

FUNZIONALITA' OVARICA DELLA CONIGLIA IN RISPOSTA AL TRATTAMENTO CON GnRH E NEL PRIMO PERIODO POST-PARTO.

Battaglini Marcella <sup>(1)</sup>, Boiti Cristiano <sup>(2)</sup>, Canali Claudio <sup>(2)</sup>,  
Costantini Francesco <sup>(1)</sup>

(1) Istituto di Zootechnica Generale, Facoltà di Agraria, Università degli Studi di Perugia.

(2) Istituto di Fisiologia Veterinaria, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Perugia.

#### Premessa

Analogamente a quanto si verifica per altre specie di interesse zootecnico, il problema della sincronizzazione degli estri è quanto mai sentito anche per il coniglio. Un appropriato programma di sincronizzazione degli estri, infatti, da un lato faciliterebbe la diffusione della tecnica della fecondazione strumentale, con ovvi vantaggi sotto il profilo del miglioramento genetico, dall'altro consentirebbe - a seguito della conseguente concentrazione delle nascite - la pianificazione delle varie operazioni di allevamento e di commercializzazione del prodotto, con evidenti profitti gestionali ed economici.

Tra i diversi ormoni che sono stati utilizzati per l'induzione della ovulazione nella coniglia (progesterone ed estradiolo, HCG, PMSG, ecc., somministrati singolarmente o in associazione tra loro, in diversi dosaggi) il GnRH ed analoghi di sintesi (1,7,8) si sono dimostrati particolarmente efficaci. Tuttavia sono state riscontrate notevoli variazioni nella fertilità in funzione del tipo e del dosaggio di gonadoliberina, del grado di maturità sessuale e della fase del ciclo estrale in cui si trovavano gli animali al momento del trattamento (2).

La presente ricerca è stata intrapresa allo scopo di verificare, sulla base dei profili dei due principali ormoni ovarici, progesterone e  $17\beta$ -estradiolo, la funzionalità ovarica sia dopo somministrazione di GnRH esogeno, sia nel primo periodo post-parto; ciò al fine di stabilire il momento fisiologico più opportuno per l'induzione della ovulazione.

#### Materiale e metodi

Sono stati condotti 3 esperimenti, ciascuno su coniglie di razza Bianca di Nuova Zelanda coetanee, alimentate con la stessa dieta ed accasate nel medesimo ricovero.

Nel primo esperimento sono state usate 3 coniglie a diversa fase del ciclo estrale: le femmine A e C presentavano vulva rossa (estro), la B vulva bianca (anaestro). Alle coniglie A e B sono stati inoculati per endovena 10  $\mu$ g di GnRH (Lutal, Hoechst), mentre la coniglia C è servita come

---

Ricerca effettuata con fondi erogati dal Ministero della Pubblica Istruzione (40%).

controllo. Sui 3 capi in prova, nel corso di 24h e ad intervalli più o meno ravvicinati, è stato prelevato, dalle vene marginali dell'orecchio, sangue eparinizzato per la determinazione del progesterone e del  $17\beta$ -estradiolo.

Nel secondo esperimento sono state utilizzate 10 coniglie, a 10 giorni dal parto, che sono state trattate con 10  $\mu$ g di GnRH, come nella prova precedente: i prelievi del sangue, per i dosaggi di cui sopra, sono stati fatti ad intervalli di 24h, per 8 giorni consecutivi. Alla inoculazione del GnRH non ha fatto seguito la fecondazione, per cui le variazioni dei tassi ormonali non erano influenzate da interferenze gravidiche.

Il terzo esperimento ha interessato anch'esso 10 coniglie, non trattate con GnRH nè fecondate, sulle quali sono stati effettuati prelievi quotidiani di sangue a partire dal 1° e fino al 10° giorno dopo il parto.

I dosaggi del progesterone e del  $17\beta$ -estradiolo sono stati eseguiti adottando metodiche radioimmunologiche (3,12).

### Discussione dei risultati

Esperimento 1 - Nelle coniglie A e B le concentrazioni del progesterone plasmatico (figura 1) si elevano significativamente già 30 min dopo il trattamento con 10  $\mu$ g di GnRH e continuano ad innalzarsi raggiungendo un picco di circa 10 ng/ml a 90-120 min dalla somministrazione dell'ormone; successivamente i livelli si mantengono elevati fino a 4 h per discendere bruscamente a 6 h, ritornando ai valori basali di 1,5-2 ng/ml dopo 8 h.

Nella coniglia C di controllo, invece, i tassi di progesterone durante le 24 h considerate permangono sui valori basali riscontrati prima del trattamento. L'andamento del progesterone è risultato praticamente sovrapponibile nelle 2 coniglie A e B trattate con GnRH anche se la colorazione della vulva, verificata al momento della inoculazione dell'ormone, poteva suggerire che la coniglia A fosse in estro (vulva rossa) e la coniglia B in anastro (vulva bianca).

E' verosimile che l'aumento di concentrazione del progesterone plasmatico, immediatamente dopo la somministrazione di GnRH, sia da imputare ad una parziale luteinizzazione di follicoli ovarici a diverso grado di maturazione, determinata dalla liberazione di LH ipofisario (4). Il picco di progesterone così indotto, anche se di breve durata per una probabile refrattorietà dei follicoli ad una ulteriore stimolazione (9), avrebbe però la capacità di sensibilizzare l'ipotalamo e/o l'ipofisi ad una secrezione gonadotropica più sostenuta, cui consegue una risposta ovarica ovulatoria. L'andamento del profilo plasmatico del progesterone, indotto dal trattamento con GnRH, risulterebbe identico a quello che si riscontra dopo un normale accoppiamento dell'animale in calore (5).

Esperimento 2 - Negli 8 giorni successivi al trattamento con GnRH i livelli del progesterone (figura 2) si elevano con andamento graduale e progressivo partendo da 3,1 ng/ml, 24 h dopo l'inoculo, per raggiungere punte massime di circa 10 ng/ml in 6<sup>a</sup> ed 8<sup>a</sup> giornata. E' d'altra parte noto che nei primi 6-8 giorni di pseudogavidanza il continuo incremento delle concentrazioni plasmatiche del progesterone risulta concomitante e proporzionale al numero e allo sviluppo dei corpi lutei (11). Nonostante l'ampia variabilità individuale riscontrata, maggiormente evidente nei primi giorni successivi al

trattamento, i singoli profili sono risultati molto simili tra loro in tutte e 10 le coniglie esaminate. Anche in questo caso la risposta del progesterone al GnRH esogeno è risultata indipendente dalla fase del ciclo estrale in cui si trovava l'animale al momento del trattamento.

Le concentrazioni del  $17\beta$ -estradiolo (figura 2 bis), negli 8 giorni successivi alla somministrazione di 10  $\mu$ g di GnRH, oscillano, con ampie variabilità individuali, intorno a valori medi di 30-50 pg/ml. Caratteristico, anche se non statisticamente significativo, è risultato tuttavia il decremento verificatosi in 2<sup>a</sup> e 3<sup>a</sup> giornata e l'incremento riscontrato tra la 4<sup>a</sup> e la 6<sup>a</sup> giornata post-trattamento. Questi dati sono in accordo con le più recenti ipotesi sul ruolo svolto dal  $17\beta$ -estradiolo nell'ovulazione e nello sviluppo dei corpi lutei. Nella coniglia, infatti, la luteinizzazione dei follicoli ovarici si verifica generalmente quando le concentrazioni di  $17\beta$ -estradiolo sono modeste. Dopo l'ovulazione i livelli di tale ormone si mantengono molto bassi durante i primi 3 giorni (6); a partire dal 5° giorno, tuttavia, la presenza di  $17\beta$ -estradiolo, secreto dai follicoli ovarici, risulta assolutamente indispensabile per un ulteriore sviluppo dei corpi lutei e per una continua sintesi di progesterone da parte di essi (10).

Esperimento 3 - I profili del progesterone e del  $17\beta$ -estradiolo nei primi 10 giorni post-parto (figure 3 e 3 bis) presentano un'ampia variabilità individuale che maschera le eventuali differenze tra giorni. Per quanto riguarda il progesterone è stato osservato che in alcuni soggetti i livelli di tale ormone si attestano sui valori basali, pari a circa 1-2 ng/ml, già 24 h dopo il parto, valori che permangono tali per tutti i 10 giorni successivi; in altri animali, invece, le concentrazioni del progesterone decrescono gradualmente partendo da tassi di 5-8 ng/ml per raggiungere i valori basali tra il 4° e il 6° giorno post-parto. L'andamento del  $17\beta$ -estradiolo, invece, risulta estremamente variabile, con concentrazioni che oscillano mediamente tra 40 e 75 pg/ml. Anche in questo caso i livelli del progesterone meglio riflettono la funzionalità ovarica della coniglia.

#### Conclusioni

Sulla base dei risultati conseguiti è possibile concludere che il profilo del progesterone plasmatico rispecchia la funzionalità ovarica assai meglio di quello del  $17\beta$ -estradiolo. Quest'ultimo, infatti, manifesta notevoli oscillazioni senza presentare un andamento generale che rifletta una particolare situazione.

Tenendo conto dei livelli plasmatici di progesterone si può affermare che la somministrazione per endovena di 10  $\mu$ g di GnRH determina un immediato incremento nella concentrazione di tale ormone, la cui durata è piuttosto breve (4 h) ma sufficiente per stimolare una risposta ovarica ovulatoria, che comincia a manifestarsi a partire dalla 6<sup>a</sup> h post-trattamento. Nei giorni successivi alla inoculazione di GnRH il tasso di progesterone riprende la sua ascesa, come logica conseguenza della formazione dei corpi lutei pseudo gravididici. Nei primi 10 giorni post-parto le concentrazioni di progesterone sono tipiche di ciascuna coniglia tanto che è impossibile generalizzare, anche se si nota una tendenza dei valori medi a diminuire nei primi 5 giorni per poi aumentare fino alla fine del periodo di osservazione.

Indice bibliografico

- 1) AMOSS M., BLACKWELL R. and GUILLEMIN R. (1972) - "J. Clin. Endocrin. Metab." 35, 434.
- 2) BATTAGLINI M., COSTANTINI F., BALDISSERA NORDIO C. e RUFFINI CASTROVILLI C. (1982) - "Coniglicoltura", 12, 45.
- 3) BOITI C., CECCARELLI P., BEGHELLI V., DANIOTTI P. e PENNISI F. (1984) - "Atti Sisvet", 28, 366.
- 4) DUFY-BARBE L., DUFY B., VINCENT J.D. et BENSCH CL. (1976) - "1<sup>er</sup> Cong. Int. Cunic. Dijon", Comunicaz. n. 66.
- 5) CHALLIS J. R. G., DAVIES J. I. and RYAN K. J. (1973) - "Endocrinology", 93, 971.
- 6) HILLIARD J. and EATON L.W.M. (1971) - "Endocrinology", 89, 522.
- 7) HUMPHREY R.R., DERMODY W.C., BRINK H.O., BOUSLEY F.G., SCHOTTIN N. H., SAKOWSKI R., VAITKUS J. W., VELOSO H.T. and REEL J.R. (1973) - "Endocrinology", 92, 1515.
- 8) KANEMATSU S., SCARAMUZZI R.J., HILLIARD J. and SAWYER C.H. (1974) - "Endocrinology", 95, 247.
- 9) LEMAIRE and MARSH (1975), citato da CHUNG et al., "Biology of reproduction", 1977, 17, 304.
- 10) MILLER J.B. and LANDIS KEYES P. (1975) - "Endocrinology", 97, 83.
- 11) MILLS T.M. and OSTEN K.G. (1977) - "Endocrinology", 101, 1744.
- 12) SIMONTACCHI C. e BOITI C. (1977) - "Atti Sisvet", 31, 416.

Riassunto

Sono stati eseguiti 3 esperimenti, per dosare le concentrazioni plasmatiche del progesterone e del 17 $\beta$ -estradiolo, su coniglie trattate o meno con 10  $\mu$ g di GnRH (Lutal, Hoechst). Nei primi 2 esperimenti sono state valutate le variazioni del tasso dei 2 citati ormoni nel corso delle 24 h successive alla inoculazione del GnRH e durante i seguenti 8 giorni. Nel 3° esperimento i dosaggi sono stati effettuati nei 10 giorni post-parto, ma le coniglie non avevano subito trattamenti ormonali nè erano state fecondate.

Dalle prove condotte è emerso che le concentrazioni del progesterone plasmatico si elevano già 30 min dopo il trattamento con 10  $\mu$ g di GnRH e continuano ad innalzarsi fino a raggiungere un picco di circa 10 ng/ml a 90-120 min; successivamente i livelli si mantengono elevati fino a 4 h per discendere bruscamente a 6 h, ritornando ai valori basali dopo 8 h. Negli 8 giorni successivi alla inoculazione i livelli di progesterone aumentano con andamento graduale e progressivo, passando da 3,1 ng/ml a circa 10 ng/ml tra la 6<sup>a</sup> e l'8<sup>a</sup> giornata. Nei 10 giorni post-parto, se le coniglie non sono trattate nè fecondate, le concentrazioni di progesterone presentano notevoli variazioni individuali, senza seguire un andamento ben definito.

Le concentrazioni del 17 $\beta$ -estradiolo manifestano fluttuazioni pulsatili

ad intervalli di 30-60 min nelle prime 3 h dalla inoculazione di GnRH, con amplitudini fino a 100 pg/ml. Negli 8 giorni seguenti, i livelli di estrogeno oscillano, con ampie variabilità individuali, intorno a valori di 30-50 pg/ml, con un decremento in 2<sup>e</sup> e 3<sup>a</sup> giornata. Nei 10 giorni post-parto le variazioni individuali sono ancora più notevoli e mascherano le eventuali differenze tra giorni.

OVARIAN FUNCTION OF RABBIT IN RESPONSE TO EXOGENOUS GnRH ADMINISTRATION AND IN THE EARLY POST-PARTUM PERIOD.

Summary

Peripheral plasma concentrations of progesterone and 17 $\beta$ -estradiol were determined in rabbits in order to evaluate the ovarian function in response to the i.v. administration of 10 ug of GnRH and in the early post-partum period.

In two experiments plasma variations of progesterone and 17 $\beta$ -estradiol were assayed in samples obtained at frequent intervals for the first 24 hours and then at daily intervals for the following 8 days after GnRH administration. Plasma progesterone levels rose from basal values within 30 minutes after GnRH treatment and then steadily increased to about 10 ng/ml between 90 and 120 minutes. In the following 4 hours progesterone levels were constantly elevated then abruptly decreased to basal values after 6 hours. In the 8 days following GnRH treatment plasma progesterone levels rose from 3.1 ng/ml to values of about 10 ng/ml between the 6<sup>th</sup> and the 8<sup>th</sup> day. Peripheral plasma levels of 17 $\beta$ -estradiol showed a pulsatile pattern at 30 to 60 minutes intervals within the first 3 hours post-treatment and with amplitudes of about 100 pg/ml. In the following 8 days plasma 17 $\beta$ -estradiol levels averaged 30 to 50 pg/ml with high individual variability.

In the post-partum, plasma progesterone levels of untreated rabbits showed high variability between subjects with values persistently low in some animals (1-2 ng/ml) and gradually decreasing values in other animals from about 8 ng/ml of the first day post-partum to basal levels found 4 to 6 days later. Also 17 $\beta$ -estradiol concentrations ranged 30-60 pg/ml with high day to day and animal to animal variability.

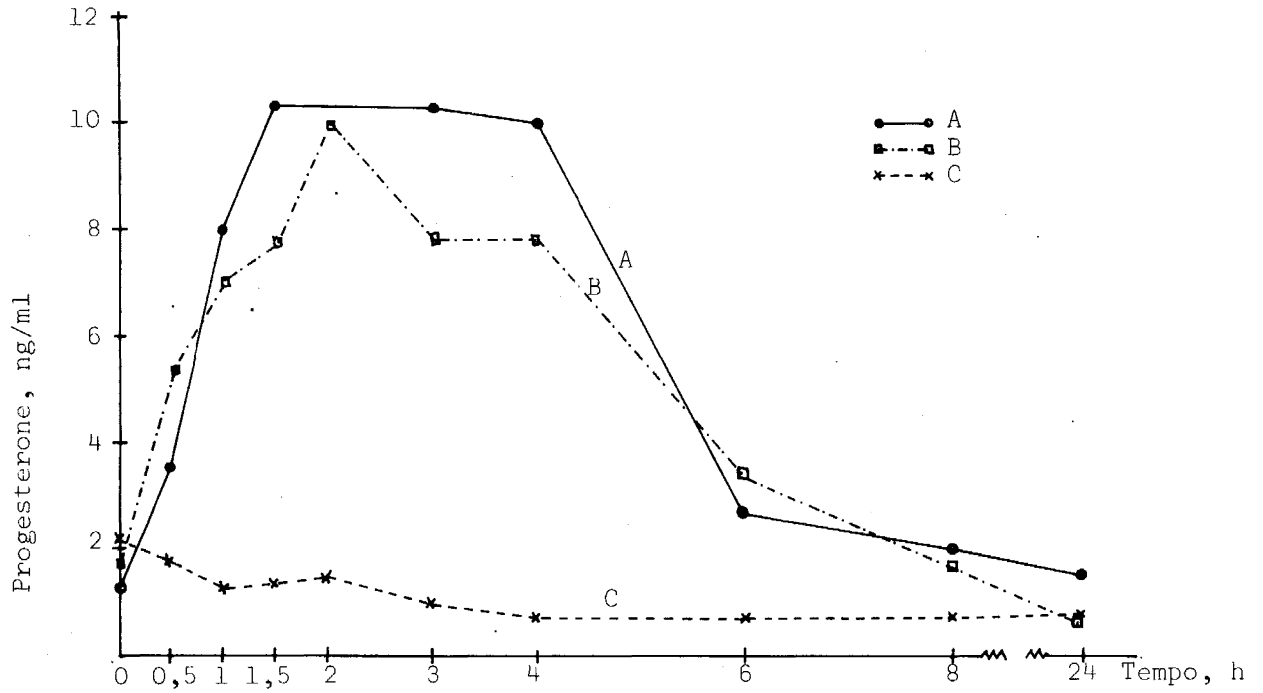


Figura 1 - Variazioni del tasso di progesterone plasmatico durante 24h, in coniglie trattate (A e B) o non (C) con 10 µg di GnRH.

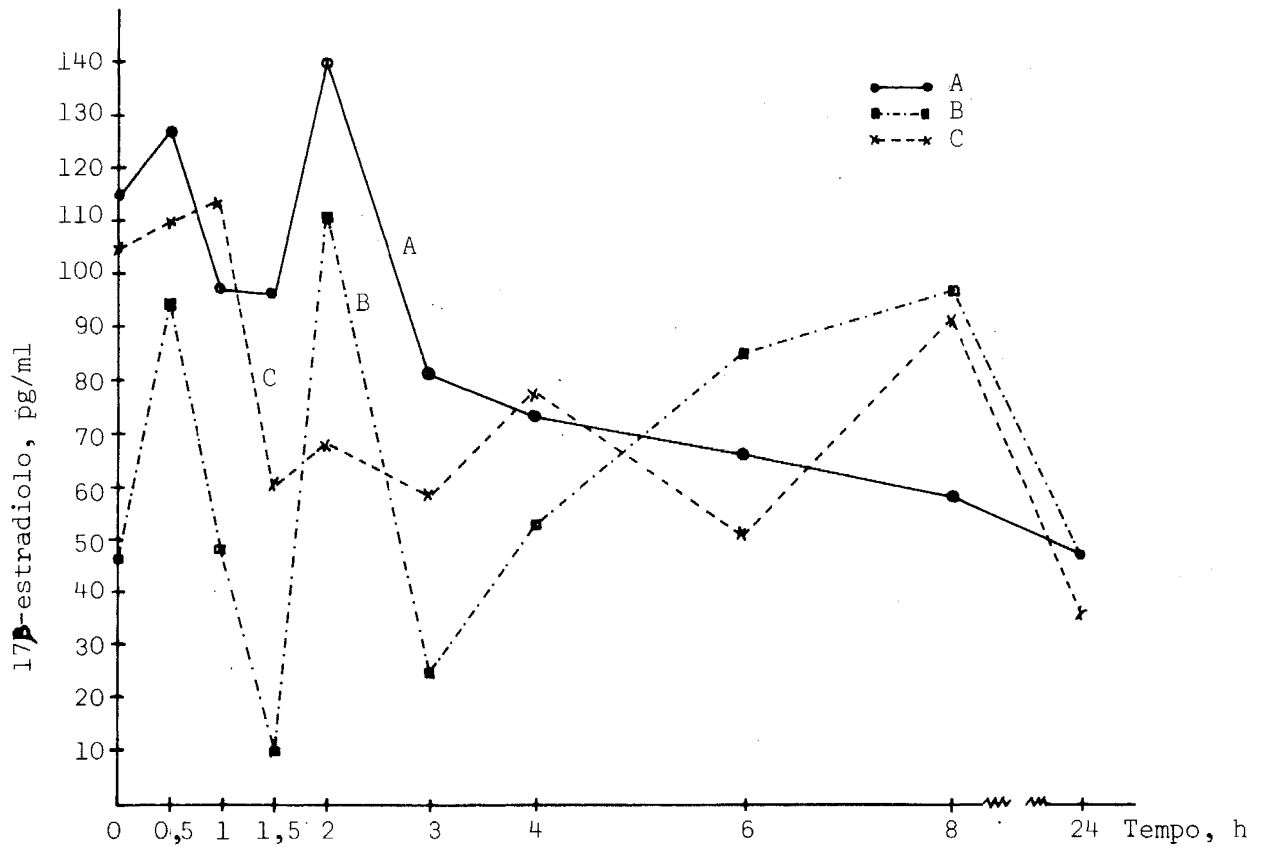


Figura 1 bis - Variazioni del tasso di 17β-estradiolo plasmatico durante 24h, in coniglie trattate (A e B) o non (C) con 10 µg di GnRH.

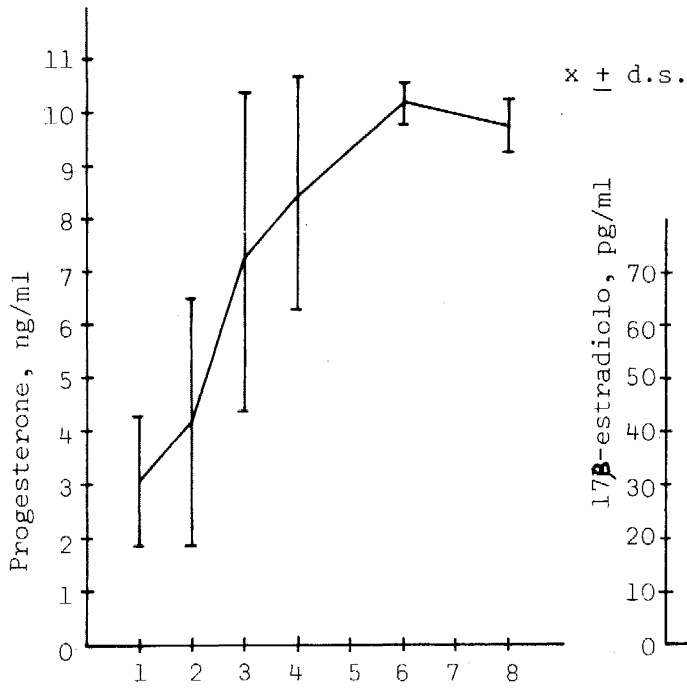


Figura 2 - Variazioni del tasso di progesterone negli 8 giorni successivi al trattamento con 10 µg di GnRH.

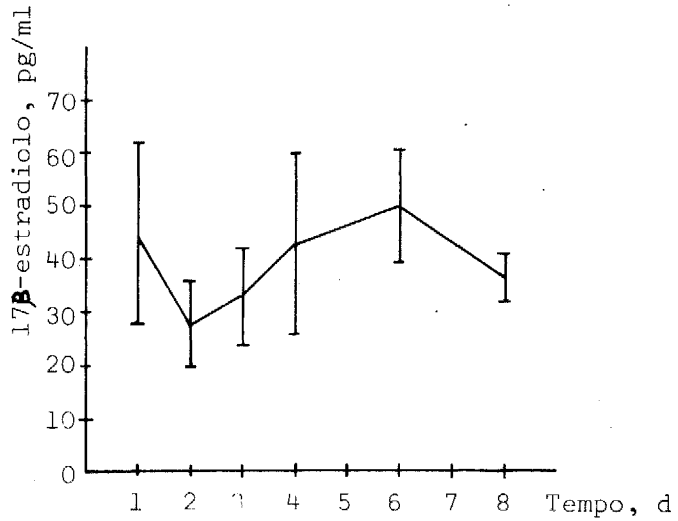


Figura 2bis - Variazioni del tasso di 17β-estradiolo negli 8 giorni successivi al trattamento con 10 µg di GnRH.

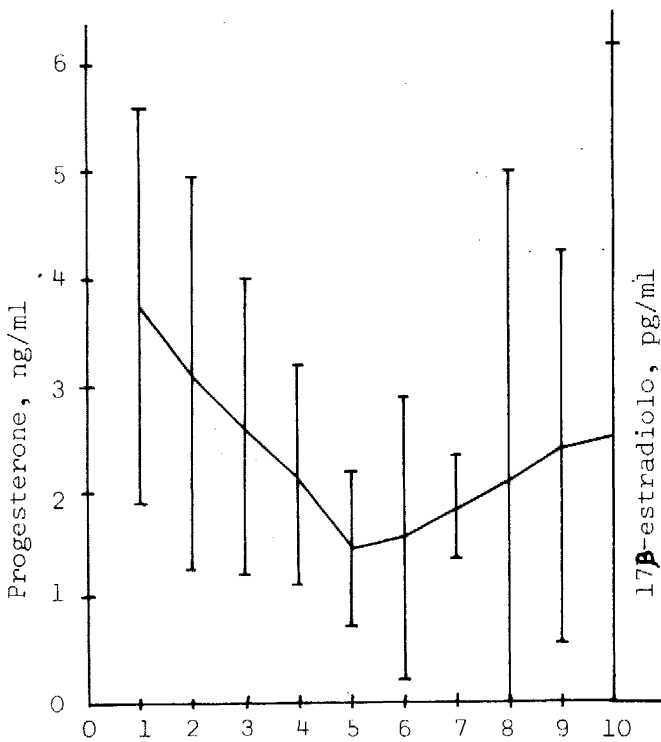


Figura 3 - Variazioni del tasso di progesterone nei 10 giorni successivi al parto.

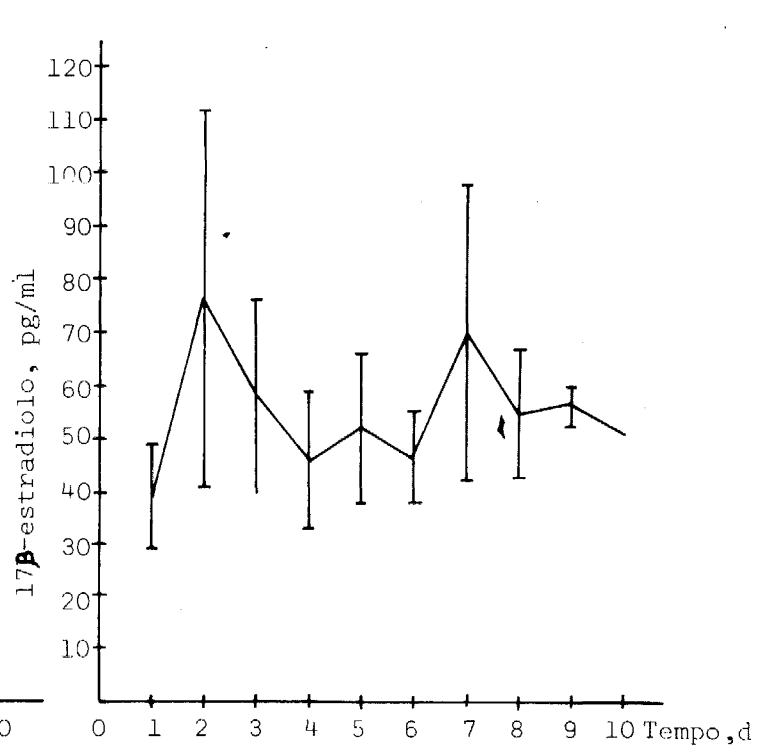


Figura 3bis - Variazioni del tasso di 17β-estradiolo nei 10 giorni successivi al parto.