antrali e una concentrazione dell'ormone assai variabile, con titoli compresi fra 5 e 10 ng/ml (Tab. 1).

**Figura 3.** Istologia ovarica di una femmina in fase di *estro* mostrante una parte di un grande follicolo antrale.



Nelle cagne in fase di *diestro* si evidenziava la presenza di corpi lutei regolari, ben vascolarizzati con capsula liscia e sottile ed un tasso plasmatico di progesterone superiore a 5 ng/ml, a differenza delle femmine in *tardo diestro* in cui i corpi lutei apparivano irregolari e meno vascolarizzati con una concentrazione plasmatica di progesterone inferiore a 5 ng/ml (Tab. 1).

Infine, nei soggetti in *anaestro* (Fig. 4) l'esame istologico delle ovaie evidenziava la presenza di follicoli primari ed occasionalmente pochi corpi lutei in fase regressiva mentre, i tassi di progesterone erano inferiori ad 1 ng/ml (Tab. 1).

**Figura 4.** Istologia ovarica di una femmina in fase di *anaestro*.

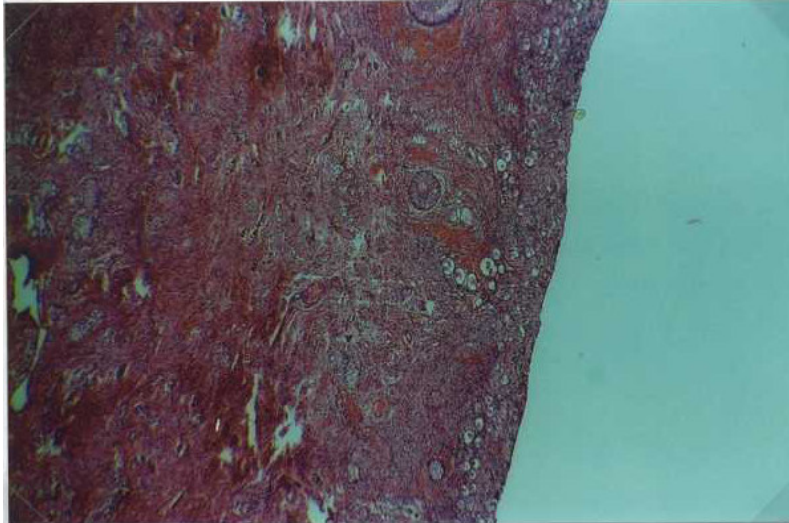


Tabella 1. Concentrazione plasmatica del progesterone ed istologia ovarica per la determinazione dello stadio del ciclo estrale della cagna.

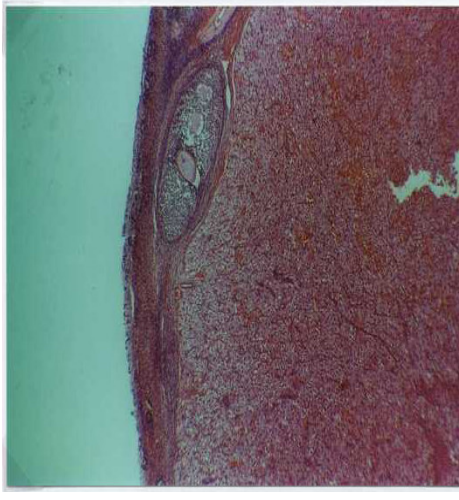
STADIO DEL CICLO ESTRALE	CONCENTRAZIONE PLASMATICA DEL PROGESTERONE (ng/ml)	ISTOLOGIA OVARICA
☐ PREPUBERALE	1 ng/ml	Follicolo primario.
☐ PRO-ESTRO	< 5 ng/ml	Piccolo follicolo antrale.
☐ ESTRO	5 – 10 ng/ml	Grande follicolo antrale.
☐ DIESTRO	> 5 ng/ml	Corpi lutei con capsula liscia e sottile, ben vascolarizzati con cellule rotondeggianti e nuclei..
☐ TARDO DIESTRO	< 5 ng/ml	Corpi lutei irregolari con esigua vascolarizzazione.
☐ ANAESTRO	< 1 ng/ml	Follicoli primari; pochi corpi lutei regrediti con. abbondante tessuto connettivo.
☐	☐	☐

Illustriamo di seguito i risultati di cui sopra, riportati ai singoli soggetti in esame, che per maggiore praticità e chiarezza espositiva, abbiamo suddiviso in due gruppi: **adulte e giovani**.

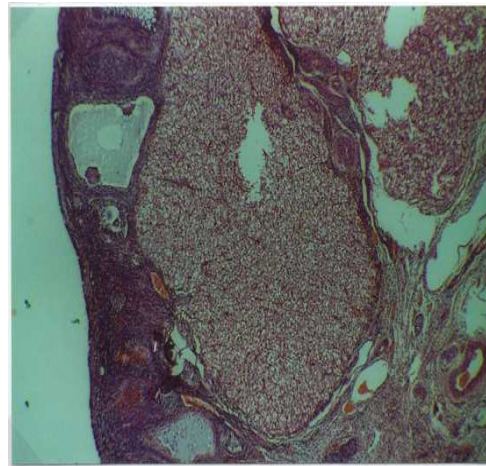
### **Adulte**

Dai risultati dell'esame istologico 5 delle femmine adulte, al momento della sterilizzazione erano in fase di *tardo diestro*, nello specifico i numeri 2, 3, 4, 16, 18 (Tab. 2), in cui i corpi lutei apparivano irregolari e poco vascolarizzati (Fig. 1 , 2).

**Figura 5.** Istologia ovarica di un corpo luteo del soggetto n° 4.



**Figura 6.** Istologia ovarica di un corpo luteo del soggetto n° 3 con capsula irregolare e segni di apoptosi.



Pur essendo indiscutibilmente questa la fase del ciclo estrale più rischiosa per l'insorgenza della pseudociesi iatrogena, soltanto due delle femmine in fase di *tardo diestro*, i numeri 3 e 4, sono entrate poi in pseudogavidanza.

Delle restanti quattro femmine, 3 sono risultate in fase di *anaestro* e precisamente i numeri 5, 14, 15 (Tab. 2), mentre un solo soggetto adulto, il numero 8, era in fase di *diestro* con corpi lutei grandi, e ben vascolarizzati.

### **Giovani**

Delle giovani cagne solo 5 sono risultate realmente *prepuberi*, i numeri 6, 7, 10, 11, 13 (Tab. 2). Esse presentavano ovaie silenti con follicoli primari. Delle restanti, 3 erano in fase di *proestro*, i numeri 9, 12, 17 (Tab. 2) con piccoli follicoli antrali multipli. Una sola giovane femmina, la numero 1, era in fase di *estro* mostrando in sezione istologica un ovaio con un grande follicolo antrale (Fig. 3).

L'aumento del volume ghiandolare mammario è stato calcolato mediante moltiplicazione matematica delle dimensioni: lunghezza, altezza e ampiezza. I parametri ottenuti sono stati confrontati e statisticamente valutati in fase pre e post operatoria. Come riportato nella Tabella 3 un significativo aumento è stato osservato solo nei soggetti numeri 3 e 4, entrati poi, in pseudociesti iatrogena.

Tabella 2. Comparazione della concentrazione del progesterone plasmatico, dell'esame istologico delle ovaie, dello stadio del ciclo estrale di ciascuna cagna con le risposte ottenute dai proprietari.

<b>SOGGETTI</b>	<b>ADULTI/GIOVANI</b>	<b>CONCENTRAZIONE DEL PROGESTERONE PLASMATICO</b>	<b>ISTOLOGIA OVARICA</b>	<b>STADIO DEL CICLO ESTRALE</b>	<b>PSEUDOCIESI INDOTTA</b>
SOGGETTO N°1	GIOVANE	10.0 ng/ml	4 grandi follicoli antrali: cumulo ooforo in uno, cellule luteali nei restanti.	ESTRO	NO
SOGGETTO N°2	ADULTO	1.2 ng/ml	3CLs, nuclei allungati, aspetto fibroblastico; vascolarizzazione assente.	TARDO DIESTRO	NO
SOGGETTO N° 3	ADULTO	1.8 ng/ml	3 CLs, cellule rotondeggianti, nuclei tondi, presenza di capillari.	TARDO DIESTRO	SI
SOGGETTO N° 4	ADULTO	3.3 ng/ml	1 CL con qualche invaginazione, cellule rotondeggianti, nuclei tondi, aspetto totalmente denso.	TARDO DIESTRO	SI
SOGGETTO N° 5	ADULTO	0.8 ng/ml	Assenza di CLs; alcuni follicoli quiescenti.	ANAESTRO	NO
SOGGETTO N° 6	GIOVANE	0.5 ng/ml	Alcuni follicoli primari; ovaie silenti.	PREPUBERALE	NO
☐	☐	☐	☐	☐	☐



<b>SOGGETTI</b>	<b>ADULTI/GIOVANI</b>	<b>CONCENTRAZIONE DEL PROGESTRONE PLASMATICO</b>	<b>ISTOLOGIA OVARICA</b>	<b>STADIO DEL CICLO ESTRALE</b>	<b>PSEUDOCIESI INDOTTA</b>
SOGGETTO N°7	GIOVANE	0.8 ng/ml	Follicoli di cui alcuni antrali.	PREPUBERALE	NO
SOGGETTO N°8	ADULTO	8.0 ng/ml	2 CLs, cellule rotondeggianti, vascolarizzazione presente.	DIESTRO	NO
SOGGETTO N° 9	GIOVANE	1.6 ng/ml	Piccoli follicoli antrali multipli.	PROESTRO	NO
SOGGETTO N° 10	GIOVANE	0.7 ng/ml	Follicoli primari multipli.	PREPUBERALE	NO
SOGGETTO N° 11	GIOVANE	0.9 ng/ml	Follicoli primari multipli.	PREPUBERALE	NO
SOGGETTO N° 12	GIOVANE	1.5 ng/ml	Piccoli follicoli antrali multipli.	PROESTRO	NO
SOGGETTO N° 13	GIOVANE	0.9 ng/ml	Follicoli primari multipli; ovaie silenti.	PREPUBERALE	NO
☐	☐	☐	☐	☐	☐

<b>SOGGETTI</b>	<b>ADULTI/GIOVANI</b>	<b>CONCENTRAZIONE DEL PROGESTRONE PLASMATICO</b>	<b>ISTOLOGIA OVARICA</b>	<b>STADIO DEL CICLO ESTRALE</b>	<b>PSEUDOCIESI INDOTTA</b>
SOGGETTO N°14	ADULTO	0.9 ng/ml	Assenza di CL; follicoli primari multipli.	ANAESTRO	NO
SOGGETTO N°15	ADULTO	0.9 ng/ml	Assenza di CL; follicoli primari multipli.	ANAESTRO	NO
SOGGETTO N° 16	ADULTO	1.1 ng/ml	3 CLs di aspetto irregolare, poco densi e vascolarizzati.	TARDO DIESTRO	NO
SOGGETTO N° 17	GIOVANE	1.8 ng/ml	Piccoli follicoli antrali multipli.	PROESTRO	NO
SOGGETTO N° 18	ADULTO	3.3 ng/ml	4 CLs di aspetto denso, cellule rotondeggianti e nuclei; vascolarizzazione presente.	TARDO DIESTRO	NO
☐	☐	☐	☐	☐	☐

## ■ DISCUSSIONE

Durante lo studio da noi condotto 18 cagne sono state sottoposte a sterilizzazione di cui 9 adulte che avevano superato il calore da tre-quattro mesi e 9 in presunta età prepubere. In base ai dati anamnestici raccolti due delle cagne adulte avevano una storia di gravidanza (i soggetti numeri 2 e 16) e tre di pseudociesti, nello specifico i soggetti numero 3, 4 e 18; quest'ultimo era stato trattato con carbacolina, un inibitore della prolattina.

Il confronto dei risultati ottenuti testando la concentrazione del progesterone plasmatico e valutando le sezioni istologiche ovariche, ci ha consentito di stabilire lo stadio del ciclo estrale di ciascuna cagna oggetto di ricerca e la veridicità delle dichiarazioni dei proprietari rilasciate all'atto del segnalamento. I risultati raggiunti hanno però smentito in parte quanto dichiarato dai proprietari durante la raccolta dell'anamnesi, consentendoci di individuare con un buon margine di attendibilità lo stadio del ciclo estrale di ciascuno dei soggetti arruolati.

Secondo quanto da noi osservato **solo il 55% delle giovani cagne era realmente *prepubere***; l'ovaio in sezione istologica appariva quiescente, con molti follicoli primari e assenza di follicoli antrali. **Di esse il 45% sono state sterilizzate in fase di *proestro* o di *estro***, caratterizzato da sviluppo di follicoli antrali ed aumento della concentrazione plasmatica di progesterone.

Ciò al momento non comporta alcuna correlazione significativa con la pseudogravidanza. Tuttavia, in questi momenti l'apparato riproduttivo delle femmine è altamente vascolarizzato e tende ad essere più friabile.

Talvolta, il rischio di un'emorragia intra o post operatoria aumenta (Pearson, 1973) ed in questi casi l'emorragia rappresenta la più comune causa di morte post operatoria in caso di ovaristerectomia.

**Per quanto concerne le cagne adulte al momento della sterilizzazione il 55% era in realtà in fase di *tardo diestro*.** Ciò dimostra che malgrado l'anamnesi raccolta in fase pre operatoria più della metà delle cagne adulte sono state sterilizzate in una fase del ciclo inappropriata **Di esse il 22% sono entrate in pseudociesi iatrogena con tutto il corredo sintomatologico che la caratterizza:** un significativo ingrandimento mammario (stimando le dimensioni mammarie con i valori basali ottenuti dalla prima misurazione in fase preoperatoria), modificazioni del comportamento e galattorrea dalle mammelle inguinali.

Va detto, che durante la raccolta dell'anamnesi le dichiarazioni rilasciate dai proprietari si sono rivelate imprecise o quantomeno discordanti con quelle ottenute dagli altri membri familiari. Ciò probabilmente spiega il motivo per il quale, alcune delle femmine adulte sono state sterilizzate durante la fase diestrale. Inoltre, ricordiamo che il corpo luteo delle femmine non gravide regredisce lentamente (Dore, 1989) e che il progesterone può essere presente nelle strutture luteali in degenerazione (Jeffcoate et al., 2000). E' inoltre possibile, che malgrado le cagne siano state sterilizzate in tempi opportunamente lontani dall'ultimo calore, abbiano prolungato la fase luteinica e pertanto si trovavano ancora in *diestro* al momento della sterilizzazione. Ribadiamo che la sterilizzazione eseguita in fase di *diestro* può indurre una pseudogavidanza semi permanente e refrattaria al trattamento (Harvey et al., 1999). Essa

rappresenta una potenziale complicanza della sterilizzazione ed è perciò importante che siano prese tutte le misure precauzionali necessarie ad assicurare che le cagne non siano in stadio di *diestro* al momento dell'intervento. Ciò potrebbe essere ottenuto valutando la concentrazione plasmatica di progesterone (Olson et al., 1989) e sebbene i risultati del presente studio supportino questa tesi, resta il fatto che la concentrazione plasmatica di questo ormone non è un elemento distintivo fra il *proestro* e il *tardo diestro*. Infatti, secondo i risultati della nostra ricerca la concentrazione del progesterone delle cagne in *proestro* e in *tardo diestro* risulta molto simile, oscillando fra valori di 1,5 e 3,3ng/ml (Tab. 2). L'uso di un test ELISA può essere utilmente sfruttato nella pratica, **ma mentre consente una distinzione fra un basso (<3ng/ml) ed un alto tasso dell'ormone (>10ng/ml), il test non è in grado di distinguere fra la concentrazione basale (< 1ng/ml) ed un basso livello di progesterone plasmatico**. Pertanto, questa metodica **risulta utile per identificare lo stadio di *anaestro* e di *estro*, ma con essa è impossibile differenziare l'*anaestro*, il *proestro* e il *tardo diestro***. Alla luce di quanto esposto, se per l'identificazione dei suddetti stadi questa metodica di laboratorio da sola appare assai limitata, risulta invece molto vantaggiosa se abbinata ad altre metodologie impiegate per la determinazione dello stadio del ciclo estrale. A tale proposito dà un valido apporto la raccolta di un'accurata anamnesi, la valutazione clinica dei genitali esterni, l'esame citologico vaginale, e non meno importante, la responsabilizzazione del proprietario. Il metodo più immediato è senz'altro l'esame clinico della vulva al momento del controllo preoperatorio. La vulva di una cagna in *proestro* è

arrossata ed edematosa, mentre durante la fase diestrale appare imm modificata.

In contemporanea, la valutazione dell'oscillazione della concentrazione plasmatica di progesterone da 1 a 5ng/ml, può essere orientativa per stabilire se la cagna è in fase di *proestro* o di *tardo diestro*. Le ultime due pratiche indicate, se impiegate insieme, rappresentano quindi un riferimento utile per la differenziazione fra i due stadi. E' importante ricordare che la quota degli estrogeni e dell'ormone luteinizzante (LH) insieme al progesterone, consente di stabilire il tempo ottimale per l'accoppiamento (Hewitt and England, 1999); tuttavia la loro valutazione non è di alcun aiuto per la prevenzione della pseudociesi indotta da sterilizzazione, proprio perchè la loro concentrazione plasmatica è a livello basale durante il *tardo diestro*. L'esame citologico eseguito sull'epitelio vaginale è sicuramente un test aggiuntivo vantaggioso, dal momento che in ciascun stadio del ciclo sessuale le cellule mostrano specifiche e ben documentate modificazioni (Hewitt and England, 1999).

In conclusione, sebbene per questo studio sia stato arruolato un esiguo campione di soggetti, esso a nostro parere è rappresentativo e consente di poter esprimere le prime considerazioni pratiche. **Una percentuale del 22% del totale dei soggetti adulti entrati in pseudogvidanza non è certo insignificante** e le difficoltà da affrontare nel trattamento di questa condizione, quando indotta da ovaristerectomia (Harvey et al., 1999), suggeriscono che un'accurata raccolta anamnestica insieme ad una scrupolosa visita clinica e alla valutazione del tasso di progesterone plasmatico, possano essere un valido aiuto nella riduzione dell'incidenza della pseudociesi.

## **BIBLIOGRAFIA**

Allen, W.E.: Pseudopregnancy in the bitch: the current views on aetiology and treatment. *Journal of Small Animal Practice*. 1986; 27: 419-424.

Arnold, S.: *Journal of Reproduction and Fertility Supplement*. 1993; 47: 547.

Chakraborty, P.K.: Reproductive hormone concentrations during estrus, pregnancy and pseudopregnancy in the labrador bitch. *Theriogenology*. 1987; 27: 827-840.

Concannon, P.W., Hansel, W., and Visek, W.J.: The ovarian cycle of the bitch: plasma estrogen, LH and progesterone. *Biol. of Reprod.* 1975; 13(1): 112-121.

Concannon, P.W., Isaman, L., Frank, D.A., Michel, F.J. and Currie, W.B.: Elevated concentrations of 13, 14 – dihydro -15- keto- prostaglandin F- 2 alpha in maternal plasma during prepartum luteolysis and parturition in dogs (*Canis familiaris*). *Journal of Reproduction and Fertility*. 1988; 84: 71-77.

Concannon, P.W., McCann, J.P., and Temple, M.: Biology and endocrinology of ovulation, pregnancy and parturition in the dog. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement*. 1989; 39: 3-25.

Dore, M. A. P.: Structural aspects of luteal function and regression in the ovary of the domestic dog. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement*. 1989; 39: 41-53.

Edney, A. T .B., and Smith, P.M.: Study of obesity in dogs visiting veterinary practices in the United Kingdom. *Veterinary Record*. 1986; 118: 391- 398.

England, G.W.C. In: *Allen's Fertility and Obstetrics in the dog*. 1998a. Oxford, Blackwell Science.

England, G.W.C.: Complications of treating presumed pseudopregnancy in pregnant bitches. *Veterinary Record*. 1998b; 14: 369- 371.

Feldman, E.C., and Nelson, R.W.: *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction*. 1987. 2<sup>nd</sup> Ed. Philadelphia, W.B. Saunders: 526- 648.

Gerres, S., and Hoffmann, B.: Investigation of the role of progesterone in the endocrine control of overt pseudopregnancy in the bitch: application of an antigestagen and effects on corpus luteum function. *Animal Reproduction Science*. 1994; 35(3) (4): 281- 289.

Harvey, M A., Cauvin, A., Dale, M., Lindley, S., and Ballabio, R.: Effects and mechanisms of the antiprolactin drug cabergoline on pseudopregnancy in the bitch. *Journal of Small Animal Practice*. 1997; 38: 336- 339.



- Harvey, M.J.A., Dale, M., Lindley, S., and Waterston, M.M. A.: Study of the aetiology of pseudopregnancy in the bitch and the effect of cabergoline therapy. *Veterinary Record*. 1999; 144: 433- 436.
- Hewitt, D.A., England, G.C.: Influence of gonadotrophin supplementation on the in vitro maturation of bitch oocytes. *Vet. Rec.* 1999 Feb 27; 144(9): 237-9.
- Jagoe, J.A., and Serpell, J.A.: Optimum time for neutering. *Veterinary Record*. 1988; 122(18): 447.
- Jeffcoate, A., McBride, M., Harvey, M.J., and Aughey, E.: Measurement of plasma oestradiol after injection of a gonadotrophin as a test for neutered bitches. *Veterinary Record*. 2000; 146: 599- 602.
- Kustritz, M.V., and Johnston, S.D.: Use of serum progesterone for ovulation timing in the bitch. In: *Firk's Current Veterinary Therapy XIII*. 1999. Philadelphia, WB Saunders: 914- 915.
- Liebermann, L.L.: The optimum time for neutering surgery of dogs and cats. *Veterinary Record*. 1988; 122(15): 369.
- Loar, A.S.: Tumours of the genital tract and mammary gland. In: *Ettinger, S.J., (ed) Textbook of Veterinary Internal Medicine*. 1989. 3<sup>rd</sup> Ed. Philadelphia, W.E. Saunders.
- May, C.: Orthopaedic effects of prepubertal neutering in dogs. *Veterinary Record*. 1998; 142( 3): 71- 72.

Nett, T. M., Akbar, A. M., Plemister, R. D., Holst, P. A., Reichert, L. E., and Niswender, G. D., : Levels of luteinizing hormone, estradiol and progesterone in serum during the estrous cycle and pregnancy in the beagle bitch. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1975; 148: 134.

Olson, P., Bowen, R.A., Behrendt, M., Olson, J.D., and Nett, T.M.: Concentrations of reproductive hormones in canine serum throughout late anoestrus, proestrus and estrus. *Biology of Reproduction.* 1982; 27: 1196-1206.

Olson, P.N., Nett, T.M., Bowen, R.A., Sawyer, H.R., and Niswender, G.D.: Endocrine regulation of the corpus luteum of the bitch as a potential target for altering fertility. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement.* 1989; 39: 27-40.

Pearson, H.: The complications of ovariohysterectomy in the bitch. *Journal of Small Animal Practice.* 1973; 14: 257-266.

Stubbs, W.P., and Bloomberg, M.S.: Implications of early neutering in the dog and cat. *Seminars in Veterinary medicine and surgery.* 1995; 10(1) : 8-12.

Thrusfield, M.V., Holt, P.E., and Muirhead, R.H.: Acquired urinary incontinence in bitches: it's incidence and relationship to neutering practices. *Journal of small animalpractice.* 1998; 39(12) : 559-566.

Voith, V .L.: Functional significance of pseudocyesis. *Modern Veterinary Practice*. 1980; 61: 75.

White, R.N. Surgery of the genital tract. In: Simpson, G. ( ed) *Manual of Small Animal Reproduction and Neonatology*. 1998. BSAVA. 171-175.

Wildt, D. E., Panko, W. B., Chakraborty, P. K., and Seager, S. W. J.: relationship of serum estrone, estradiol-17 $\beta$  and progesterone to LH, sexual behaviour and time of ovulation in the bitch. *Biol. Reprod.* 1979; 20: 648.

Tabella 3. Volume (in mm<sup>3</sup>) delle mammelle caudali di destra e di sinistra di ciascuna femmina oggetto di studio in fase pre e post operatoria.

SOGGETTI	GHIANDOLE MAMMARIE INGUINALI	VOLUME GHIANDOLARE PRE-OPERATORIO (mm <sup>3</sup> )	VOLUME GHIANDOLARE POST-OPERATORIO (mm <sup>3</sup> )	MODIFICAZIONE DEL VOLUME GHIANDOLARE (mm <sup>3</sup> )
SOGGETTO N°1	SINISTRA	320	288	-32
	DESTRA	256	256	0
SOGGETTO N°2	SINISTRA	320	320	0
	DESTRA	216	216	0
SOGGETTO N°3	SINISTRA	240	288	<b>48</b>
	DESTRA	324	324	0
SOGGETTO N°4	SINISTRA	2140	2240	<b>140</b>
	DESTRA	1500	1500	0
SOGGETTO N°5	SINISTRA	693	693	0
	DESTRA	480	480	0
☐	☐	☐	☐	☐

<b>SOGGETTI</b>	<b>GHIANDOLE MAMMARIE INGUINALI</b>	<b>VOLUME GHIANDOLARE PRE-OPERATORIO (mm<sup>3</sup>)</b>	<b>VOLUME GHIANDOLARE POST-OPERATORIO (mm<sup>3</sup>)</b>	<b>MODIFICAZIONE DEL VOLUME GHIANDOLARE ( mm<sup>3</sup>)</b>
SOGGETTO N°6	SINISTRA	18	24	6
	DESTRA	18	24	6
SOGGETTO N°7	SINISTRA	4	4	0
	DESTRA	4	4	0
SOGGETTO N°8	SINISTRA	12	12	0
	DESTRA	12	12	0
SOGGETTO N°9	SINISTRA	11	8	-3
	DESTRA	18	8	-10
SOGGETTO N°10	SINISTRA	12	12	0
	DESTRA	12	18	-6
■	■	■	■	■

<b>SOGGETTI</b>	<b>GHIANDOLE MAMMARIE INGUINALI</b>	<b>VOLUME GHIANDOLARE PRE-OPERATORIO (mm<sup>3</sup>)</b>	<b>VOLUME GHIANDOLARE POST-OPERATORIO (mm<sup>3</sup>)</b>	<b>MODIFICAZIONE DEL VOLUME GHIANDOLARE ( mm<sup>3</sup>)</b>
SOGGETTO N°11	SINISTRA	18	18	0
	DESTRA	18	18	0
SOGGETTO N°12	SINISTRA	4	4	0
	DESTRA	2	2	0
SOGGETTO N°13	SINISTRA	12	12	0
	DESTRA	16	16	0
SOGGETTO N°14	SINISTRA	180	180	0
	DESTRA	250	250	0
SOGGETTO N°15	SINISTRA	600	600	0
	DESTRA	600	600	0
☐	☐	☐	☐	☐

<b>SOGGETTI</b>	<b>GHIANDOLE MAMMARIE INGUINALI</b>	<b>VOLUME GHIANDOLARE PRE-OPERATORIO (mm<sup>3</sup>)</b>	<b>VOLUME GHIANDOLARE POST-OPERATORIO (mm<sup>3</sup>)</b>	<b>MODIFICAZIONE DEL VOLUME GHIANDOLARE ( mm<sup>3</sup>)</b>
SOGGETTO N°16	SINISTRA	168	168	0
	DESTRA	252	252	0
SOGGETTO N°17	SINISTRA	12	12	0
	DESTRA	12	12	0
SOGGETTO N°18	SINISTRA	120	135	15
	DESTRA	120	120	0
☐	☐	☐	☐	☐

## APPENDICE I

SOGGETTI	ETA'	RAZZA	CODICE IDENTIFICATIVO	GRAVIDANZE PRECEDENTI
SOGGETTO N°1	MESI 6	LABRADOR	968 - 00 - 00007 - 24395	NO
SOGGETTO N°2	MESI 19 ½	GOLDEN RETRIEVER	968 - 00 - 00007 - 25929	SI
SOGGETTO N° 3	MESI 14	GOLDEN RETRIEVER	968 - 00 - 00006 - 57065	NO
SOGGETTO N° 4	MESI 15	MASTINO NAPOLETANO	968 - 00 - 00007 - 51123	NO
SOGGETTO N° 5	MESI 14	PASTORE TEDESCO	968 - 00 - 00007 - 27417	NO
SOGGETTO N° 6	MESI 5	ENGLISH WHITE TERRIER	968 - 00 - 00006 - 58814	NO
SOGGETTO N° 7	MESI 5 ½	CHIHUAHUA	968 - 00 - 00006 - 53173	NO
SOGGETTO N° 8	MESI 13	CARLINO	968 - 00 - 00006 - 50803	NO
SOGGETTO N° 9	MESI 6 1/2	BASSOTTO TEDESCO	968 - 00 - 00007 - 30569	NO
☐	☐	☐	☐	☐



<b>SOGGETTI</b>	<b>ETA'</b>	<b>RAZZA</b>	<b>CODICE IDENTIFICATIVO</b>	<b>GRAVIDANZE PRECEDENTI</b>
SOGGETTO N°10	MESI 5 ½	YORKSHIRE TERRIER	968 - 00 - 00007 - 59979	NO
SOGGETTO N°11	MESI 5	BEAGLE	968 - 00 - 00007 - 26665	NO
SOGGETTO N° 12	MESI 6 ½	CHIHUAHUA	968 - 00 - 00007 - 34498	NO
SOGGETTO N° 13	MESI 5	YORKSHIRE TERRIER	968 - 00 - 00007 - 30284	NO
SOGGETTO N° 14	MESI 17	DALMATA	968 - 00 - 00007 - 53804	NO
SOGGETTO N° 15	MESI 18	PASTORE TEDESCO	968 - 00 - 00006 - 44725	NO
SOGGETTO N° 16	MESI 20	CHOW CHOW	968 - 00 - 00006 - 55633	SI
SOGGETTO N° 17	MESI 6	YORKSHIRE TERRIER	968 - 00 - 00006 - 51032	NO
SOGGETTO N° 18	MESI 13 ½	SETTER INGLESE	968 - 00 - 00007 - 47225	NO
☐	☐	☐	☐	☐

## APPENDICE II

### PARTE A

#### SCHEMA DI SEGNALAZIONE E DI DIAGNOSI

Data : \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Proprietario : \_\_\_\_\_  
Indirizzo: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
Tel : \_\_\_\_\_

Nome : \_\_\_\_\_ Razza : \_\_\_\_\_  
Età : \_\_\_\_\_ Sesso : \_\_\_\_\_  
Peso : \_\_\_\_\_  
Codice Identificativo : \_\_\_\_\_

#### Questionario

- Il suo cane ha manifestato il primo calore? \_\_\_\_\_
- Indicare periodo e durata dell'ultimo calore \_\_\_\_\_
- Indicare eventuali gravidanze \_\_\_\_\_
- Indicare eventuali pseudogavidanze \_\_\_\_\_

## QUADRO CLINICO Pre OPERATORIO

### Esame Generale

☐ Temperatura rettale : _____	Appetito : _____
☐ Comportamento :	AGGRESSIVO <input type="checkbox"/> AGITATO <input type="checkbox"/> NERVOSO <input type="checkbox"/> CALMO <input type="checkbox"/> APATICO <input type="checkbox"/> ABBATTUTO <input type="checkbox"/>
☐ Stato di nutrizione : _____	☐ Mucose apparenti : _____
☐ Polso : _____	☐ Linfonodi esplorabili : _____
☐ Funzioni organiche : _____	

### Esame Particolare

<b>☐ VULVA</b>	<b>☐ MAMMELLE</b>						
Ispezione : _____	Ispezione : _____						
Palpazione : _____	Palpazione : _____						
	Misurazione :						
	<table border="1"><tr><td colspan="2">VOLUME MAMMARIO PRE OPERATORIO</td></tr><tr><td><b>DX</b></td><td>cm<sup>3</sup></td></tr><tr><td><b>SIN</b></td><td>cm<sup>3</sup></td></tr></table>	VOLUME MAMMARIO PRE OPERATORIO		<b>DX</b>	cm <sup>3</sup>	<b>SIN</b>	cm <sup>3</sup>
VOLUME MAMMARIO PRE OPERATORIO							
<b>DX</b>	cm <sup>3</sup>						
<b>SIN</b>	cm <sup>3</sup>						

## PARTE B

### Questionario

- Indicare eventuali cambiamenti comportamentali e di temperamento  
\_\_\_\_\_
- Indicare l'adozione da parte della cagna di oggetti inanimati o di altri animali  
\_\_\_\_\_
- Altro  
\_\_\_\_\_

### QUADRO CLINICO Post OPERATORIO

Esame Particolare

<b>☐ VULVA</b>	<b>☐ MAMMELLE</b>	<b>SI</b>	<b>NO</b>
Ispezione : _____	Sviluppo mammario :	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Palpazione : _____	Galattorrea :	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>☐ FERITA OPERATORIA</b>	Misurazione :		
_____			
_____			
		<b>VOLUME MAMMARIO POST OPERATORIO</b>	
		<b>DX</b>	<b>cm<sup>3</sup></b>
		<b>SIN</b>	<b>cm<sup>3</sup></b>