

## La hormona anti-Mülleriana en gatas

*Hormônio anti-Mülleriano em gatas*

*The anti-Müllerian hormone in queens*

Camila Lapuente<sup>1</sup>, Augusto Lantermino<sup>1</sup>, Marcela Faya<sup>2</sup>, Paula Blanco<sup>1</sup>, Cristina Gobello<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Fisiología Reproductiva y Métodos Complementarios de Diagnóstico. CONICET<sup>2</sup>  
Universidad Católica de Córdoba. CONICET

### Abstract

La hormona anti-Mülleriana (HAM) es una glicoproteína, miembro de la superfamilia del factor de crecimiento transformante  $\beta$ . En la mujer, la HAM se expresa en los folículos preantrales y antrales pequeños. HAM permanece casi indetectable al nacimiento con un pequeño incremento en los primeros años de vida, hasta previo a la pubertad, donde aumenta. En la hembra, la HAM es un marcador de reserva ovárica de utilidad para evaluar protocolos de estimulación ovárica y contraceptivos. Existe escasa información en lo que concierne a las concentraciones séricas de HAM, en las distintas etapas de la vida reproductiva, el ciclo estral y la reserva folicular en la especie felina. Los objetivos de este estudio fueron: a) Reportar las concentraciones séricas de HAM en gata neonatal, pre y postpuberal. b) Establecer la relación entre la HAM con edad y las fases del ciclo estral. c) Correlacionar el número de diferentes tipos foliculares con las concentraciones séricas de HAM en gatas adultas. Se recolectó una muestra de sangre de 5 gatas neonatas (1-2 m), 15 prepúberes (3-6 m) y 48 postpúberes (>7 m). Los sueros fueron almacenados a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis por electroquimioluminiscencia (Elecysys<sup>®</sup>, Cobas, Roche Diagnostics International Ltd., Switzerland). Ocho, 10 y 16 de las gatas postpúberes fueron clasificadas en fase folicular (FF), fase lútea (FL) y anestro (AN). Se calculó histológicamente el número total de cada tipo folicular con la fórmula de Geougeon y Chainy (1987) en 10 gatas adultas. Los datos se analizaron estadísticamente. La media $\pm$ SEM de todas las gatas fue  $6.31\pm 0.54\text{ng/ml}$  ( $n=68$ ). Las concentraciones séricas de HAM difirieron entre los estados reproductivos, siendo más elevadas en gatas prepúberes ( $11.79\pm 1.36$ ) que neonatas ( $2.56\pm 0.49$ ) y postpúberes ( $4.87\pm 0.38$ ;  $P<0.01$ ). Las gatas menores a 12 meses presentaron niveles de HAM más elevados ( $10.41\pm 1.16$ ) que las mayores a esta edad ( $4.61\pm 0.49$ ;  $P<0.01$ ). La correlación entre edad y HAM fue  $r=-0.5$  ( $P<0.01$ ). En postpúberes, se obtuvieron diferencias entre estadios del ciclo estral, observando gatas con concentraciones más bajas de HAM en FF ( $2.51\pm 0.33$ ) que en AN ( $5.46\pm 0.76$ ;  $P<0.05$ ). No se encontraron diferencias significativas en la funcionalidad entre ambos ovarios. Se observó una fuerte asociación entre los folículos antrales pequeños y la HAM ( $r=0.85$ ;  $P<0.01$ ). La media de HAM en estas gatas fue similar a la reportada previamente, utilizando el mismo inmunoensayo. A nuestro conocimiento, este es el primer reporte realizado en gatas prepúberes jóvenes. Se observaron diferencias en estadios del ciclo estral al igual que en otras especies. La HAM podría actuar como un marcador endócrino confiable para evaluar tamaño y calidad de reserva folicular en gatas.

## Morfometría endometrial en gatas tratadas con la vacuna anti-GnRH como método contraceptivo. Resultados preliminares

*Morfometria endometrial em gatas tratadas com a vacina anti-GnRH como método contraceptivo.*

*Resultados preliminares*

*Endometrial morphometry in queens treated with the anti-GnRH vaccine as a contraceptive method. Preliminary results*

**Washinton Fernando Carrasco Sangache<sup>1</sup>, María Carla García Mitacek<sup>2</sup>, María Cecilia Stornelli<sup>1</sup>, Florencia Lilian Coralli<sup>1</sup>, Rodolfo Luzbel de la Sota<sup>2</sup>, Maria Alejandra Stornelli<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata.<sup>2</sup> Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. CONICET.<sup>3</sup> La Plata.

### **Abstract**

*El objetivo fue realizar un estudio morfométrico del endometrio en gatas tratadas con una vacuna anti-GnRH como método contraceptivo. Se utilizaron gatas (*Felis catus*, n=9), de entre 1-5 años y 2,5-4 kg. Las gatas fueron sometidas a un régimen de luz artificial de 14h-luz-diaria, a fin de obtener la ciclicidad. El experimento contó con la aprobación del CICUAL de la FCV UNLP (101-9-19T). Las gatas se dividieron en 2 grupos: grupo I placebo (PLA, n=3) al cual se le administró por vía sc en la parrilla costal izquierda 0,5 mL de solución salina el día 1 (D1) y el día 30 (D30). Al grupo II tratado (TRT, n=6) se le administró por la misma vía y en la misma ubicación 0,5 mL de la vacuna Improvac<sup>®</sup> (Zoetis) el D1 y el D30. Se realizó el seguimiento conductual y clínico de las gatas a lo largo del experimento. Las gatas PLA fueron ovariectomizadas a los 4 meses del D30. Mientras que las hembras TRT se dividieron en tres grupos, y sometidas a ovariectomía entre 4 - 11 meses luego del D30. Se obtuvo una biopsia de cada cuerno uterino para el estudio histopatológico mediante punch de 0,4 cm de diámetro. Las muestras fueron colocadas en tubos con solución formolada tamponada al 10% hasta su procesamiento histológico, se tiñeron con H&E y se examinaron con microscopio a 100X y 400X. En las biopsias se midió el grosor del endometrio (GE,  $\mu\text{m}$ ), la altura de las células glandulares (ACG,  $\mu\text{m}$ ), el diámetro glandular interno (DGI,  $\mu\text{m}$ ) y el diámetro glandular externo (DGE,  $\mu\text{m}$ ) mediante el software Image J. En cada muestra, se realizaron 10 mediciones del GE con aumentos de 40X. Además, con aumentos de 600X, se registró ACG, DGI y DGE de 10 glándulas por campo en 5 campos seleccionados al azar. Los datos fueron analizados mediante Glimmix de SAS<sup>®</sup>. Todas las gatas del grupo PLA presentaron un endometrio normal (EN, ausencia de células inflamatorias o la presencia de menos de tres neutrófilos por campo en el epitelio endometrial a 40X). En las gatas del grupo TRT se pudo observar 1 gata con EN y 5 gatas con endometrio anormal (EA, atrofia del epitelio glandular y de la lámina propia, junto con reemplazo del tejido conectivo). Se obtuvieron diferencias significativas en el GE entre las gatas del grupo PLA y TRT ( $386,940 \pm 0,006$  Vs  $576,490 \pm 0,003$ ,  $P=0,24$ ). Estos resultados preliminares evidencian que la aplicación de dos dosis de la vacuna anti-GnRH ocasiona alteraciones en la morfología y morfometría endometrial. Continuar con esta línea de investigación, incluyendo un mayor número de gatas así como estudiándolas por más tiempo nos permitirá evaluar el efecto de estas alteraciones a largo plazo.*

## **Reacción inflamatoria inmediata causada por la administración intratesticular de cloruro de calcio al 20 % asociado con DMSO 0,5 % en gatos**

*Reação inflamatória imediata causada pela administração intratesticular de cloreto de cálcio 20% associado ao DMSO 0,5% em gatos*

*Immediate inflammatory reaction caused by intratesticular administration of 20% calcium chloride associated with DMSO 0.5% in cats*

**Josiana F. Schnitzer<sup>1</sup>, Myrian M.T. Hidalgo<sup>1</sup>, Ana Beatriz M. Almeida<sup>1</sup>, Leticia A.S. Silva<sup>1</sup>, Júlia R. Greghi<sup>1</sup>, Natalia R. Silva<sup>1</sup>, Vinícius W. Silva<sup>1</sup>, Luiz Guilherme C. Trautwein<sup>1</sup>, Ana Paula F.R.L. Bracarense<sup>2</sup>, Maria Isabel M. Martins<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratory of Andrology and Assisted Animal Reproduction - LARAA - State University at Londrina, Londrina, PR.2 - Department of Preventive Veterinary Medicine - State University at Londrina, Londrina, PR

### **Abstract**

*Domestic cat overpopulation is a public health concern and alternative methods to surgical castration have been studied. The application of intratesticular sclerosing agents is an effective and low-invasive sterilization method, which promotes low-cost sterility and maintains animal welfare. Sterilization occurs due to the inflammatory reaction produced in the testicular tissue by the intratesticular sclerosing agent. The use of dimethylsulfoxide (DMSO) as an anti-inflammatory agent aims to reduce pain, edema and weeping after proceeding. Thus, the aim of this study was to verify the immediate inflammatory reaction in both cats' testicles submitted to intratesticular application of 20% calcium chloride associated with 0.5% dimethylsulfoxide (20% CaCl<sub>2</sub> + DMSO 0.5%), by infrared thermography, ultrasound, biometry and testicular histology. Ten mongrel male cats, healthy, semi-domiciliated, with a mean age of 1.3 ± 0.42 years and weight of 3.88 ± 0.79 kg were used. This study was divided into four stages: T0= thermographic, ultrasound and testicular biometry evaluation prior to chemical castration, carried out with the animals anesthetized with ketamine (5mg/Kg) associated with dexmedetomidine (20µg/Kg); T1: testicular biometry evaluation, immediately after the sclerosing agent intratesticular application (0.25 mL of 20% CaCl<sub>2</sub> + 0.5% DMSO in each testicle), after the evaluation, anesthetic reversal with atipamezole (40 µg/Kg) was performed; T2: evaluation of testicular consistency and thermographic image performed two hours after the application, with the animals recovered from anesthesia; T4: thermographic evaluation, ultrasound and testicular biometry four hours after the application, with the animals again anesthetized with ketamine (12 mg/kg) associated with dexmedetomidine (10 µg/kg) and morphine (0.2 mg/kg). Immediately after, cats were orchietomized and the testicles were fixed in formaldehyde 10% for later histological evaluation. There was a decrease of approximately 2 degrees Celsius in testicular temperature at T2 (P<0.05) by thermographic evaluation and the cats showed no painful sensitivity to testicular palpation. In ultrasound evaluation, after chemical castration, there was an increase in the right testicular volume at T1 (P<0.05). Right testicles had no change in echogenicity, while 90% of left testicles had heterogeneous echotexture at T4. In testicular histology, degeneration, necrosis of the seminiferous tubule epithelium and focal hemorrhage were identified, with a predominance of the degenerative process after four hours of chemical castration. Based on the results, it can be concluded that chemical castration with 20% calcium chloride associated with 0.5% DMSO induced immediate changes in the testicular parenchyma as seminiferous epithelium degeneration, but the association of DMSO reduced immediate inflammatory reaction, which contributed to the cats' welfare.*

## Efecto hormonal y gonadal de un antagonista de GnRH postnatal en felinos machos y hembras

*Efeito hormonal e gonadal de um antagonista de GnRH pós-natal em felinos machos e fêmeas*  
*Hormonal and gonadal effect of a postnatal GnRH antagonist in male and female felines*

M. Grisolia-Romero<sup>1</sup>, M. Faya<sup>2</sup>, C. Marchetti<sup>1</sup>, M. Priotto<sup>3</sup>, C. Gobello<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Nacional de La Plata- Conicet. <sup>2</sup>Universidad Católica de Córdoba- Conicet. <sup>3</sup>Universidad Católica de Córdoba.

### Abstract

El gato doméstico es extremadamente prolífico y su sobrepoblación es un grave problema a nivel mundial. En los mamíferos, el periodo posnatal, es una ventana de tiempo crítica de vulnerabilidad reproductiva. La utilización de análogos de GnRH, durante este periodo produjo cambios deletéreos en las gónadas de mamíferos. El objetivo de este trabajo fue describir los efectos endocrinos e histológicos de dos dosis postnatales del antagonista de GnRH, acyline, en felinos domésticos. Para esto se incorporaron 9 hembras y 10 machos recién nacidos y hermanos de camada, que fueron asignados aleatoriamente a uno de los siguientes tratamientos, acyline 2.2 mg/100g subcutáneo, semanalmente durante 2 semanas (ACY; hembras n=5; machos n=6) o placebo solución fisiológica subcutánea (PL; hembras n=4; machos n=4). Todos los gatos fueron seguidos hormonalmente hasta la pubertad y luego esterilizados. La pubertad se definió en machos como la presencia de espículas peneanas y la separación balano-prepucial completa y en hembras como el hallazgo de más del 80% de células superficiales queratinizadas en las citologías vaginales. Durante las semanas 1, 2, 3, 4, 7 y 10 se recolectaron muestras de materia fecal, y se realizó la extracción para la determinación de testosterona (T) y estradiol (E2) con un inmunoensayo de electroquimioluminiscencia (Elecsys Testo II y Estradiol II, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). Luego de ser escindidas, ambas gónadas se pesaron, midieron, fijaron y seccionaron para teñir (H&E). En los testículos se definió el diámetro tubular ( $\mu\text{m}$ ), la altura del epitelio tubular ( $\mu\text{m}$ ), así como también el número de cada componente celular de la hilera germinal (espermatogonia, espermatozoides primario, espermatozoides secundario, espermátide redonda, espermátide elongada y espermatozoide) y células de Sertoli. Además, se determinó el número de células de Leydig, y el área nuclear de las mismas ( $\mu\text{m}^2$ ). En los ovarios, se determinó el número total (Nt) de folículos primordiales, primarios, secundarios, antrales y atrésicos según Gougeon y Chainy (1987)  $Nt = No * St * ts / So * do$ , donde No = número de folículos observados; St = número total de secciones; ts = ancho de las secciones ( $\mu\text{m}$ ); So = secciones observadas y do = diámetro medio del núcleo de tipo folicular. Los resultados no arrojaron diferencias en la edad a la pubertad entre los grupos ACY y PL en machos (236,5 $\pm$ 19,7 vs. 221,7 $\pm$ 23,7 días; respectivamente  $P > 0,05$ ) ni en hembras (217,60 $\pm$ 8,96 vs. 187,25 $\pm$ 32,00 días; respectivamente,  $P > 0,05$ ). Acyline, suprimió las concentraciones de T fecal durante las primeras 3 semanas postnatales ( $P < 0,01$ ) y mostró una tendencia a disminuir las concentraciones de E2 fecal durante 2 semanas postnatales ( $P < 0,05$ ). Desde 3era y 2da semanas, macho y hembras respectivamente presentaron concentraciones basales hasta finalizado el periodo de seguimiento ( $P > 0,05$ ). Los parámetros macroscópicos ováricos y testiculares no mostraron diferencias entre los grupos ( $P > 0,05$ ). El examen histológico testicular demostró que los gatos del grupo ACY presentaron una disminución en la altura del epitelio seminal ( $P < 0,01$ ) acompañado por mayor área luminal ( $P < 0,01$ ) con una mayor presencia de detritus ( $P < 0,01$ ). La evaluación histológica ovárica arrojó que el número de folículos preantrales no fue diferente entre los grupos (202.446 $\pm$ 62415 vs. 186.683 $\pm$ 57334;  $P > 0,05$ ), mientras que la población antral disminuyó en el grupo ACY (47  $\pm$  16 vs. 141  $\pm$  15;  $P < 0,05$ ). Ninguno gato presentó efectos secundarios clínicos ( $P > 0,1$ ) excepto uno que presentó criptorquidismo inguinal unilateral. Se concluye que la administración postnatal de acyline suprimió las concentraciones iniciales de T acompañado por una baja presentación de criptorquidismo unilateral a la pubertad en machos. Por su parte, acyline mostró que la concentración de E2 fecal de las gatas ACY fueron menor que las gatas PL, aunque no significativa, además de un menor número de folículos antrales en hembras ACY. El efecto a largo plazo sobre fertilidad de este tratamiento podría ser adverso y justifica la continuación de su estudio.