

Come, quando e perché dosare gli ormoni sessuali

Maria Carmela Pisu, DipIECAR

Il ciclo delle femmine dei mammiferi è strettamente regolato dall'alternarsi di ormoni che determinano tutti gli eventi che portano all'ovulazione, all'instaurarsi e al mantenimento della gravidanza.

Gli ormoni sessuali permettono inoltre la produzione di spermatozoi e la loro corretta maturazione nelle gonadi maschili, la corretta libido, il trofismo delle ghiandole sessuali e la differenziazione dei caratteri sessuali secondari.

La corretta valutazione degli ormoni sessuali nella pratica clinica è utilizzata per valutare il momento di massima fertilità, il corretto funzionamento delle gonadi e conseguenti cause di infertilità o ipofertilità.

Gli ormoni sessuali che è utile dosare nel cane e nel gatto sono: Progesterone, Estradiolo, Testosterone, Ormone luteinizzante (LH) e Ormone anti-Mulleriano (AMH)

Progesterone

Il dosaggio del progesterone nella cagna è di grandissima utilità ed ha importanti indicazioni in momenti diversi della vita riproduttiva.

La misurazione del progesterone deve sempre essere effettuata su siero e sarebbe anche utile eseguire i prelievi sempre nella stessa fascia oraria, poiché è stato dimostrato un lieve aumento dei valori nelle ore pomeridiane.

L'utilizzo principale del dosaggio del progesterone è quello di monitorare il momento ovulatorio. Conoscere il giorno in cui la cagna ovula è fondamentale per la gestione delle monte e per inquadrare alcune patologie, conoscere la data del parto ed è importante per decidere il momento dell'ovariectomia elettiva.

Monitoraggio dell'ovulazione

Come in tutte le femmine, il periodo fertile propriamente detto (cioè quello in cui gli ovociti sono pronti per essere fecondati dagli spermatozoi) è limitato e dura circa 3 giorni, ma il periodo fecondo, cioè quello che può portare a gravidanza, è più ampio perché la cagna spesso accetta

l'accoppiamento già dai primi giorni di estro anche se l'ovulazione avviene molto più avanti e gli spermatozoi del cane hanno una capacità di sopravvivenza nelle vie genitali femminili di molti giorni.

E' però noto che più è aperta la forbice di tempo che va dalla monta al momento di fertilizzazione degli ovociti, meno numerosa è la cucciolata che si può ottenere, a causa del minor numero di spermatozoi ancora capaci di fecondare e del maggior numero di riassorbimenti embrionali, dovuti ad embrioni imperfetti a causa di una fecondazione di ovociti da parte di spermatozoi vecchi.

Per questo motivo, anche se la cagna avrà un accoppiamento naturale, è importante sapere qual è il momento ideale per la monta, e diventa quindi fondamentale conoscere i giorni più indicati se invece si deve procedere a inseminazione artificiale con seme refrigerato o congelato.

A differenza di tutte le altre specie, la cagna ovula dopo 48h dal picco dell'LH e poiché gli ovociti al momento dell'ovulazione sono ancora immaturi, la fecondazione potrà avvenire solo 48-72h dopo l'ovulazione stessa. Di queste particolarità fisiologiche va tenuto conto quando si programma una monta.

Poiché l'ovulazione avviene 48h dopo il picco dell'LH, il gold standard per l'individuazione sarebbe il dosaggio di questo ormone ma andrebbe ripetuto 2 volte al giorno per poterne individuare il picco.

La cagna ha però un'altra importante particolarità: pertanto le cellule della granulosa iniziano a luteinizzare e a produrre progesterone prima dell'ovulazione; al momento del picco dell'LH la progesteronemia è compresa tra 2,5-3 ng/ml e al momento dell'ovulazione è compresa tra 5-10 ng/ml.

Questa particolarità permette di utilizzare il dosaggio del progesterone al posto del dosaggio dell'LH e di effettuare i dosaggi a distanza di 48h e non di 12h (con notevole risparmio economico e soprattutto di stress per la fattrice).

Inoltre poiché dal picco dell'LH al momento in cui si dovrà effettuare la monta o l'inseminazione passano 4 giorni, dosando il progesterone non c'è l'assoluta necessità di ricevere i risultati in giornata avendo comunque tempo per pianificare tutte le procedure.

Corretta datazione del parto

Conoscendo il momento ovulatorio è possibile datare con certezza il momento del parto che avviene sempre 63 giorni+/-1 giorno dall'ovulazione.

Questo dato permette di fissare con tranquillità il taglio cesareo elettivo e soprattutto permette di intervenire immediatamente in caso di gravidanze protratte o di problemi in corso di gravidanza a termine.

Inquadramento di alcune patologie

Molte delle patologie ginecologiche possono iniziare solo sotto l'influsso di alcuni ormoni.

E' il caso, ad esempio, della piometra che inizia sempre in fase diestrale, quindi con progesteronemia alta. Nel momento in cui si sospetta una piometra il dosaggio del progesterone (o anche solo un colpocitologico) può confermare o escludere la possibilità di questa patologia, anche se la diagnosi solitamente si basa su altri rilievi clinici e di diagnostica per immagini.

Il dosaggio del progesterone risulta invece quasi indispensabile nel momento in cui ci si accinge a trattare a livello medico la piometra e son passati quasi 2 mesi dal calore.

In questo caso infatti, poiché l'aglepristone svolge la sua funzione antagonizzando il progesterone, è fondamentale sapere che la progesteronemia è ancora $>3\text{ng/ml}$; in caso contrario è necessario ricorrere alla chirurgia.

Conferma di residuo ovarico

Una delle metodiche per la conferma di residuo ovarico secernente è quella di stimolare il tessuto alla luteinizzazione con 250-500UI di HCG (gonadotropina corionica umana) per via SC, a seconda della taglia della paziente, e di dosare 8-10 giorni dopo il progesterone. Una progesteronemia $>2\text{ng/ml}$ conferma il residuo.

Estradiolo

E' l'ormone sessuale prodotto dalle cellule della granulosa del follicolo.

Va sempre dosato su siero.

Il suo dosaggio basale è poco utile nella cagna in cui l'estrogenemia superiore ai livelli basali induce cheratinizzazione delle cellule della mucosa vaginale, facilmente evidenziabile con la colpocitologia. Il dosaggio basale può invece essere utile nella gatta in cui non sempre è possibile ottenere dei buoni campioni per la colpocitologia.

Nella cagna il dosaggio dell'estradiolo diventa invece molto utile dopo stimolazione per confermare il sospetto di residuo ovarico.

La stimolazione con GnRH (ormone rilasciante le gonadotropine) - analogo (Buserelin, Receptal®) è infatti, insieme al dosaggio dell'AMH, il metodo ad oggi consigliato dalla letteratura per la ricerca di residuo.

Dopo aver fatto un prelievo al T0 per un dosaggio basale dell' estradiolo, si somministra GnRH (buserelin) a 0,12 µg/kg per EV, corrispondente a 0,03 ml/kg di peso corporeo (0.4 µg/kg nella gatta) di buserelin. Si esegue un secondo dosaggio a 120 minuti: valori di estradiolo superiori ai limiti basali indicano residuo (>12pg/ml o raddoppio del basale).

Sia la sensibilità che la specificità del test di stimolazione con buserelin si attestano al 100% con un valore cutoff di 11 pmol/L.

Nel cane maschio, il dosaggio dell'estradiolo può essere utile per confermare il sospetto clinico di neoplasia testicolare estrogeno-secerne. Dosaggi superiori a 15pg/ml sono già indicativi.

LH

L'LH è la gonadotropina ipofisaria che induce ovulazione e luteinizzazione delle cellule della granulosa nella femmina e produzione di testosterone nelle cellule del Leydig nel maschio.

Il test va effettuato su siero.

Il suo dosaggio è il gold standard in tutte le specie per l'individuazione del momento ovulatorio ma, come detto precedentemente, poiché il picco di questo ormone ha una durata molto limitata nel tempo andrebbero effettuati dosaggi ogni 12 ore. Nella cagna data la luteinizzazione preovulatoria e il conseguente aumento preovulatorio del progesterone, la sua misurazione per l'individuazione del momento ovulatorio ha quindi scarsa rilevanza clinica.

Il dosaggio dell'LH può essere utile per l'individuazione di presenza di gonadi.

Come in tutte le specie infatti in seguito a sterilizzazione viene a mancare il feedback ovarico sull'ipotalamo e ne consegue una costante secrezione di gonadotropine.

Questa costante produzione è rilevabile con un LH costantemente >1ng/ml in cagne e gatte ovariectomizzate. Per questo aspetto fisiologico il dosaggio dell'LH è stato proposto come test per l'individuazione di residui ovarici. Numerosi studi sono stati recentemente pubblicati sull'uso di questa metodica e tutti sono concordi nell'indicare il dosaggio dell'LH molto sensibile ma molto meno specifico dei test di stimolazione con GnRH e HCG (la sensibilità è di circa il 99% mentre la

specificità, a seconda della pubblicazione, varia dal 78% al 93% con una frequenza di falsi positivi di circa il 10-12%). Un altro problema è che sia nella cagna che nella gatta, si nota un marcato aumento dell'ormone nelle prime settimane post-sterilizzazione per poi ridiscendere a livelli basali per alcuni mesi e avere il definitivo innalzamento solo dopo 12-16 mesi dalla chirurgia. Questo andamento va considerato attentamente prima di interpretare i risultati.

Testosterone

Il dosaggio del testosterone è utile in tutti i casi di infertilità o ipofertilità dei cani maschi. È molto meno utile nel gatto maschio in cui l'evidenza clinica di corretta testosteronemia è data dalla presenza (o assenza nei soggetti orchiettomizzati correttamente) delle spicole peniene.

A causa dell'importante fluttuazione della testosteronemia nell'arco delle 24 ore, il solo test basale ha scarso valore e quindi non è consigliato. Si deve pertanto effettuare il dosaggio dopo stimolazione con 250-500 UI di HCG (variabile in base alla taglia) o 0,12 mg/kg di buserelin entrambi per via EV. Il prelievo post stimolazione va effettuato dopo 90 minuti. Un soggetto maschio intero normale ha una testosteronemia >1ng/ml.

Il dosaggio post stimolazione in casi di ipoprodotto e infertilità permette di stabilire se il problema è di pertinenza testicolare, ipotalamica o ipofisaria. L'autrice preferisce partire prima con la stimolazione mediante GnRH analogo, per motivi di praticità (possibilità di arrivare più velocemente ad una diagnosi).

Stimolando con buserelin (analogo sintetico del GnRH), se la testosteronemia post-stimolazione risulta >1 ng/ml significa che l'asse ipofisi-testicolo funziona correttamente. Nel caso in cui nonostante una normale concentrazione di testosterone post-buserelin, persistano segni di ridotta capacità di secernere testosterone (costante scarsa libido, testicoli sotto dimensionati, ecc) , va considerata la possibilità che sia l'ipotalamo incapace di secernere sufficienti quantità di GnRH. Se invece la testosteronemia post-buserelin risulta <1 ng/ml, il problema potrebbe essere di natura ipofisaria (mancata risposta e produzione di gonadotropine ipofisarie) o testicolare (mancata risposta alle gonadotropine ipofisarie da parte di un testicolo ipotrofico). Per dirimere questo dilemma, si deve procedere alla stimolazione con HCG (il test va rifatto dopo almeno 24 ore dal precedente): l'HCG ha infatti un effetto simil-LH: in presenza di tessuto testicolare normale stimolerà la produzione di una adeguata quantità di testosterone da parte delle cellule di Leydig. Se la testosteronemia post-HCG è superiore a 1 ng/ml significa che i testicoli sono correttamente

in grado di secernere l'ormone (quindi il problema è ipofisario); se la testosteronemia post-HCG rimane $<1\text{ng/ml}$ significa che il danno è testicolare.

Il dosaggio post stimolazione può essere utile anche nei rari casi in cui ci si debba verificare un'avvenuta castrazione e non si riescano ad evidenziare i testicoli ecograficamente.

AMH

L'ormone antimulleriano è prodotto dalle cellule della granulosa dell'ovaio e quindi è un eccellente marker di presenza delle gonadi nella femmina.

Per questo motivo negli ultimi anni è stato ampiamente studiato per valutare se potesse essere utilizzato come indicatore di residuo ovarico post sterilizzazione.

Numerosi studi hanno dimostrato che esiste una differenza statisticamente significativa tra soggette sterilizzate e cagne intere o con residuo ovarico, mentre sono praticamente sovrapponibili i valori tra questi ultimi due gruppi.

Anche nelle gatte il dosaggio dell'AMH ha il 100% di sensibilità e specificità nel determinare la presenza o l'assenza di tessuto ovarico.

Il dosaggio del AMH è quindi un test sicuro per l'individuazione delle gonadi o di residui ovarici; al momento la maggiore limitazione del test è soltanto il costo e il tempo per l'esecuzione dell'esame.

Anche nel maschio, nel quale l'AMH è prodotto a livello testicolare, l'ormone può essere utilizzato per la conferma di presenza di gonadi ma, mentre la specificità è sempre del 100%, la sensibilità sia attesta all'80%. La sensibilità del test può essere portata sino al 100% associando un dosaggio del testosterone sierico.

Bibliografia

- 1) Gary England e Angelika von Heimendahl Riproduzione e neonatologia del cane e del gatto 2 ed
- 2) Rohlertz M, Ström Holst B, Axné E. Comparison of the GnRH-stimulation test and a semiquantitative quick test for LH to diagnose presence of ovaries in the female domestic cat. Theriogenology. 2012 Dec;78(9):1901-6.
- 3) Löfstedt RM1, Vanleeuwen JA Evaluation of a commercially available luteinizing hormone test for its ability to distinguish between ovariectomized and sexually intact bitches. J Am Vet Med Assoc. 2002 May 1;220(9):1331-5.

- 4) de Souza MB, England GC, Mota Filho AC, Ackermann CL, Sousa CV, de Carvalho GG, Silva HV, Pinto JN, Linhares JC, Oba E, da Silva LD Semen quality, testicular B-mode and Doppler ultrasound, and serum testosterone concentrations in dogs with established infertility. *Theriogenology*. 2015 Sep 15;84(5):805-10
- 5) Themmen AP, Kalra B, Visser JA, Kumar A, Savjani G, de Gier J, Jaques S The use of anti-müllerian hormone as diagnostic for gonadectomy status in dogs. *Theriogenology*. 2016 Oct 1;86(6):1467-74.
- 6) Axné E, Ström Holst B Concentrations of anti-Müllerian hormone in the domestic cat. Relation with spay or neuter status and serum estradiol. *Theriogenology*. 2015 Mar 15;83(5):817-21.