

# INDICE

<b>- INTRODUZIONE</b>	<b>5</b>
<b>- PRIMA PARTE: FISIOLOGIA RIPRODUTTIVA DELLA GATTA</b>	
<b>1. RIPRODUZIONE E FECONDAZIONE</b>	<b>9</b>
1.1 APPARATO GENITALE FEMMINILE	9
1.2 PUBERTA' E STAGIONE RIPRODUTTIVA	11
1.3 CICLO ESTRALE E CITOLOGIA VAGINALE	13
1.4 RIPRODUZIONE ED ACCOPPIAMENTO	17
1.5 OVULAZIONE: RILASCIO DI LH INDOTTO DAL COITO	19
1.6 CONCEPIMENTO	20
<b>2. GESTAZIONE</b>	<b>21</b>
2.1 FASI PRECOCI DELLA GRAVIDANZA ED ORMONI COINVOLTI	21
2.2 IMPIANTO E PLACENTAZIONE	25
2.3 SVILUPPO EMBRIONALE E FETALE	28
<b>3. PARTO</b>	<b>37</b>
3.1 FASI DEL PARTO	37
<b>- SECONDA PARTE: DETERMINAZIONE DELLA GRAVIDANZA E VALUTAZIONE DELL'ETA' GESTAZIONALE</b>	
<b>4. VALUTAZIONE ECOGRAFICA</b>	<b>41</b>
4.1 TECNICA ECOGRAFICA	41
4.2 ESAME DELL'APPARATO RIPRODUTTORE	43
4.3 DIAGNOSI DI GRAVIDANZA	48
4.4 VARIAZIONI ECOGRAFICHE NELLE DIVERSE FASI DELLA GRAVIDANZA	51
4.5 MISURE FETOMETRICHE E LORO UTILIZZO PER STIMARE L'ETA' GESTAZIONALE	59
4.5.1 TECNICA DI MISURAZIONE ECOGRAFICA	68
4.6 POSSIBILI APPLICAZIONI FUTURE DELL'ESAME ECOGRAFICO	71
<b>5. VALUTAZIONE RADIOLOGICA</b>	<b>73</b>
5.1 TECNICA RADIOLOGICA	73
5.2 ESAME DELL'APPARATO RIPRODUTTORE	76
5.3 DIAGNOSI DI GRAVIDANZA	80
5.4 VARIAZIONI RADIOLOGICHE NELLE DIVERSE FASI DELLA GRAVIDANZA	83
5.5 MISURE FETOMETRICHE E LORO UTILIZZO PER STIMARE L'ETA' GESTAZIONALE	94

<b>6. VALUTAZIONE MACROSCOPICA</b>	<b>99</b>
6.1 TECNICA MICROSCOPICA E MACROSCOPICA	99
6.2 DIAGNOSI DI GRAVIDANZA	101
6.3 VARIAZIONI MICROSCOPICHE E MACROSCOPICHE NELLE DIVERSE FASI DELLA GRAVIDANZA	103
6.4 MISURE FETOMETRICHE E LORO UTILIZZO PER STIMARE L'ETA' EMBRIONALE E FETALE	119
6.5 DETERMINAZIONE DEL SESSO	123
<b>- TERZA PARTE: ESPERIENZA PRATICA</b>	
<b>7. CONFRONTO DEI TRE DIVERSI METODI DI VALUTAZIONE DELLE MISURE FETOMETRICHE E STIMA DELL'ETA' GESTAZIONALE</b>	<b>129</b>
7.1 MATERIALI E METODI	130
7.1.1 ECOGRAFIA	130
7.1.2 RADIOLOGIA	133
7.1.3 MICROSCOPIA E MACROSCOPIA	134
7.2 PROVE	138
7.3 RISULTATI	142
7.4 DISCUSSIONE	145
7.5 CONCLUSIONI	149
<b>- QUARTA PARTE: BOOK FOTOGRAFICO</b>	
<b>8. FOTO</b>	<b>153</b>
<b>9. ECOGRAFIE</b>	<b>165</b>
<b>10. RADIOGRAFIE</b>	<b>169</b>
<b>- BIBLIOGRAFIA</b>	<b>171</b>
<b>- RINGRAZIAMENTI</b>	<b>179</b>

## **INTRODUZIONE**

La richiesta di una diagnosi precoce di gravidanza nei piccoli animali, cani e gatti, ha permesso lo sviluppo di tecniche, a tale scopo, sempre più sensibili e specifiche. Gli allevatori, infatti, sono ansiosi di confermare la gravidanza, di assicurarsi la vitalità dei feti e di stabilire il numero dei cuccioli. Diagnosticare una gravidanza il prima possibile è importante anche in caso di accoppiamenti accidentali ed indesiderati per poter prendere gli opportuni provvedimenti. L'ecografia, in tal senso, ha superato la radiologia dal momento che un accertamento della gravidanza può essere effettuato radiograficamente soltanto dopo il 38° giorno, cioè quando è già iniziata la calcificazione dello scheletro fetale ed essa diventa visibile. (Boyd, 1971) L'utilizzo dell'ecografo, invece, permette di stimare la gravidanza già al 10° giorno (Zambelli et al., 2002) anticipando, quindi, anche una diagnosi manuale, mediante palpazione addominale, che si esegue dal 21° al 35° giorno. (Nyland & Mattoon, 1995) E' possibile, inoltre, monitorare la gravidanza controllando la salute dei feti in modo tale da prendere provvedimenti in caso di posizioni anomale, a termine di gravidanza, od in tutte le situazioni che rendano un parto naturale rischioso. Si riesce a valutare il sesso dei feti e si può provare a contarne il numero, anche se, in questo, la radiologia risulta molto più precisa.

Sono stati eseguiti numerosi studi, soprattutto nelle cagne gravide, per poter valutare la crescita embrionale e fetale e per stimare con opportune misurazioni l'età fetale. Per quanto riguarda il gatto le ricerche sono piuttosto datate e risalgono per lo più agli anni settanta per quanto riguarda la radiologia (Boyd 1968, 1971, 1975; Tiedemann & Henschel 1973). Zambelli et al. (2002, 2004 e 2006) e Beccaglia et al. (2008), invece, hanno condotto recentemente degli studi mettendo in relazione le misure ecografiche con l'età fetale.

Sicuramente nel cane stimare l'età gestazionale risulta fondamentale, poichè non si può conoscere con certezza il momento dell'ovulazione, diversamente dal gatto in cui essa è indotta dal coito. E' vero, però, che anche nel gatto può essere utile in caso il proprietario non sia presente al momento dell'accoppiamento o nei casi di ovulazione non indotta dal coito. Considerato ciò, e dato l'interesse per la clinica ostetrica si è deciso di improntare questa tesi proprio su tale aspetto, cercando di valutare e confrontare i diversi metodi di misurazione fetometrica e stima dell'età gestazionale durante la gravidanza della gatta.

Dopo aver analizzato i diversi studi si è elaborato un protocollo di lavoro che ha permesso di valutare i feti ecograficamente, radiograficamente, quando possibile, ed, infine, dal vivo in seguito a sterilizzazione delle gatte. A tal scopo sono state utilizzate gatte di uno dei gattili di Monselice, che vengono condotte in facoltà per essere sterilizzate, e che nel periodo riproduttivo è ovviamente frequente trovare gravide. Questo ha permesso di rapportarsi con le tecniche ecografiche e radiografiche, con gli interventi di sterilizzazione e con l'osservazione microscopica e macroscopica degli embrioni/feti. Si è potuto, così, mettere in pratica i protocolli di misurazione fetometrica confrontandoli e integrandoli al fine di stimare l'età del feto.

Da questo lavoro è risultato un book fotografico, ecografico e radiografico che ripercorre le modificazioni del feto nelle fasi della gravidanza che sono state possibili valutare.

**PRIMA PARTE:**

**FISIOLOGIA RIPRODUTTIVA DELLA**  
**GATTA**



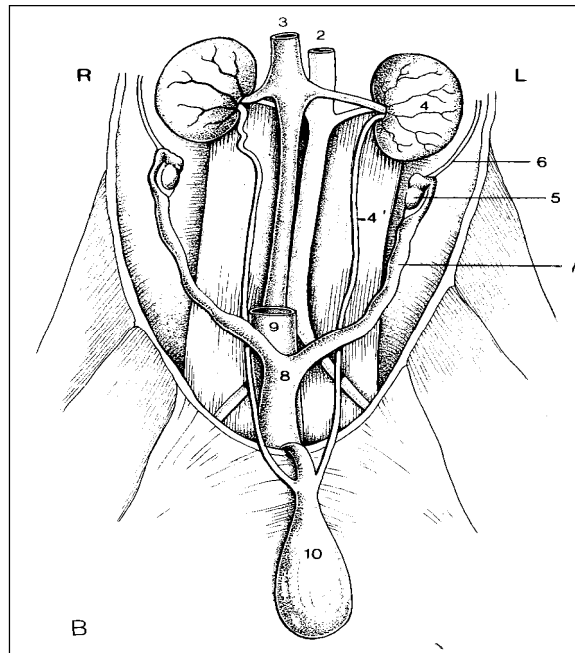
# **1. RIPRODUZIONE E FECONDAZIONE**

## **1.1 APPARATO GENITALE FEMMINILE**

L'apparato riproduttore della gatta è composto da una vulva, una vagina, una cervice lunga 1-1.5 cm, un utero bicornuto con un corpo di 1,5-2 cm e corna di 6-10 cm e dalle tube di Falloppio di 3-5 cm e terminanti con le ovaie. (McDonald, 1989)

Le ovaie sono lunghe circa 8-9 mm e situate sotto la III-IV vertebra lombare, parzialmente coperte dalla borsa ovarica che è costituita dalle porzioni distali del mesovario e del mesosalpinge. (Christiansen, 1987) Esse sono fissate anche dai legamenti sospensore e proprio. (Dyce et al., 2006) Risultano in comunicazione con le tube uterine attraverso un'apertura imbutiforme, l'infundibolo, che si continua, poi, con una zona più ristretta in cui non è agevole distinguere ampolla e istmo. Queste parti hanno un andamento flessuoso e terminano nel corrispondente corno dell'utero, lungo e stretto, che si congiunge, infine, al corpo dell'utero. Quest'ultimo si trova in vicinanza del margine posteriore del pube e si unisce alla cervice che è tubulare, presenta le ghiandole cervicali e separa l'utero dalla vagina. Essa si estende orizzontalmente attraverso la pelvi prima di piegare ventralmente oltre l'arcata ischiatica e di congiungersi con il vestibolo il quale prosegue l'inclinazione verso il basso, presenta le ghiandole vestibolari maggiori, la fossetta clitoridea con il clitoride e si estende fino alle labbra vulvari. (Christiansen, 1987; Dyce et al., 2006)

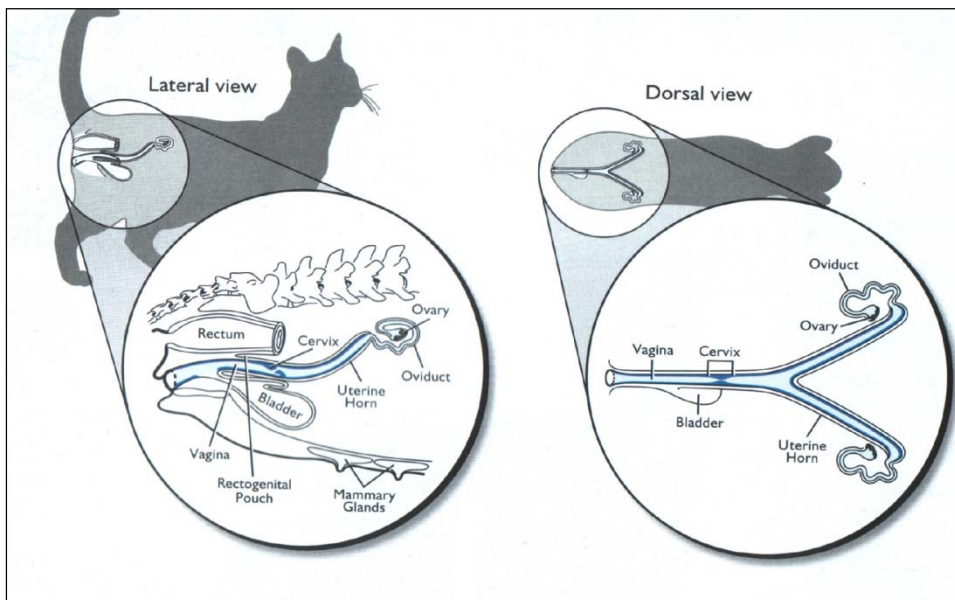
*Fig.1: Genitale femminile*



2, aorta; 3, v. cava caudale; 4, 4' rene sinistro ed uretere;  
5, ovaio; 6, legamento sospendore dell'ovaio; 7, corno uterino;  
8, corpo dell'utero; 9, retto; 10, vescica, rovesciata caudalmente

*Modificata da Dyce et al., 2006*

*Fig.2: Visione laterale e dorsale dell'app. gen. femm.*



*Modificata da Senger, 2003*



## **1.2 PUBERTA' E STAGIONE RIPRODUTTIVA**

Il gatto domestico è un animale poliestrale stagionale.

La pubertà nelle gatte si manifesta a circa 8-13 mesi, ma presenta una notevole variabilità (5-18 mesi) che dipende sia dalla razza che da fattori ambientali. (McDonald, 1989) E' un evento influenzato più dal momento della nascita in relazione alla stagione riproduttiva che dall'età. Gattine che nascono tra Marzo e Giugno entrano in estro in media a circa 11-12 mesi, mentre quelle nate tra Giugno e Ottobre vanno "in stagione" in media a 8 mesi oppure l'anno successivo a 17 mesi. (Tsutsui et al., 2004)

La durata della stagione riproduttiva dipende dalla posizione geografica. (Christiansen, 1987) Nell'emisfero boreale i gatti presentano in media due stagioni riproduttive per anno, una in primavera, da Gennaio a Marzo, e una alla fine dell'estate, da Agosto ad Ottobre, seguite, poi, dal periodo di anestro. (McDonald, 1989) Tale periodo può essere influenzato dalla razza, dall'ambiente, dalle ore di luce o anche da fattori psicologici. In certi casi l'attività estrale può continuare per tutto l'anno, specialmente nelle gatte tenute in casa ed esposte alla luce artificiale o in quelle di laboratorio esposte giornalmente a 14 ore di luce. (Christiansen, 1987) Il fotoperiodo, infatti, influenza l'attività del sistema ipotalamo-ipofisi-gonade attraverso la secrezione di melatonina. Quando il fotoperiodo è breve aumenta la secrezione di melatonina e prolattina, riducendo la funzionalità ovarica. Questo è ciò che normalmente accade in natura, mentre il meccanismo si interrompe con l'esposizione costante alla luce artificiale. (Tsutsui et al., 2004)

*Fig.3: Tempo e durata della stagione dei calori nelle gatte a seconda della localizzazione geografica*

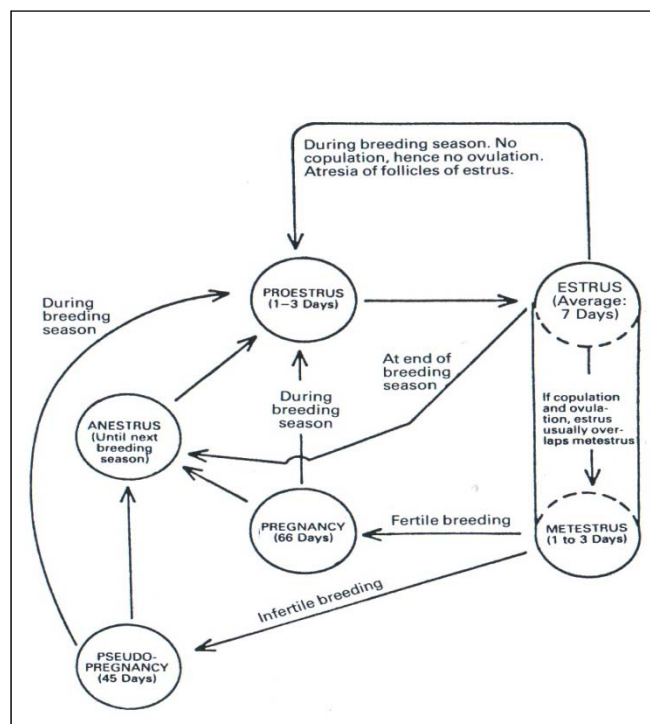
Paese	Latitudine Nord	Durata in mesi	Stagione dei calori											
			Periodo dell'anno											
			Gennaio	Febbraio	Marzo	Aprile	Maggio	Giugno	Luglio	Agosto	Settembre	Ottobre	Novembre	Dicembre
Algeria	37	10	■											
Stati Uniti	40	7	■											
Stati Uniti	42	5	■											
Stati Uniti	43	7	■											
Inghilterra (Porton)	51	8	■											
Inghilterra	51,5	6	■											
Inghilterra (Londra)	52	5	■											
Polonia	52	6	■											
Italia (n.d.t.)	45	10	■											

*Modificata da Christiansen, 1987*

### 1.3 CICLO ESTRALE E CITOLOGIA VAGINALE

La gatta è una femmina poliestrale stagionale ad ovulazione indotta; in altre parole l'ovulazione e la formazione del corpo luteo avvengono solo se c'è stato l'accoppiamento. La durata e l'evoluzione del ciclo cambiano in funzione del verificarsi del coito, della conseguente ovulazione e del possibile concepimento e se, gravidanza e parto sono seguiti dall'allattamento. (Christiansen, 1987)

*Fig.4: Ciclo ovarico della gatta*

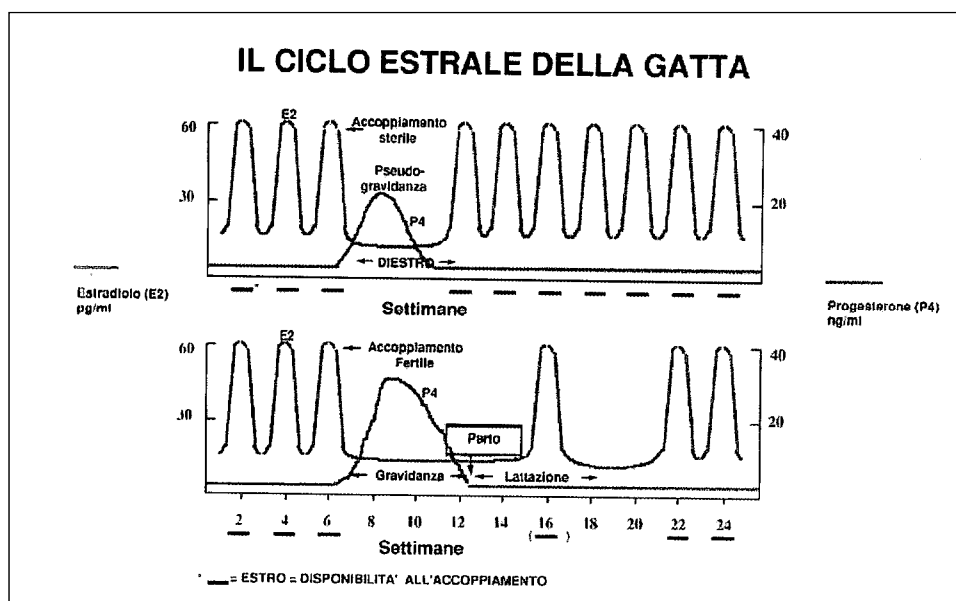


*Modificata da McDonald, 1989*

Durante la stagione riproduttiva la gatta presenta una serie di estri anovulatori ognuno dei quali dura in media 7 giorni, con un range di 3-20 giorni, ed è seguito da un periodo di interestro di circa 10 giorni, con un range di 8-30 giorni. Questa variabilità è probabilmente dovuta al fatto che è difficile valutare l'insorgenza ed il termine dell'estro basandosi sui soli segni comportamentali in assenza del gatto maschio e che si hanno notevoli influenze dovute alla razza, alle condizioni ambientali e all'interazione sociale con altre gatte. (McDonald, 1989) Il numero totale di periodi estrali, in una gatta non accoppiata allevata in una colonia con livelli controllati di luce e temperatura, è di circa 13 cicli (intervallo di 4-25). La durata media di un ciclo anovulatorio è di circa 17 giorni, ma possono verificarsi anche cicli di lunghezza differente o, in alcuni casi, si può avere un estro continuo. Gli intervalli del ciclo estrale sono prolungati, circa 45 giorni (30-70 giorni), in gatte che ovulano in concomitanza con l'accoppiamento, ma non restano gravide. (Christiansen, 1987) In caso di gravidanza l'interestro in gatte che allattano è di circa 120 giorni (66 giorni di gestazione più 54 di lattazione). Il primo estro compare in media 18 giorni dopo lo svezzamento dei gattini, ma c'è una notevole variabilità soprattutto nelle femmine esposte a condizioni ambientali differenti. L'estro si può verificare anche prima di 7-10 giorni dal parto (calore da parto) in gatte che allattano e sicuramente alcune gatte si accoppiano durante l'allattamento.

Il periodo di tempo tra una stagione riproduttiva e l'altra, l'anestro, dura circa 90 giorni (intervallo 30-210 giorni). (Christiansen, 1987; McDonald, 1989)

Fig.5: Ciclo estrale



Modificata da Olson; Kustrizt, 2001

Il ciclo estrale della gatta, come nelle altre specie animali, può essere suddiviso in fasi. Il **proestro** dura 1-3 giorni; in questo periodo, si verifica uno sviluppo selettivo di 3-7 follicoli ovarici (2 mm di diametro) accompagnato dall'atresia degli altri. Cresce la secrezione di estradiolo 17- $\beta$  e la gatta manifesta maggiori comportamenti di affetto verso i proprietari e un aumento di frequenza della minzione, ma non accetta ancora la monta. Dal momento che i follicoli crescono in fretta è una fase difficile da rilevare clinicamente. La durata dell'**estro** è influenzata, invece, come già riportato, dalla stagione e dall'avvenuta o meno ovulazione. I livelli di estrogeni nel sangue raggiungono il picco ( $> 20$  pg/ml) al momento dell'accettazione della monta e poi calano durante i 5 giorni successivi. I follicoli raggiungono la giusta maturazione (2-3 mm di diametro) e se la gatta non si accoppia vanno in atresia. Questo processo si ripete di continuo durante la stagione riproduttiva a meno che non ci sia accoppiamento. I livelli di progesterone in questi estri anovulatori restano basali (0,5 ng/ml).

In caso di copula vengono prodotti impulsi che stimolano la secrezione di LH che porta all' **ovulazione** entro 24-50 ore dal coito. L'**interestro** che segue un calore anovulatorio è di circa 10 giorni (8-30). Talvolta, se questa fase è molto breve ed il proprietario non fa caso all'interruzione dei comportamenti estrali, può sembrare che la gatta sia continuamente in estro anche se in realtà l'interestro seppur corto c'è. In caso di accoppiamento sterile, cioè non seguito da gravidanza, si instaura il **diestro** che dura circa 45 giorni e corrisponde alla pseudogravidanza della cagna. Durante questo periodo i corpi lutei restano in funzione e poi regrediscono spontaneamente. Infine durante il periodo di riposo sessuale si ha l'**anestro** con ovaie piccole e follicoli di 0,5 mm circa. (Christansen, 1987; McDonald 1989)

La citologia vaginale non può essere usata, come nella cagna, per determinare il momento migliore per l'accoppiamento dal momento che l'ovulazione nella gatta è indotta, ma può essere utile per controllare l'estro. Il prelievo del campione deve essere eseguito molto accuratamente, ricordandosi di inserire il tampone solo di pochi cm perché l'introduzione profonda potrebbe portare ad ovulazione. (Christiansen, 1987) Durante l'anestro sono presenti poche cellule, soprattutto le basali e i leucociti. Sotto influenza degli estrogeni, invece, l'epitelio vaginale si assottiglia e si cheratinizza. Prima dell'ovulazione sono presenti solo cellule anucleate cheratinizzate o le intermedie e superficiali parzialmente cornificate. Queste ultime diventano predominanti durante la fase luteale che vede la presenza anche di poche cellule parabasali. (McDonald, 1989)

## 1.4 RIPRODUZIONE E ACCOPPIAMENTO

Il comportamento nell'accoppiamento dei gatti dipende dall'esperienza sessuale oltre che dallo stato ormonale. Le gatte vergini, infatti, resistono alle attenzioni del gatto fino al primo coito, mentre successivamente appaiono più recettive, consentendo con maggior frequenza rapporti col maschio. (Christiansen, 1987)

L'atteggiamento riproduttivo di una gatta in estro è facilmente riconoscibile se esposta al maschio. Quest'ultimo dovrebbe essere mantenuto nel suo territorio in quanto se portato altrove potrebbe non voler più effettuare la monta fino all'acclimatamento. (Kustritz, 2005)

La femmina diventa più attiva ed eccitata ed emette richiami i quali possono essere ripetuti poi anche dal maschio. In presenza del gatto abbassa la schiena, alza la regione pelvica, sposta la coda e compie dei movimenti come di locomozione con le zampe anteriori. Queste reazioni si possono provocare anche accarezzando leggermente la schiena o toccando la regione pelvica. I segnali diventano più pronunciati se nello stesso tempo si afferra la pelle del collo e si tocca la regione perineale. Il gatto, infatti, solitamente, morde il collo della femmina in modo non aggressivo, ma sufficiente per stabilizzare la posizione e facilitare la copula. Se la gatta non è pienamente recettiva si rivolta contro il maschio o l'uomo che la manipola, ma successivamente riprende il comportamento estrale. Questi sintomi comunque non sono sempre presenti e si hanno considerevoli variazioni in funzione di razza, età e periodo. Il maschio durante la monta stringe il torace della femmina con le zampe anteriori e muove le zampe posteriori. Il pene viene introdotto con movimenti di spinta e immediatamente si ha l'eiaculazione. Krustritz, nel 2005, riporta che durante l'accoppiamento il gatto impiega circa 5-50 sec per afferrare la femmina per il collo e montarla, 1-30 sec per introdurre il pene ed eiaculare e 0-1 sec per smontare. Appena il pene viene estratto, la gatta si sposta in

avanti emettendo un gemito (forse dovuto alle papille cheratinizzate del pene) e il maschio si allontana per evitare l'aggressività della femmina, la quale si rotola su se stessa e si lecca la regione vulvare. Questa pausa può durare da qualche minuto ad un'ora e sembra serva a promuovere il movimento degli spermatozoi nelle vie genitali femminili. Successivamente la monta riprende e si possono avere fino a 15 o più accoppiamenti in un giorno fino a quando generalmente la femmina vi pone fine.

*Fig.6: Durata e caratteristiche dei periodi prima, durante e dopo la monta*

<i>Durata</i>	<i>Gatto</i>	<i>Gatta</i>
Prima della monta 10 sec-5 min	Avanza Odora i genitali Si muove in circolo Emette mugolii di richiamo Avanza	Si accovaccia Sfrega il naso ed il muso Si rotola Emette mugolii di richiamo Punta i piedi
Monta 1-3 min	Morde il collo Monta con gli arti anteriori Monta con gli arti posteriori Si raccoglie sugli arti anteriori Punta i piedi Inarca il dorso	Si accovaccia  Punta i piedi
5-10 sec	Movimenti coitali Erezione del pene Abbassa il bacino Introduzione del pene Eiaculazione Ritrae il pene dalla vagina	Volge la coda di lato  Solleva il bacino Dilatazione della vagina  Gemito della copula Gira intorno in direzione del maschio
Dopo la monta < 1 min	Lecca il pene e le zampe anteriori Si mantiene vicino alla gatta	Lecca i genitali Si rotola Sfrega il naso ed il muso Lecca le zampe Osserva il maschio e lo provoca di nuovo

*Modificata da Christiansen, 1987*



## 1.5 OVULAZIONE

La copula, con un gatto fertile o sterile, produce impulsi nella regione vulvo-vaginale che causano il rilascio di fattori che stimolano la secrezione di LH a livello ipotalamico e portano all'ovulazione entro 24-50 ore dal coito. (Christiansen, 1987; McDonald, 1989) L'ampiezza di questi stimoli e i conseguenti livelli di LH nel sangue sono strettamente influenzati dal numero di accoppiamenti. I massimi livelli di LH ( $120.5 \pm 23.8$  ng/ml) sono raggiunti dopo 6-8 accoppiamenti in 2-4 ore. In alcune gatte, però, un unico coito può portare all'ovulazione, mentre in altre nemmeno ripetuti accoppiamenti sono sufficienti, probabilmente perché queste femmine accettano il maschio prima della maturazione dei follicoli. Il pene del maschio presenta delle papille corneali e sembra che queste "spine" siano essenziali per lo stimolo ovulatorio e che servano anche a prevenire la prematura fuoriuscita del membro maschile dalla vagina della gatta. Il numero di follicoli che ovulano e di oociti rilasciati sono in diretta relazione con la quantità di copule e con il momento dell'estro in quanto i primi due giorni sono di solito i più favorevoli. L'ovulazione può essere indotta da stimolazioni ripetute della cervice attraverso la vagina o dalla somministrazione di hCG alla dose di 250 UI nei primi due giorni di estro o attraverso iniezioni di GnRH esogeno. I livelli di estradiolo  $17\beta$  nel sangue calano rapidamente a  $<20$  pg/ml dopo 96 ore dal coito, mentre si formano i corpi lutei e salgono i livelli di progesterone a 2-3 ng/ml. L'estradiolo si mantiene poi a livelli bassi per tutta la gravidanza fino al momento del parto quando si ha un leggero incremento seguito da una successiva ulteriore diminuzione. Il progesterone, invece, raggiunge il picco di 15-90 ng/ml in 15-25 giorni dalla copula, cala al momento del parto fino a raggiungere 1 ng/ml dopo il parto. (Christiansen, 1987; McDonald, 1989)

## 1.6 CONCEPIMENTO

Dopo l'ovulazione gli oociti secondari della gatta completano la seconda divisione meiotica producendo il secondo globulo polare. Intanto gli spermatozoi, nel tratto genitale femminile, devono attraversare la cervice e l'utero per giungere nella regione ampollare dell'ovidotto, devono capacitarci, legarsi all'oocita, subire la reazione acrosomiale, penetrare la zona pellucida e fondersi con la membrana plasmatica. A questo punto lo spermatozoo entra nel citoplasma dell'oocita che presenta così un pronucleo femminile e uno maschile. I due pronuclei si fondono e si forma lo zigote che inizia a dividersi fino a raggiungere lo stadio di morula (4-8 cell.) a circa 5 giorni dall'ovulazione. Gli embrioni formati o gli oociti non fertilizzati migrano poi verso l'utero raggiungendolo a 6-8 giorni dall'accoppiamento. (McDonald, 1989; Senger, 2003)

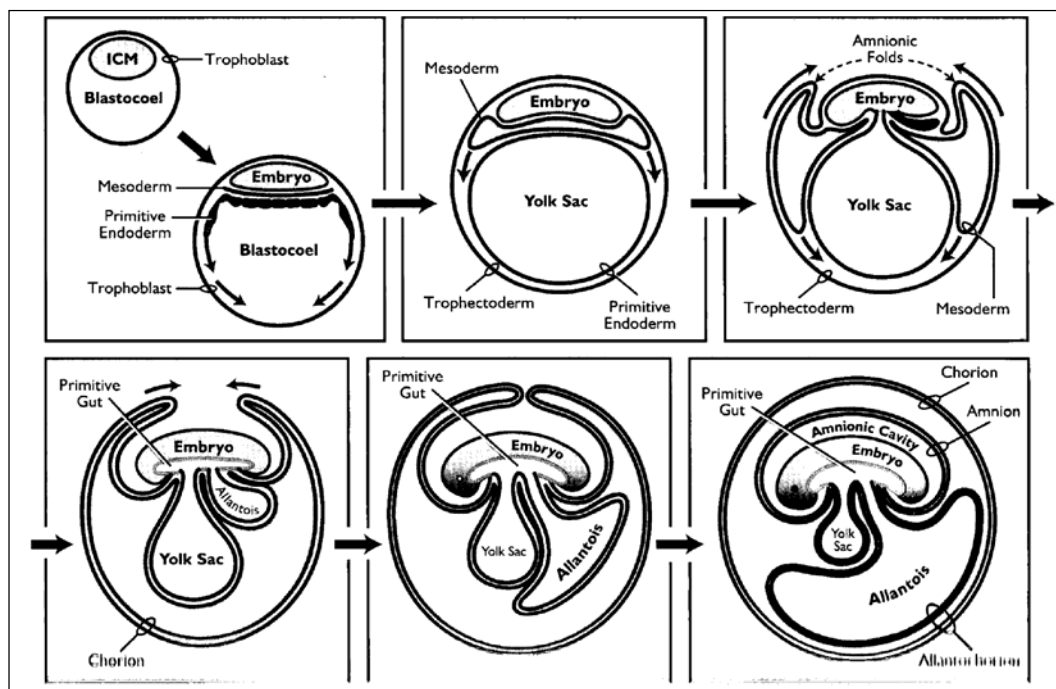
## **2. GESTAZIONE**

### **2.1 FASI PRECOCI DELLA GRAVIDANZA E ORMONI COINVOLTI**

Dopo la fecondazione lo zigote inizia a dividersi in cellule sempre più piccole, chiamate blastomeri. Questo processo avviene all'interno della zona pellucida dell'embrione che mantiene le stesse dimensioni per i primi giorni. Successivamente aumentano il numero di cellule, si compattano e si forma la morula. Durante questa fase l'embrione viene trasportato verso l'utero (4-8 giorni dall'accoppiamento) grazie ai movimenti della ciglia oviduttali e alla corrente dei liquidi sospinti dalle contrazioni della muscolatura liscia oviduttale. Le cellule subiscono ora profondi mutamenti strutturali: quelle della porzione interna sviluppano gap-junction che permettono la comunicazione intercellulare, mentre tra quelle periferiche si stabiliscono delle tight-junction che creano una sorta di sigillo esterno alla morula. Nei giorni successivi all'interno della morula compaiono degli spazi pieni di fluido che confluiscono, infine, tra di loro dando luogo ad una cavità unica definita blastocela: l'embrione è chiamato ora blastocisti. Quest'ultimo è composto da due distinti gruppi di cellule: il bordo esterno definito trofoblasto ed un ammasso di cellule situate ad un polo della blastocisti che prendono il nome di massa interna o nodo embrionale. Il trofoblasto è il primo dei tessuti detti extraembrionali e dà origine prima al corion e poi alla placenta. Le cellule del nodo embrionale, invece, si differenziano in modo diverso: alcune formano l'embrione ed altre i tessuti extraembrionali. Le blastocisti si muovono attivamente attraverso le corna uterine per i primi giorni, poi, si fermano e intorno all'11° perdono la zona pellucida. Prima che si verifichi l'impianto in utero il tessuto embrionale cresce e si formano le membrane extraembrionali. Gli annessi embrionali

sono: Corion, Sacco Vitellino, Amnios e Allantoide. Si differenziano nei primi stadi di sviluppo della blastocisti e servono a garantire gli scambi materno-fetali nelle fasi precoci di gravidanza e come protezione meccanica contro gli urti. Alcuni hanno una durata temporanea ed involgono precocemente, mentre altri, permangono fino alla fine della gravidanza per poi essere espulsi al parto. Il Corion deriva dal trofoblasto, prende contatto con l'endometrio mediante i villi coriali ed entra in rapporto in varia misura con gli altri annessi. L'Amnios si forma quando l'embrione si approfonda e viene circondato dal corion che lo avvolge completamente. E' ripieno di liquido contenente proteine ed altre sostanze ed è importante per favorire i movimenti, idratare, proteggere dagli urti e ricevere i prodotti di escrezione fetale. Il Sacco Vitellino origina dalla proliferazione dell'endoderma primitivo dalla porzione mediana dell'embrione. Sintetizza peptidi, proteine ed ormoni steroidei. Produce le prime cellule sanguigne e proteine del sangue e origina le cellule germinali primordiali da cui si formeranno le gonadi. Inizia a regredire quando compare l'allantoide, ma persiste comunque fino alla fine della gravidanza. L'Allantoide, infine, si sviluppa dalla regione posteriore dell'embrione, si riempie di fluido, si espande e si fonde col Corion sviluppando una rete vascolare estesa. Comunica con l'intestino. (Senger, 2003)

*Fig.7: Annessi embrionali*



*Modificata da Senger, 2003*

Per garantire la sopravvivenza dell'embrione ed il proseguire della gravidanza deve essere impedita la luteolisi. Nelle altre specie, a tal scopo, esistono dei fattori di riconoscimento della gravidanza. Questi non risultano necessari nella gatta perché il corpo luteo si mantiene sia in caso di accoppiamento sterile che fertile. I livelli di estradiolo 17 $\beta$  e di progesterone sono uguali sia in gravidanza che in pseudogravidanza fino al 20° giorno. Successivamente i valori di progesterone salgono se la gatta è gravida, per poi calare gradualmente in vicinanza del parto fino a livelli basali (< 1 ng/ml) subito dopo di esso. I livelli di estradiolo rimangono simili, ma più bassi in falsa gravidanza, salvo poi subire un incremento maggiore intorno al 60-69° giorno. La concentrazione di prolattina rimane relativamente costante durante la gravidanza (circa 30 ng/ml); aumenta verso la fine raggiungendo valori elevati 3 giorni prima del parto (circa 40 ng/ml) che vengono mantenuti durante l'allattamento per poi calare nelle

ultime due settimane. La relaxina è rilevabile nel sangue dal 25° giorno di gestazione, raggiunge il plateau al 35° giorno e rimane costante fino a 10 giorni dal parto quando inizia a calare per poi scomparire 24 ore dopo il parto. (McDonald, 1989)

## 2.2 IMPIANTO E PLACENTAZIONE

L'attecchimento nei carnivori inizia dal polo opposto all'embrione e si diffonde rapidamente tutt'intorno alla sua zona equatoriale, per cui la placenta che si forma si dice zonata. Le blastocisti si orientano in modo che l'embrione sia localizzato sempre al polo antimesometriale e al 12-14° giorno dall'accoppiamento inizia l'erosione dell'epitelio materno. I bassi livelli di aromatasi nel trofoblasto suggeriscono che gli estrogeni non abbiano un ruolo fondamentale nell'impianto. (McDonald, 1989)

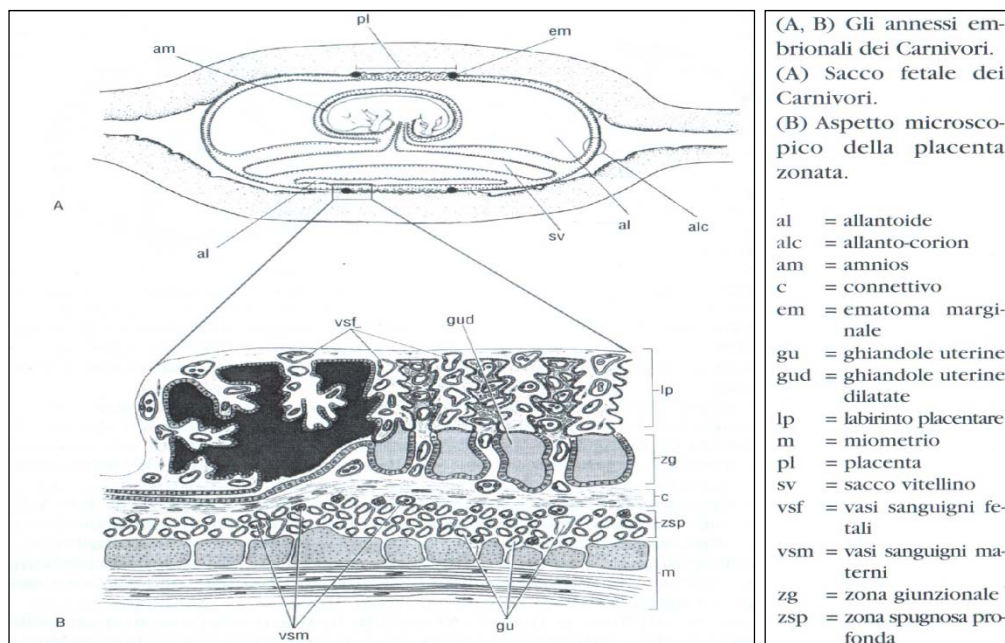
L'impianto è di tipo eccentrico con penetrazione della vescicola embrionale in un diverticolo della mucosa uterina. Contemporaneamente inizia la gastrulazione. A tre settimane la blastocisti ha la forma di un limone di 2-3 cm di lunghezza, mentre col proseguire dello sviluppo si accrescono anche le estremità laterali. L'amniogenesi avviene per sollevamento delle pieghe che si fondono alla fine della 3° settimana. La fusione delle pieghe è completa e caratterizzata da netta separazione tra la somatopleura dell'amnios e quella del corion. A sviluppo ultimato l'amnios contiene circa 5-10 ml di liquido amniotico, biancastro e viscoso. Il sacco vitellino si forma prima che la blastocisti sia ancorata alla mucosa uterina. Intorno al 13° giorno si crea un'ampia zona di fusione tra la splancopleura del sacco vitellino e la somatopleura del corion, vascolarizzata da arterie e vene vitelline. E' la placenta corion-vitellina od onfaloide che rimane funzionante fino alla 4° settimana di gestazione permettendo gli scambi respiratori e nutritivi. Progressivamente questo contatto regredisce e permane solo alle due estremità del sacco vitellino che rimangono aderenti al corion per tutta la durata della gravidanza. L'allantoide, dal 15° giorno di gestazione circonda l'amnios e si espande mettendosi in contatto con tutta la superficie del corion ad eccezione dell'area ventrale inizialmente occupata dal sacco vitellino. Quando, poi, quest'ultimo si riduce, l'allantoide si espande anche ventralmente nel celoma extraembrionale.

Con lo sviluppo dei vasi corion-allantoidei si creano i villi terziari che si fondono a formare un labirinto vascolare nella fascia che occupa il terzo centrale del corion (placenta zonata). Al momento dell'impianto il trofoblasto prolifera differenziandosi in una componente più profonda il citotrofoblasto e in una più superficiale, in corrispondenza dell'area embrionale, il sinciziotrofoblasto. Quest'ultimo ha la capacità di erodere l'epitelio ed il connettivo della mucosa uterina, consentendo, così, l'impianto. L'azione erosiva viene bloccata a livello dell'endotelio dei vasi materni da cellule connettivali che assumono caratteri epitelioidi e danno luogo alla reazione deciduale. Tuttavia, lungo i margini della placenta zonata si ha degenerazione anche dell'endotelio della mucosa uterina per cui si formano gli ematomi marginali che costituiscono una riserva di ferro per l'embrione. L'emoglobina qui presente è responsabile della colorazione verde brillante che contrasta con quella rosso scuro della maggior parte della placenta. Le estremità del corion non subiscono modificazioni strutturali, sono semplicemente addossate alla mucosa uterina (aree paraplacentari). Il cordone ombelicale è spesso, resistente, corto e attraversato da due arterie e due vene ombelicali. Al parto l'allantoide circonda completamente l'amnios che non presenta più alcun punto di fusione con il corion per cui il feto può nascere completamente avvolto dal sacco amniotico senza che questo si rompa. Ciò non costituisce un problema per la sopravvivenza del feto perché questo resiste bene all'ipossia e la membrana viene subito rotta dalla gatta o dai movimenti del neonato stesso. Dopo il parto, la porzione della mucosa uterina al di sopra dello strato di copertura viene eliminata col secondamento e successivamente lo strato ghiandolare superficiale viene ricostituito col profondo. Ricapitolando, la placenta definitiva dei carnivori è allantoidea, zonale, deciduata ed endoteliochoriale, mentre la placenta vitellina è funzionante solo per breve tempo. La placenta assicura gli scambi metabolici e respiratori tra madre e feto e ha funzione di protezione



impedendo, tramite la barriera placentare, il passaggio di microrganismi e sostanze nocive nella circolazione fetale. Gli scambi sono resi possibili dalla permeabilità selettiva del filtro placentare che dipende oltre che dalla barriera placentare, dalla superficie totale di contatto tra la componente materna e fetale e dalle caratteristiche della vascolarizzazione delle due parti. Mentre il passaggio di sostanze gassose e di sali minerali avviene per diffusione, il passaggio di macromolecole richiede una scissione di queste ad opera dell'epitelio coriale ed un successivo passaggio degli elementi di base nel sangue fetale. Poiché solo una parte modesta degli anticorpi della madre attraversa la placenta la maggior parte dell'immunità passiva dei neonati dipende dall'assunzione di colostro. La placenta svolge, inoltre, un'importante funzione endocrina in quanto produce gonadotropine corioniche, estrogeni, progesterone, prolattina e relaxina. ( Dyce et al., 2006; Pelagalli et al., 2009)

*Fig.8: Placenta Zonata*



*Modificata da Pelagalli et al., 2009*

## 2.3 SVILUPPO EMBRIONALE E FETALE

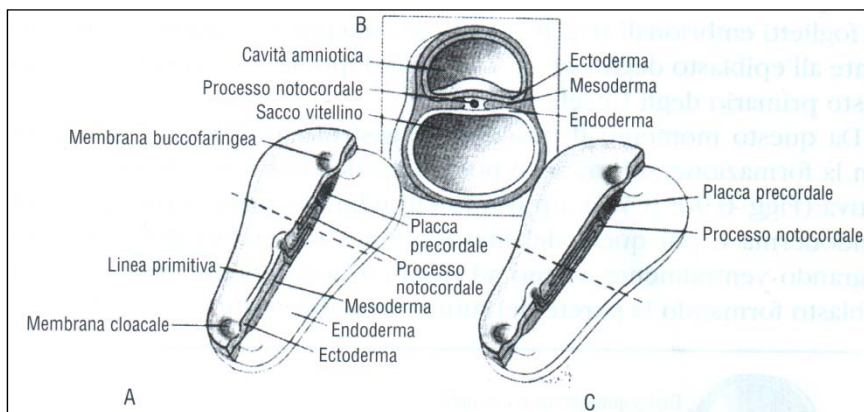
Gli stadi di sviluppo successivi alla fecondazione e alla formazione dello zigote, possono essere divisi in due periodi: embrionale e fetale. Il primo è il momento compreso tra la fecondazione e lo sviluppo dei primordi degli organi; è un periodo di durata variabile nelle diverse specie (25 giorni nella gatta), ma particolarmente importante perché le cellule che si differenziano sono sensibili ad influenze geniche o a fattori esterni. Il secondo, invece, si estende dalla fine dello sviluppo embrionale al parto ed è caratterizzato dalla crescita e dall'inizio delle funzioni fisiologiche dei sistemi del corpo. Lo sviluppo embrionale determina il passaggio da una struttura semplice ad un embrione complesso che, crescendo, acquisisce la forma propria della specie di appartenenza. È una fase complessa, in cui avvengono cambiamenti drastici ed incessanti.

Alla fine del processo di segmentazione dalla porzione inferiore del nodo embrionale, volta verso la cavità della blastocisti, con un processo di delaminazione o di migrazione, si staccano delle cellule che si organizzano in un foglietto profondo o ipoblasto (endoderma del sacco vitellino), mentre le rimanenti cellule superficiali costituiscono l'epiblasto. Quest'ultimo delimita una piccola cavità in cui le cellule alla base fondano l'epiblasto embrionale, mentre quelle verso il trofoblasto formano il foglietto epiblastico dell'amnios. Si crea, così, un disco didermico costituito dalle cellule dell'epiblasto embrionale, insieme a quelle dell'ipoblasto e delimitato dorsalmente dalla cavità amniotica e ventralmente da quella del sacco vitellino. L'epiblasto dell'embrione contiene tutte le cellule che formeranno i tre foglietti embrionali. Il processo di gastrulazione si rende evidente con la formazione, sul margine posteriore dell'epiblasto, di una stria primitiva attraverso cui migrano prima i precursori dell'endoderma e, poi, quelli del mesoderma. I primi vanno ad inserirsi nella regione mediana dell'ipoblasto formando la parete del futuro tubo digerente, mentre i secondi si portano tra il foglietto

epiblastico e quello ipoblastico, senza contrarre rapporti con questi foglietti, e vanno a costituire il mesoderma. Quest'ultimo si estende in tutta la superficie a disposizione eccetto in due zone circolari poste all'estremità craniale e caudale del disco embrionale, dette rispettivamente area buccale e cloacale. Qui i due foglietti, inizialmente giustapposti, si fondono e vanno in lisi, formando l'apertura boccale e quella cloacale. Anteriormente alla stria primitiva si forma il nodo di Hensen attraverso cui passano le cellule dell'epiblasto che formeranno la placca precordale (mesoderma del capo) e la notocorda. Questo materiale inizialmente si allunga cranialmente formando il prolungamento cefalico, poi, quando si riduce l'immigrazione di cellule attraverso la linea primitiva, esso continua ad allungarsi anche caudalmente. La notocorda costituisce il primitivo sostegno assiale del corpo dell'embrione ed ha un grande potere induttivo sulle strutture anatomiche circostanti; a sviluppo completo regredisce ed è limitata al nucleo polposo dei dischi intervertebrali. Mentre essa si differenzia il foglietto mesodermico evolve in somiti, peduncoli intermedi e lamine laterali: somatopleura (si accolla all'epiblasto embrionale) e splancnopleura (aderisce all'ipoblasto del sacco vitellino). Le cellule dell'ectoderma, nel frattempo, si differenziano in neurectoderma, che attraverso gli stadi di placca, doccia e tubo neurale va a costituire un primordiale sistema nervoso, e in ectoderma di superficie, che si espande sull'area embrionale e su quella extraembrionale. Inoltre, da gruppi di cellule marginali tra neuroblasto ed epiplasto, si forma la cresta neurale che migra in diversi distretti del corpo. Alla fine della gastrulazione i tre foglietti embrionali (ecto-, meso- ed endo-derma) sono aperti ventralmente e sono in diretta continuità con i corrispondenti foglietti dell'area extraembrionale. Successivamente, con la formazione delle pieghe del corpo, essi si accollano ventralmente per cui l'embrione si rende indipendente dal sacco vitellino a cui resta legato solo attraverso il cordone ombelicale. Le cellule dei foglietti embrionali, in seguito, si modificano ed entrano nella formazione degli abbozzi primari

degli organi dell'embrione, mentre, nell'area extraembrionale, partecipano alla formazione degli annessi embrionali. Gli organi vengono classificati come di origine endodermica, mesodermica o ectodermica sulla base della loro derivazione da uno specifico foglietto, anche se la componente mesodermica è sempre presente qualunque sia la loro origine. L'interazione con i tessuti adiacenti, che producono molecole che agiscono per via paracrina, risulta fondamentale per la formazione di ogni porzione. (Pelagalli et al., 2009)

*Fig.9: Sviluppo embrionale*

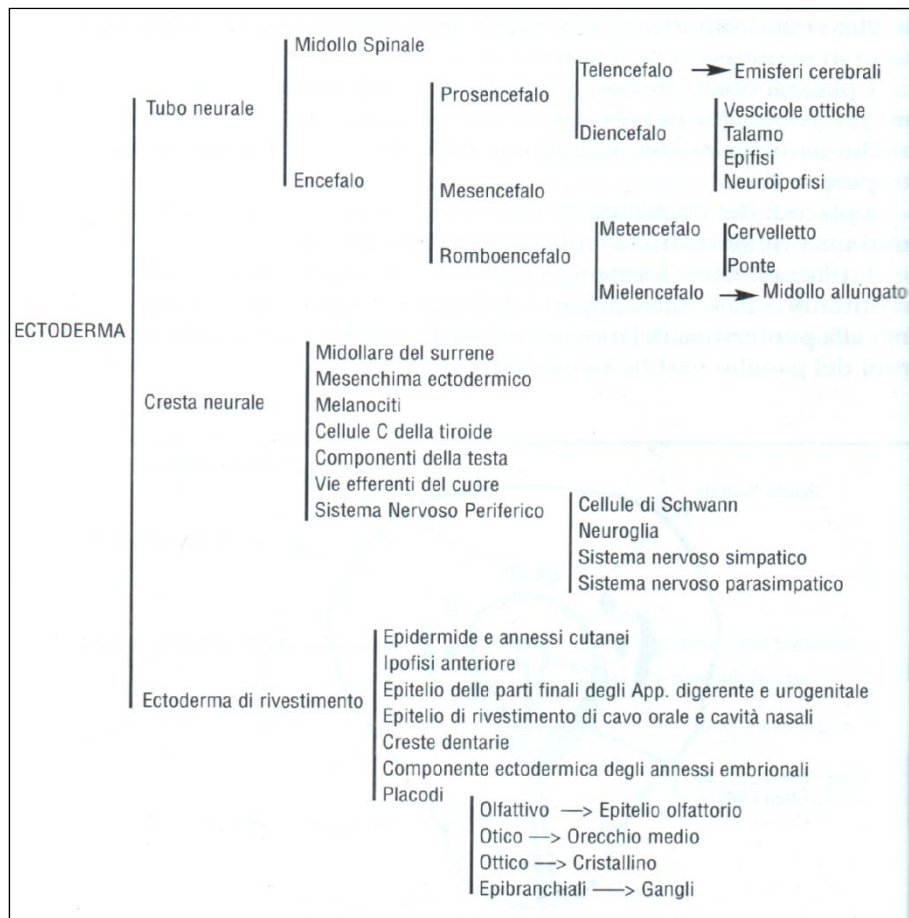


**A-C**, Formazione del processo notocordale e della placca mesodermica precordale;  
**B**, Sezione trasversale dell'embrione a livello della linea tratteggiata

*Modificata da Pelagalli et al., 2009*

Dall'evoluzione del foglietto ectodermico originano: il sistema nervoso, gli organi di senso e la cute con i suoi annessi. Tale foglietto ha la forma di un disco epiteliale in continuità con l'ectoderma amniotico e si divide in tre territori principali: l'ectoderma di superficie, il tubo neurale e la cresta neurale. Nella fase di neurulazione che porta allo sviluppo del sistema nervoso centrale inizia la formazione del tubo neurale interno, partendo da una lamina cellulare esterna, la placca neurale. Il tubo neurale comincia, poi, un processo di fusione che parte a livello del quarto somite (futura regione del collo) e si estende poi sia cranialmente che caudalmente. Il tubo alle due estremità presenta due aperture in comunicazione con la cavità amniotica, il neuroporo anteriore ed il posteriore, che si chiudono abbastanza precocemente. Dal tubo neurale prende origine il sistema nervoso centrale: la porzione cefalica forma le vescicole encefaliche, mentre la porzione caudale forma il midollo spinale. Il territorio della cresta neurale si sviluppa dalle zone laterali adiacenti la placca neurale. Le cellule della cresta neurale migrano ampiamente dando origine ad un numero enorme di tipi cellulari differenziati come i neuroni e le cellule gliali del sistema nervoso, le cellule midollari del surrene, le cellule parafollicolari della tiroide, i melanociti dell'epidermide, gran parte delle componenti della testa e alcune parti del cuore. Alla chiusura del tubo neurale compaiono sull'ectoderma di rivestimento, in aree ben localizzate, coppie di ispessimenti detti placodi legati alla formazione di organi di senso. Sono i placodi olfattori, del cristallino, otici ed epibranchiali ed hanno tutti la stessa evoluzione in fossette e, quindi, in vescicole che si approfondano, si rendono indipendenti dall'epiblasto e si mettono in connessione con il sistema nervoso. (Pelagalli et al., 2009)

*Fig.10: Derivati dell'ectoderma*



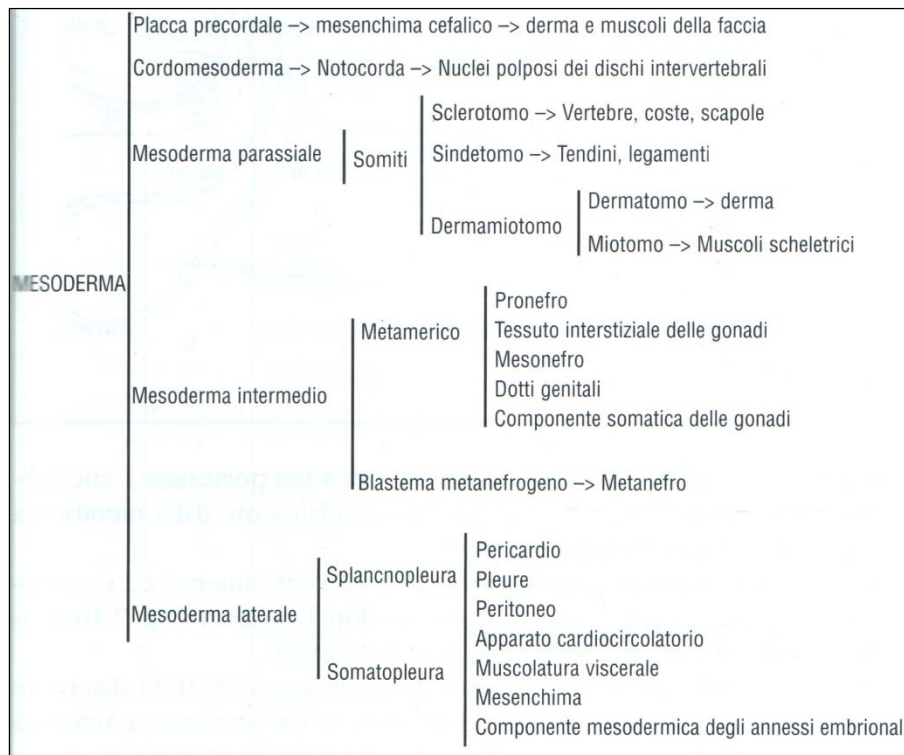
*Modificata da Pelagalli et al., 2009*

L'evoluzione del foglietto mesodermico porta alla differenziazione della maggior parte dei tessuti di sostegno del corpo, del sistema urogenitale (esclusa la vescica) e del sistema cardio-vascolare. Il mesoderma si differenzia in quattro aree costituenti il mesoderma del tronco che, in direzione dalla mediale alla laterale, sono: il cordomesoderma, che costituisce la notocorda, il mesoderma parassiale che costituisce due banderelle a decorso longitudinale lateralmente alla notocorda, il mesoderma intermedio ed il mesoderma laterale che è il più lontano dalla notocorda. La notocorda rappresenta lo scheletro assile embrionale ed è disposta tra il tubo neurale e l'intestino primitivo. Presenta tre stadi di

sviluppo: di canale cavo, di placca e di corda solida. Con lo sviluppo dei corpi vertebrali dallo sclerotomo la corda dorsale viene inglobata da questi e va incontro ad atrofia riducendosi ai nuclei polposi a livello dei dischi intervertebrali. Il mesoderma parassiale, per la formazione di solchi trasversali, si frammenta in tante masserelle di cellule con caratteristiche epiteliali, i somiti. Ognuno si differenzia in due porzioni, una ventro-mediale ed una dorso-laterale. La prima in prossimità della notocorda è costituita da cellule che assumono l'aspetto di quelle mesenchimali. Esse migrano intorno alla notocorda e al tubo neurale formando gli sclerotomi da cui originano i corpi vertebrali, le coste e le scapole. Le altre porzioni dello scheletro sono originate dalle cellule della cresta neurale (ossa del cranio) e da gemme mesenchimali (scheletro degli arti). La seconda forma, invece, il dermamiotomo che prolifera e si divide in due lamine parallele: una superficiale da cui deriva il derma cutaneo della linea mediana dorsale (dermatomo) e l'altra profonda che origina i muscoli scheletrici (miotomo). Dai somiti si differenzia anche un'area, posta tra miotomo e sclerotomo, che prende il nome di sindetomo che formerà i tendini e i legamenti. Il mesoderma intermedio si trova adiacente ai somiti, si mantiene metamerico nella regione cervicale e toracica, mentre rimane insegmentato nel tratto caudale. Origina l'apparato urinario, la corticale del surrene, i dotti genitali, il tessuto interstiziale e la componente somatica delle gonadi. Il mesoderma laterale si delamina in due foglietti paralleli: la somatopleura e la splancnopleura. Questi nell'area embrionale formano le tre sierose (pleure, pericardio, peritoneo) che delimitano il celoma embrionale, mentre nell'area extraembrionale costituiscono la componente mesodermica dell'amnios e del corion (somatopleura) e del sacco vitellino e dell'allantoide (splancnopleura) e delimitano il celoma extraembrionale. Inoltre dal mesoderma splancnico derivano anche l'apparato cardiovascolare, le tonache muscolari dei visceri cavi ed il connettivo in generale. Infine, anteriormente al mesoderma del tronco si trova un area nota come placca

precordale, da cui origina il mesoderma cefalico che formerà parte dei tessuti connettivi e dei muscoli della faccia. (Pelagalli et al., 2009)

*Fig.11: Derivati del mesoderma*



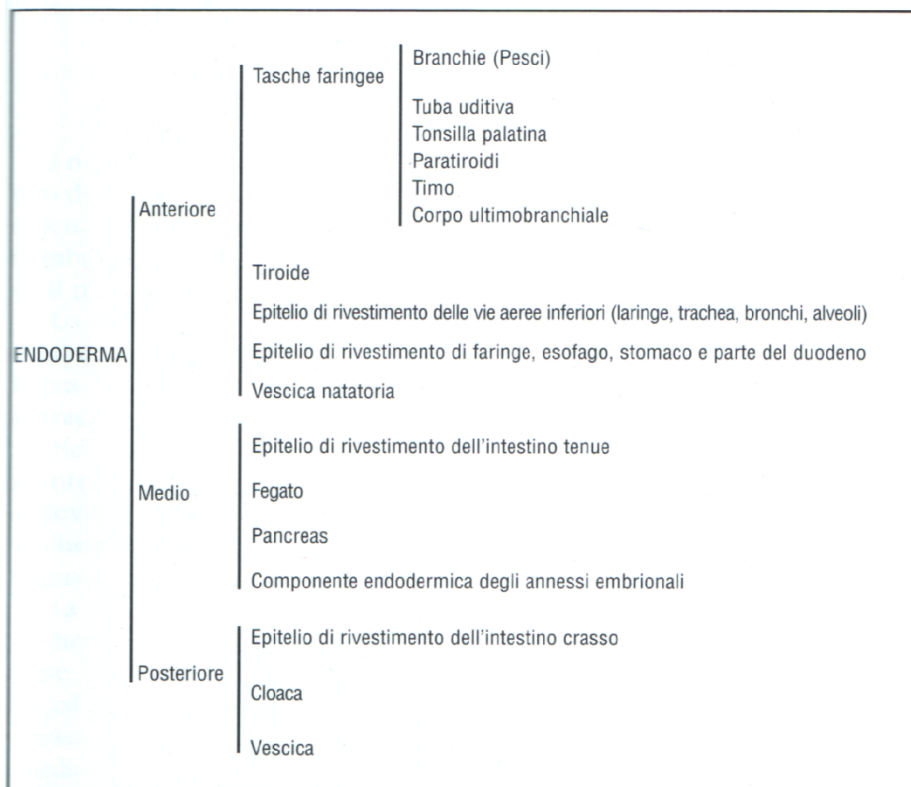
*Modificata da Pelagalli et al., 2009*

L'evoluzione del foglietto endodermico porta alla creazione del rivestimento epiteliale del tratto gastrointestinale, dell'apparato respiratorio, della vescica, della cavità timpanica e della tuba uditiva. Con la formazione delle pieghe embrionali l'endoderma si differenzia in due porzioni: una costituisce l'intestino primitivo dell'embrione, mentre l'altra il sacco vitellino. L'intestino primitivo presenta un tratto craniale, che inizialmente è chiuso anteriormente dalla membrana buccofaringea che, poi, si perfora formando l'aperture buccale, ed un tratto caudale che, invece, è delimitato



dalla membrana caudale che origina, in seguito, l'apertura anale. L'intestino medio rimane aperto ventralmente ed è comunicante con il sacco vitellino attraverso il dotto vitellino che progressivamente si restringe fino ad obliterarsi. Il foglietto endodermico riveste il tubo digerente e le ghiandole ad esso annesse, delimita le vie respiratorie inferiori e nel tratto caudale si estende nel diverticolo allantoideo. Fondamentali sono le interazioni col mesoderma che promuovono anche la formazione del fegato. L'endoderma, nella porzione più craniale dell'intestino anteriore, forma, nella regione del pavimento, un diverticolo mediano da cui origina la tiroide, mentre ai lati forma delle evaginazioni, le tasche faringee da cui derivano: la tuba uditiva, la tonsilla palatina, le paratiroidi, il timo ed il corpo ultimobranchiale. Le tasche faringee hanno un forte potere induttivo sulla formazione di strutture transienti dell'ectoderma, i solchi faringei. Tra le tasche si formano, inoltre, gli archi faringei in cui migrano le cellule della cresta neurale che originano numerose strutture del cranio (staffa, incudine, martello dell'orecchio medio, muscoli mimici della faccia, vasi ecc...). L'insieme di archi, solchi e tasche faringee costituisce l'apparato faringeo primitivo e fornisce i tratti iniziali dell'apparato digerente e respiratorio. (Pelagalli et al., 2009)

*Fig.12: Derivati dell'endoderma*



*Modificata da Pelagalli et al., 2009*

Tra i tre foglietti embrionali (ecto-, meso-, endoderma) viene descritto, inoltre, un tessuto mesenchimale, cioè un insieme di cellule distanziate e mobili, di forma stellata, che originano principalmente dal mesoderma, ma anche dalla cresta neurale. Il loro differenziamento è essenziale per lo sviluppo di diverse strutture, tra cui gli abbozzi degli arti (gemme mesenchimali) e la loro interazione con le lamine epiteliali è fondamentale per l'induzione di diversi organi. (Pelagalli et al., 2009)

Terminato lo stadio embrionale, inizia quello fetale in cui gli organi si accrescono e diventano in grado di esplicare le loro funzioni per far fronte ad una nuova fase: la nascita.

## **3. PARTO**

### **3.1 FASI DEL PARTO**

Il parto è un processo importante il cui svolgimento richiede l'interazione di ormoni materni e fetali e di diversi fattori fisici e meccanici. (McDonald, 1989)

La gravidanza dura in media 63-66 giorni (con limiti di 52-71). Verso la nona settimana di gestazione l'attività della gatta diminuisce ed essa, solitamente, cerca un posto isolato, riparato e tranquillo dove avere i suoi gattini. E' possibile che mostri irrequietezza, a causa della distensione addominale, che si giri di frequenza sul fianco o che preferisca una posizione seduta. Il tono muscolare della regione perineale diventa flaccido, mentre i capezzoli delle mammelle diventano prominenti e rosa scuro man mano che il parto si avvicina. Quest'ultimo può essere suddiviso in tre stadi: inizio delle contrazioni miometriali; espulsione del feto; espulsione delle membrane fetali. La prima fase, il travaglio, è caratterizzata da un aumento di nervosismo, dei movimenti e dei miagolii della partorientente. In alcune gatte la temperatura rettale si abbassa e l'appetito può diminuire o sparire del tutto, mentre in altre permane ed esse possono mangiare anche negli intervalli fra un'espulsione e l'altra. (Christiansen, 1987)

Crescono i livelli nel sangue di estradiolo e di  $\text{PGF}_{2\alpha}$  e di conseguenza cala il progesterone. Questi eventi avviano le contrazioni uterine che spingono il primo feto verso la cervice. La pressione applicata su quest'ultima determina l'attivazione dell'asse ipotalamo-ipofisi ed il rilascio di ossitocina che incrementa gli spasmi miometriali, permettendo l'entrata del feto nel canale del parto. La relaxina, inoltre, promuove il rilassamento dei legamenti pelvici e diminuisce la tonicità del tessuto connettivo della cervice. (Senger, 2003)

Successivamente ha inizio la seconda fase, quella espulsiva. Dopo la rottura delle membrane fetali, la nascita del primo gattino fa seguito molto rapidamente a 3-4 contrazioni nel giro di altrettanti minuti, sebbene essa si possa verificare anche dopo 30-60 minuti. La gatta di solito lecca vigorosamente il piccolo per rimuovere le membrane fetali dal muso e per promuovere la respirazione e la circolazione e recide il cordone ombelicale. Alcune si puliscono prima di prestare attenzione ai cuccioli oppure si limitano al taglio del cordone ombelicale. Raramente si riscontrano casi di cannibalismo. In caso di distribuzione dei feti non equa nelle due corna, il primo che nasce proviene dalla parte con più cuccioli. L'intervallo tra la presentazione dei singoli feti varia da 5 minuti a 1 ora; spesso succede che due gattini nascano subito, uno dietro l'altro, e allora si può registrare un periodo di 10-90 minuti prima che si verifichi un'altra espulsione. In media la fase del travaglio si conclude in 6 ore, ma in alcuni casi si può avere un'interruzione fisiologica del parto, che può durare per 12-24 ore, al termine della quale le contrazioni ripartono ed i gattini rimanenti nascono comunque vivi. (Christiansen, 1987)

Nella terza fase si ha il passaggio delle membrane fetali e della placenta. Il secondo ed il terzo stadio spesso avvengono contemporaneamente, quando nascono due o più cuccioli insieme, poi escono le membrane ed, in seguito, altri gattini. Spesso le gatte mangiano la placenta con lo scopo di mantenere la zona pulita e prevenire la predazione (comportamento innato). Questo modo di agire potrebbe provocare loro una gastroenterite con vomito ed inappetenza per cui sarebbe opportuno rimuovere le membrane dalla cesta. (Kustritz, 2005)

**SECONDA PARTE:**

**DETERMINAZIONE DELLA GRAVIDANZA E**  
**STIMA DELL'ETA' GESTAZIONALE**



## **4. VALUTAZIONE ECOGRAFICA**

### **4.1 TECNICA ECOGRAFICA**

L'ecografia è una tecnica sempre più utilizzata durante l'esame ginecologico dei piccoli animali, cani e gatti. E' un metodo sicuro, non invasivo e poco costoso che offre un'alternativa valida all'esame radiografico. Per quanto riguarda la gatta permette di eseguire una diagnosi precoce di gravidanza al 10° giorno dopo l'accoppiamento, di valutare la vitalità fetale ed eventuali anomalie, di calcolare l'età gestazionale, di stabilire il sesso dei feti e di provare a contarne il numero seppur con minor precisione rispetto all'esame radiografico. (Zambelli & Prati, 2006) Risulta, inoltre, importante dal punto di vista clinico per valutare eventuali problemi d'infertilità e disordini dell'apparato urogenitale, permettendo, infatti, di discriminare tra un utero ingrandito perché affetto da piometra, gravido o neoplastico. (Thrall, 2002)

L'ecografia si basa sul principio dell'onda pulsata. Durante l'esame, un treno di onde ad alta frequenza viene trasmesso, mediante un trasduttore (sorgente di ultrasuoni), nel corpo dell'animale. Tali ultrasuoni viaggiano nell'organismo finché non incontrano una superficie riflettente, la quale determina il ritorno di una parte di essi alla sorgente. Il trasduttore calcola il tempo trascorso dall'invio delle pulsazioni al loro ritorno, il quale è proporzionale alla distanza percorsa dalle onde e permette, così, di conoscere la posizione della struttura riflettente. La durata e la lunghezza dei treni di onde sono in stretta correlazione con la loro frequenza (numero di cicli al secondo). Minore è la frequenza, più grande è la distanza percorsa dalle onde, mentre maggiore è la frequenza, più basso è il potere di penetrazione delle onde, ma migliore è la risoluzione. La quantità di pulsazioni che vengono riflesse dipende dalla loro forza iniziale,

dall'abilità della superficie riflettente di trasmettere le onde, dall'angolo di incidenza di esse e dalla grandezza del mezzo di riflessione. Nell'immagine in B-mode la luminosità del segnale è proporzionale all'intensità dell'onda riflessa. Il computer elabora i segnali che si generano e li trasforma in immagini che vengono proiettate sullo schermo come una sorta di film fotografico. L'eco riflesso dalla parte del corpo che si deve esaminare può anche essere visualizzato su un grafico che valuta i movimenti in funzione del tempo. Si tratta della modalità M-mode che viene utilizzata soprattutto in cardiologia per studiare il movimento delle pareti cardiache o dei vasi. L'immagine ottenuta in A-mode, infine, si utilizza, invece, in oculistica perché molto sensibile e precisa. Le sonde possono essere meccaniche od elettroniche. Le prime sono costituite da un unico cristallo che si muove velocemente avanti ed indietro, mentre le seconde presentano molti cristalli attivati elettronicamente ed in sequenza. Le sonde si dividono, inoltre, in lineari, settoriali o convesse. (Burk & Ackerman, 1996)



## 4.2 ESAME DELL'APPARATO RIPRODUTTORE

Al fine di un corretto esame ecografico, in generale ed in particolare per la valutazione dell'apparato riproduttore, concorrono numerosi fattori. Sono importanti l'esperienza dell'ecografista, ma anche la qualità della risoluzione dell'apparecchio ecografico. La scelta della frequenza e del tipo di trasduttore sono fondamentali in quanto, per esempio, i movimenti fetali ed il battito cardiaco si rivelano prima con una sonda ad alta frequenza (5-10MHz) che con una a bassa frequenza (3,5 MHz). (Nautrup & Tobias, 2001) Per l'esame dell'apparato riproduttore viene, quindi, preferibilmente utilizzata una sonda settoriale (o lineare o convessa) transcutanea di 7,5-10 MHz posizionata esternamente contro la parete addominale. Per ottenere un'immagine di ottima qualità è importante, inoltre, che la sonda sia posta direttamente a contatto con la pelle del paziente senza interposizione di aria che impedisce, invece, il corretto passaggio delle onde. Per questa ragione il soggetto viene rasato, tra le due fila di mammelle, dall'ombelico fino cranialmente al pube e viene utilizzato un gel apposito. Il respiro affannoso può anch'esso causare dei disturbi nella visualizzazione dell'immagine, i quali, solitamente, si superano tappando temporaneamente la bocca od il muso della gatta. L'animale viene posto in decubito laterale o dorsale ed in quest'ultimo caso si deve tenere conto che, in gravidanza avanzata, la pressione dei feti sui grossi vasi addominali potrebbe dare dei disturbi alla circolazione. (Kahn, 1992) Un'altra possibilità è quella di sistemare la gatta sopra un'apertura ovale del tavolo e di ecografarla da sotto, attraverso il foro stesso, oppure di tenere il paziente in braccio in modo tale che si rilassi e accetti l'esame. (Nautrup & Tobias, 2001) L'utero è un organo cavo, definito muscolomembranoso, composto da una porzione caudale, che comprende cervice, collo e corpo uterino e da una craniale formata dalle due corna dell'utero che si biforcano cranialmente rispetto all'apice della vescica urinaria e decorrono fino alla regione ovarica destra e sinistra. Per

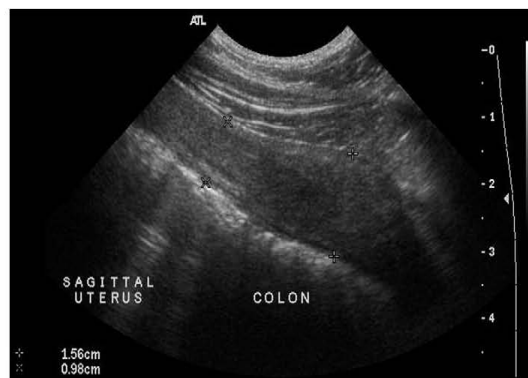
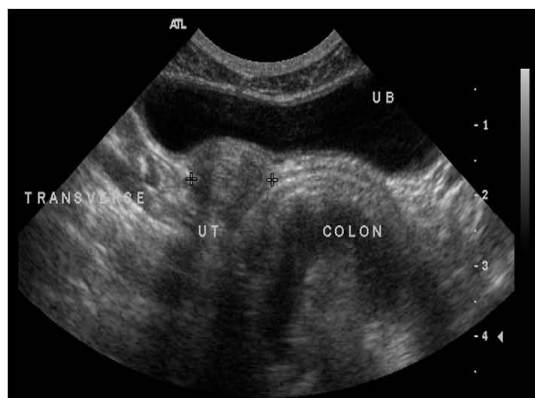
ottenere un'immagine dell'utero la sonda viene posta tra le due file di mammelle e diretta ventrodorsalmente di fronte al pube. Seguendo questa tecnica l'immagine più vicina alla sonda origina dalla parte ventrale dell'addome, mentre quella più distante proviene dalla regione dorsale. E' indispensabile un approccio sistematico se si vuole ottenere un esame il più possibile corretto. (Kahn, 1992)

La prima cosa che viene visualizzata all'interno della pelvi è la vescica. Quest'ultima, da piena, agisce come finestra acustica per migliorare la valutazione dell'utero. Il suo contenuto fluido, infatti, determina l'amplificazione degli ultrasuoni che l'attraversano facilitando così l'osservazione degli organi dietro essa. Per questo motivo dovrebbe essere sempre suggerito al proprietario di non lasciare urinare l'animale prima dell'esame. La cervice ed il corpo dell'utero, con una scansione trasversa, appaiono come una struttura ovale ipoecogena posta dorsalmente alla vescica anecogena e ventralmente al colon iperecogeno. Una conferma che questa struttura sia proprio il corpo dell'utero piuttosto che il corno è data dal fatto che spostandosi caudalmente, ad un certo punto, l'immagine dell'utero viene sormontata dal cono d'ombra prodotto dal pube. La cervice si trova cranialmente al trigono vescicale e la sua visualizzazione risulta più difficile in anestro rispetto a quando subisce l'influenza ormonale. Nella scansione sagittale appare come una struttura obliqua, lineare ed iperecoica. Il corpo dell'utero presenta, invece, un diametro più piccolo, raggiunge il terzo craniale della vescica e termina biforcandosi nelle due corna. Non è semplice da visualizzare a meno che non sia, anch'esso, stimolato ormonalmente durante il ciclo estrale, la gravidanza o in corso di patologie. L'utero si esamina considerando la presenza/assenza di fluido nel lume e le caratteristiche della parete endometriale che solitamente è soffice ed uniforme e costituita da tre strati: la tonaca mucosa, muscolare e sierosa. L'endometrio ed il miometrio, normalmente, non si riescono a differenziare, così come è difficile vedere il lume uterino. Talvolta si nota, però, una certa

ecogenicità centrale, se è presente un po' di muco, o una regione ipoecogena-aneogena, se c'è del fluido. L'aspetto cambia, fisiologicamente, nelle diverse fasi del ciclo estrale: in anestro il corpo dell'utero è uniforme, privo di fluido nel lume e di modificazioni della parete endometriale; in proestro ed estro, sotto l'influenza degli estrogeni, si ispessisce e presenta un po' di liquido nel lume; in diestro, per azione del progesterone, si ingrossa sempre più e si sviluppano le ghiandole endometriali. Le ovaie, infine, sono due organi parenchimali di piccole dimensioni, localizzati caudalmente e leggermente lateralmente al polo caudale dei reni ipsilaterali. (Davidson & Baker, 2009) Come punti di riferimento topografici, si considerano per l'ovaio sinistro l'aorta, il polo vascolare ed il polo caudale del rene sinistro, mentre per il destro la vena cava ed il polo caudale del rene destro. Dal momento che sono strutture superficiali, la risoluzione ecografica migliore si ottiene con l'utilizzo di sonde ad elevata frequenza (5,7,5,10 MHz); normalmente si utilizzano le settoriali e le microconvex da 7,5 MHz che sono molto maneggevoli e adatte ai piccoli pazienti. (Bargellini et al., 2007) L'aspetto delle ovaie varia fisiologicamente in funzione delle fasi del ciclo estrale: in anestro si presentano ovali, piccole e con un'ecogenicità omogenea simile a quella della corticale renale, in quanto i follicoli sono troppo piccoli per poter essere valutati; in proestro sono facilmente rilevabili follicoli multipli con contenuto anecogeno e la superficie delle ovaie appare irregolare; in estro i follicoli crescono sempre più e si trasformano in corpi emorragici iperecogeni; in diestro le ovaie si presentano lobulari con corpi lutei ipoecogeni di diverse dimensioni. (Davidson e Baker, 2009)

Un'esame standardizzato dell'apparato genitale permette di valutare se le variazioni dalla norma siano da imputare ad eventi che fisiologicamente coinvolgono il sistema riproduttivo (fasi del ciclo estrale, gravidanza) od a condizioni patologiche (cisti ovariche, piometra, neoplasie).

*Fig.13: Immagine del corpo dell'utero in scansione trasversale (cursori)*      *Fig.14: Immagine della cervice in scansione sagittale (cursori)*



UT: corpo dell'utero  
UB: vescica urinaria

*Modificate da Davidson & Baker, 2009*

*Fig.15: Immagine del corpo dell'utero in anestro (cursori)*



Utero omogeneo e senza fluido nel lume.

*Modificata da Davidson & Baker, 2009*

*Fig.16: Immagine del corpo dell'utero in proestro/estro (cursori)*



Utero leggermente ispessito con un po' di fluido nel lume

*Fig.17: Immagine del corpo dell'utero in diestro (cursori)*



Utero molto ispessito con un po' di fluido nel lume

*Modificate da Davidson & Baker, 2009*

### 4.3 DIAGNOSI DI GRAVIDANZA

La diagnosi di gravidanza nella gatta può essere eseguita utilizzando diversi metodi: la palpazione addominale, la radiografia e l'ecografia. I test di laboratorio, che normalmente sono utilizzati per la diagnosi di gravidanza negli altri animali domestici, non sono applicabili alla gatta. (Zambelli & Prati, 2006)

L'ecografia risulta essere il metodo che prima permette di eseguire una diagnosi. Mediante attenta palpazione addominale, infatti, si possono valutare le vescicole embrionali dal 21° al 35° giorno dopo l'accoppiamento, quando cioè la forma dell'utero risulta ottimale per tale scopo. Successivamente i singoli sacchi gestazionali non sono più riconoscibili perché l'utero subisce un ingrandimento generalizzato. La radiografia permette una diagnosi certa di gravidanza ancora più avanti, tra il 36° e il 45° giorno dopo l'accoppiamento, cioè quando la mineralizzazione fetale diviene evidente. (Nyland & Mattoon, 1995) Dal 17°-21° giorno di gravidanza radiograficamente sono visibili le vescicole embrionali come dimostra uno studio eseguito da Tiedemann & Henschel nel 1973, ma oggi risulta inutile sottoporre a radiazioni gli embrioni in crescita, dal momento che è possibile eseguire una diagnosi ancor più precoce grazie alla tecnica ecografica. Sin dal 4° giorno dopo l'accoppiamento si può notare ecograficamente una fisiologica iperplasia dell'utero che è tipica, però, dell'instaurarsi di una gravidanza così come di una gatta semplicemente in diestro. Dal 10° giorno di gravidanza diventa visibile, invece, la camera gestazionale che si presenta inizialmente piccola, circolare ed anecogena e poi cresce progressivamente di dimensioni da 6,9mm fino a circa 35,7mm a 30 giorni. A 16 giorni si distinguono facilmente la placenta e l'embrione, che protrude nella cavità. A 25 giorni si riesce a visualizzare anche il carattere zonato della placenta ed, in contrasto con quanto avviene in humana, nessuno studio ha riportato una

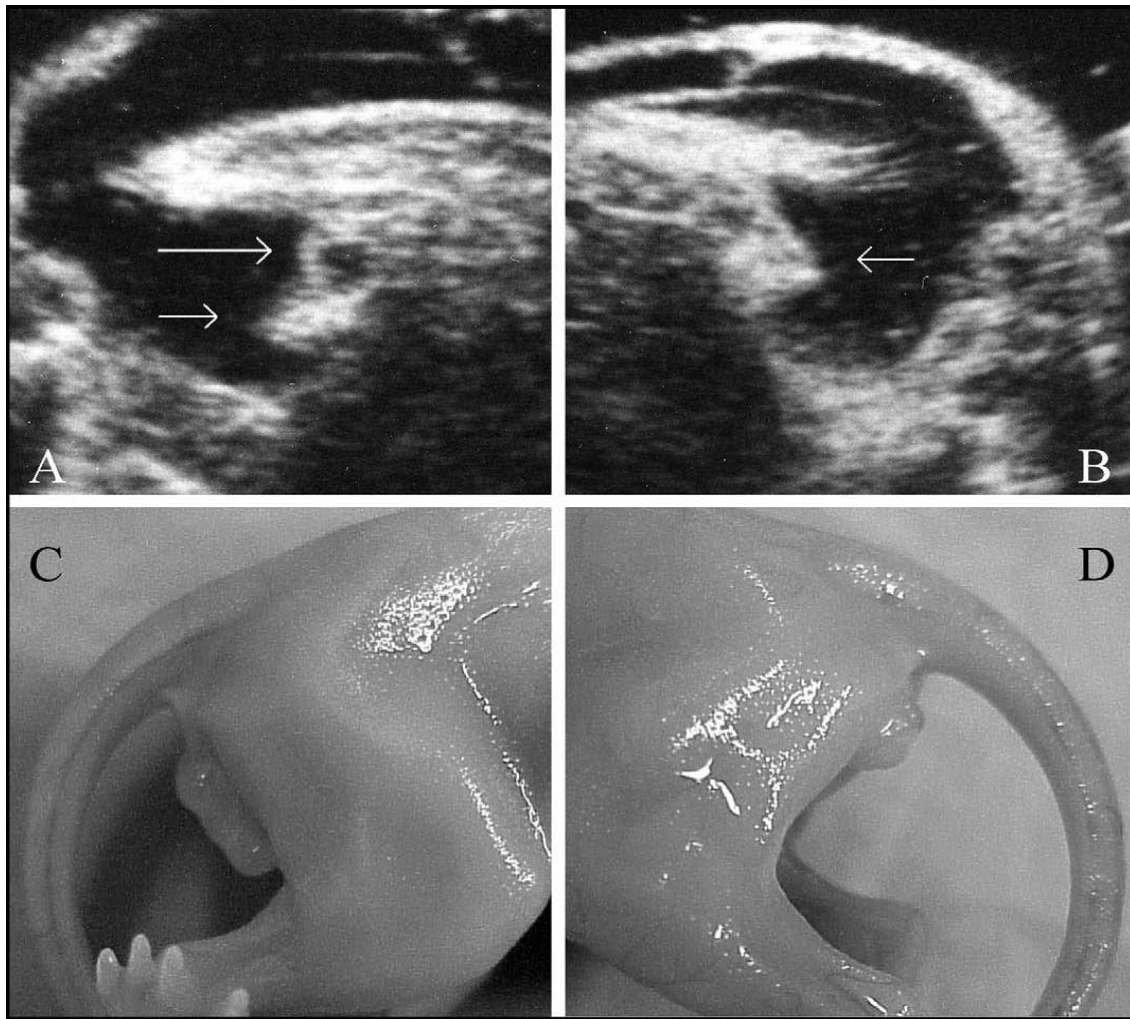
variazione nell'immagine ecografia di quest'ultima nell'intera durata della gravidanza. A 30 giorni si riescono a riconoscere i diversi organi fetali e diventa, perciò, possibile rilevare eventuali malformazioni fetali. (Zambelli & Prati, 2006)

Si deve sempre considerare, però, la possibilità che altre strutture rendano la diagnosi di gravidanza errata; le camere gestazionali possono, infatti, essere confuse con sezioni trasverse dei grossi vasi adiacenti all'utero o delle anse intestinali. Con la valutazione in 3-D si riesce a distinguere la forma longitudinale dei vasi da quella sferica del sacco gestazionale e a valutare le pulsazioni dei vasi ed i movimenti peristaltici dell'intestino. (Kahn, 1992)

Per quanto riguarda, invece, la capacità di contare il numero di feti l'ecografia risulta meno precisa della radiografia, soprattutto in gravidanza avanzata. Il problema principale sta nel fatto che con una singola scansione ecografica si visualizza solo una parte del tratto riproduttivo della gatta, per cui spostandosi si rischia di contare lo stesso feto più volte e di saltarne altri. Il momento migliore per provare a stimare il numero di feti, comunque, è dai 28 ai 35 giorni di gravidanza quando essi sono ben visibili, ma non ancora troppo grandi e sovrapposti l'uno all'altro. Si inizia dalla biforcazione dell'utero, valutando prima un corno e poi l'altro con una scansione trasversa, procedendo da caudalmente a cranialmente. (Nyland & Matton, 1995)

Ecograficamente si riesce anche a determinare il sesso dei feti; ciò risulta possibile dal 38°-43° giorno di gravidanza, mentre in seguito diventa più difficile in quanto la coda aderisce maggiormente agli arti posteriori e diminuiscono i fluidi fetali intorno al perineo. (Zambelli & Prati, 2006)

*Fig.18: Determinazione ecografia del sesso*



- A:** Ecografia dei genitali esterni di un feto maschio di 40 giorni in sezione sagittale. Si vedono il prepuzio(freccia corta) e lo scroto (freccia lunga)  
**B:** Ecografia dei genitali esterni di un feto femmina di 41 giorni in sezione sagittale.  
**C:** Aspetto dei genitali esterni di un feto maschio di 43 giorni fissato in formalina.  
**D:** Aspetto dei genitali esterni di un feto femmina di 43 giorni fissato in formalina.

*Modificata da Zambelli et al., 2004*



#### **4.4 VARIAZIONI ECOGRAFICHE NELLE DIVERSE FASI DELLA GRAVIDANZA**

L'utilizzo della tecnica ecografica permette di eseguire, sui piccoli animali, esami diagnostici sempre più sofisticati e sensibili grazie all'eccellente qualità delle moderne apparecchiature. Per poter interpretare correttamente le immagini risulta, però, fondamentale un'ottima conoscenza della normale anatomia che si visualizza ecograficamente in modo tale da rendersi subito conto di eventuali variazioni dalla norma. Per quanto riguarda l'esame ginecologico in corso di gravidanza diventa, quindi, indispensabile conoscere i diversi stadi di crescita embrionale e fetale ed i tempi e i modi con cui questi vengono visualizzati ecograficamente. Le conoscenze anatomiche si integrano, quindi, con quelle ecografiche con lo scopo di eseguire un monitoraggio clinico accurato del normale corso della gravidanza, di identificare difetti di sviluppo e di accorgersi di eventuali stati di sofferenza embrionale/fetale. In questo senso sono stati eseguiti diversi studi sulle varie specie domestiche e sugli animali da laboratorio, mentre la letteratura, per quanto riguarda il gatto, è piuttosto scarna. I lavori di Davidson et al. (1986) e Grof et al. (1993) sono un po' datati, e non hanno fornito dati sufficienti per poter correttamente valutare il corso dell'intera gravidanza ecograficamente. Zambelli et al. nel 2002, hanno, invece, esaminato progressivamente delle gatte in diversi stadi di gravidanza riuscendo a raccogliere dati anatomici ed ecografici sullo sviluppo prenatale dei gatti. Sono state oggetto di studio 16 gatte di proprietari privati; 3 di queste sono state valutate ecograficamente dal 4° giorno di gravidanza sino al parto, mentre le restanti 13 sono state ecografate una sola volta, prima di eseguire l'ovarioisterectomia, ognuna in giorni diversi della gravidanza. Questo ha permesso di confrontare i dati ecografici con quelli anatomici reali e di confermare o meno la loro veridicità.

## *UTERO-CAMERA GESTAZIONALE-PLACENTA*

Un endometrio ipoecoico con aumento di volume ed edema risulta visibile dal 4° giorno dopo l'accoppiamento, ma ciò non è un indicatore specifico di gravidanza dal momento che un simile aspetto dell'utero si riscontra anche durante il diestro. (Davidson et al., 1986; Zambelli et al., 2002) Il primo vero segnale che conferma la gravidanza è l'identificazione del sacco gestazionale, possibile dal 10° giorno. (Zambelli et al., 2002) Tale valore è antecedente rispetto a quello riportato da Davidson et al., 1986 e da Grof et al., 1993. La camera gestazionale appare come una struttura circolare anecogena ed è occupata dal solo sacco vitellino in quanto la placenta e l'embrione non risultano ancora visibili. Al 14° giorno la camera gestazionale si presenta sempre circolare, ma con una parete iperecogena rispetto a quella uterina. Al 16° giorno compare la placenta che appare come una struttura stratificata, composta da due linee iperecogene separate da una ipoecogena; questa ipoecogenicità è dovuta inizialmente alla presenza di un endometrio iperplastico ed in seguito allo sviluppo della vascolarizzazione locale. Al 20° giorno la camera gestazionale, che nel frattempo è cresciuta progressivamente di diametro, assume la classica forma di limone e dal 45° giorno diventa cilindrica. Dal 25° giorno si rende evidente il carattere zonato della placenta che occupa l'intera superficie della camera gestazionale eccetto i due poli ed il cui aspetto si mantiene tale per tutto il corso della gravidanza anche se dopo il 40°-45° giorno è più difficile da apprezzare. (Zambelli et al., 2002)

*Fig.18: Camera Gestazionale*



C: camera gestazionale vista mediante sezione longitudinale dell'utero. 10° giorno di gravidanza

*Modificata da Zambelli et al.,2002*

### *EMBRIONE E FETO*

L'embrione risulta visibile per la prima volta al 14° giorno di gravidanza ed inizialmente appare come un ispessimento interno della camera gestazionale, mentre, dal 16° giorno, esso protrude chiaramente nella cavità. Al 17° giorno si stacca completamente dalla parete della camera, rimanendo comunque in prossimità di essa ed anche se il suo aspetto non è ancora ben definito, inizia ad assumere una forma curvilinea. L'attività cardiaca può, già, essere valutata e questo permette di assicurarsi della vitalità dei cuccioli. Al 18° giorno l'embrione assume una forma a C e diventano visibili le gemme della testa, del tronco e degli arti toracici che si presentano iperecogeni. Al 20° giorno, seguendo lo sviluppo dell'allantoide, l'embrione ancora ripiegato su se stesso, si muove verso il centro della camera gestazionale e dal 22° giorno si colloca vicino alla parete opposta. In questa posizione esso prosegue il suo sviluppo e dal 26° giorno assume

la sua forma definitiva presentando il suo asse maggiore parallelo a quello della camera gestazionale e, quindi, anche al corno uterino. Al 30° giorno, all'interno del corpo embrionale si visualizza una struttura dorsale, sagittale e tubulare con una parete iperecoica ed un contenuto anecoico che corrisponde al tubo neurale primitivo. A livello della testa, si nota anche un'area anecogena che rappresenta la vescicola encefalica primitiva e sempre a quest'altezza e nella zona degli arti toracici si rivelano delle aree iperecogene senza finestre acustiche che corrispondono alle gemme di alcune ossa facciali e delle diafisi delle ossa lunghe delle zampe anteriori. Dopo il 30° giorno si visualizzano come strutture ben definite il cuore, il fegato ed i polmoni che prima presentavano invece tutti un'ecogenicità simile a causa del notevole contenuto d'acqua di questi organi in crescita, del grasso e della presenza di grossi vasi che inizialmente non si riescono a distinguere. Dal 29°-30° giorno compare anche la vescica urinaria che si presenta come un'area puntiforme anecogena posta cranialmente agli arti posteriori e vicino al cordone ombelicale. (Zambelli et al., 2002) Tale valore è antecedente rispetto a quello riportato da Nyland & Mattoon, 1995. Le dimensioni della vescica urinaria variano in funzione dello stato di replezione. Lo stomaco, piccolo e anecogeno, si trova dorsalmente alla vescica ed al fegato, che occupa quasi tutta la cavità addominale. Dal 33° giorno sono visibili i primi movimenti fetali, ma è dal 37° giorno che questi diventano molto evidenti con flessione ed estensione di testa, collo ed arti. Al 50° giorno si visualizzano anche i movimenti della lingua, della bocca che si apre e si chiude e del diaframma. Al 35° giorno si vedono i cuscinetti dei piedi ed a livello della testa compaiono due aree circolari anecogene che corrispondono agli occhi. (Zambelli et al., 2002) Tale valore è posteriore rispetto a quello riportato da Grof et al., 1993. All'interno degli occhi ed in posizione rostrale dal 50° giorno sono visibili due strutture iperecogene, le lenti del cristallino. Dal 40° giorno si distingue il plesso coroideo cerebrale che corrisponde a due strutture simmetriche iperecogene

nel cranio. I reni sono visibili per la prima volta dal 39° giorno, si presentano di forma ellittica, isoecogeni al fegato e posti ventrolateralmente alla colonna vertebrale. Fino al 50° giorno non è dato distinguere la corticale renale dalla midollare e soltanto verso il 60° giorno essi assumono la loro struttura definitiva. Dal 40° giorno compare un'area ipoecogena al fegato e di ugual dimensioni che corrisponde al piccolo ed al grande intestino. La stratificazione della parete intestinale si visualizza, però, solo dal 54° giorno. Dal 40° giorno la colonna vertebrale appare suddivisa in vertebre. Tutte le ossa dal 42° giorno diventano iperecogene e dal 50° mostrano coni d'ombra posteriori. (Zambelli et al., 2002) Tale valore è posteriore rispetto a quello riportato da Grof et al., 1993, probabilmente per la difficoltà nel rilevare le finestre acustiche nella fase iniziale. Mentre la diafisi delle ossa lunghe appare iperecogena, l'epifisi è ipoecogena fino alla fine della gravidanza. Al 49° giorno lo stomaco, che sta progressivamente sviluppandosi, si porta da dorsale a caudale al fegato e dal 54° giorno mostra delle piccole macchie iperecogene sulla parete che probabilmente corrispondono alle pieghe della mucosa gastrica. La cistifellea appare, invece, come una struttura anecogena. Dal 50° giorno si possono distinguere le singole camere cardiache, mentre i grossi vasi compaiono già dal 42° giorno come delle strutture tubulari, anecogene localizzate ventralmente alla colonna vertebrale ed in connessione con il cuore ed il fegato. Nello stesso periodo diventano visibili anche i vasi ombelicali che si diramano dal fegato. Quest'ultimo appare sempre ipoecogeno rispetto ai polmoni dai quali è separato mediante il diaframma che si rende visibile dal 50° giorno come una linea ipoecogena. (Zambelli et al., 2002)

## *MEMBRANE FETALI*

La camera gestazionale al 10° giorno di gravidanza è occupata solo dal sacco vitellino, mentre al 18° giorno quest'ultimo si trova ventralmente all'embrione, mentre caudalmente compare l'allantoide che si presenta come una piccola area anecogena, di forma circolare. Al 20° giorno queste strutture raggiungono le stesse dimensioni e si visualizza anche l'amnios come una piccola area anecogena. Al 22° giorno il sacco vitellino si presenta più piccolo dell'amnios e si pone ventralmente ad esso, mentre il resto della camera gestazionale è occupato dall'allantoide. Al 25° giorno l'amnios ed il sacco vitellino raggiungono lo stesso volume e quest'ultimo assume una forma tubulare e si fissa ai poli della camera gestazionale. Tutte le membrane fetale si possono vedere con facilità fino al 30° giorno e con un po' più di difficoltà fino al 45° giorno. Dal 35° giorno, però, esse si ingrandiscono ed assumono una forma differente rispetto agli stadi precoci di gravidanza. Il sacco vitellino, già più piccolo rispetto alle altre membrane, dopo il 30° giorno diventa meno visibile fino a scomparire del tutto ecograficamente, al 40° giorno. Dal 45° giorno l'amnios si visualizza soltanto con una scansione tra i due arti, tra la coda e gli arti posteriori o tra la testa e gli arti anteriori. Dopo il 50° giorno il fluido allantoideo si vede solo in piccole aree attorno al feto, mentre dal 55° giorno si vedono nell'amnios piccole strutture mobili ecogene, che probabilmente corrispondono a meconio. (Zambelli et al., 2002)

*Fig.19: Tempi di apparizione ecografica e conseguente sviluppo di alcune strutture fetali ed extrafetali durante i primi 30 giorni di gravidanza della gatta*

		media	range
Camera gestazionale	Forma sferica	10	10-11
	Forma a limone	20	19-21
Parete uterina	Endometrio ipoecogeno	4	3-5
	Placenta stratificata	16	15-17
	Placenta zonata	25	24-26
Posizione dell'embrione	Sulla parete della camera gestazionale	14	13-16
	Sporgente dalla camera gestazionale	16	15-17
	Separato dalla parete della camera	17	16-18
	Al centro della camera	20	19-21
	Asse dell'embrione parallelo all'asse del corno	26	25-28
Membrane fetali	Sacco vitellino	10	10-11
	Allantoide	18	17-19
	Sacco vitellino ed allantoide di pari dimensioni	20	19-21
	Amnios	20	20-21
	Amnios e sacco vitellino di pari dimensioni	25	24-25
	Sacco vitellino di forma tubulare	25	25-27
Embrione e feto	Cuore che batte	16-17	16-18
	Forma a C	18	17-19
	Gemme degli arti toracici	18	17-19
	Forma definitiva	26	24-27
	Tubo dorsale sagittale	30	26-30
	Area anecogena a livello della testa	30	26-30
	Stomaco (puntiforme)	30	29-30
	Vescica (puntiforme)	29-30	29-32
	Polmoni iperecogeni vs fegato	30	29-32
	Cordone ombelicale	30	30-32
	Scheletro iperecogeno (ossa lunghe, arti ant, e testa)	30	30-33
	Movimenti fetali (latero-laterali)	30	30-34

*Modificata da Zambelli et al., 2002*

*Fig.20: Tempi di apparizione ecografia e conseguente sviluppo di alcune strutture fetali ed extrafetali nella seconda metà della gravidanza della gatta.*

Stomaco	Dorsale al fegato	30	30-32
	Caudale al fegato	49	48-50
	Pieghe gastriche	54	54-57
Intestino	Compare	40	38-42
	Struttura stratificata	54	52-56
Occhi	Compaiono	35	35-39
	Lenti del cristallino	50	47-50
Scheletro	Vertebre	40	35-40
	Ossificazione: diafisi delle ossa lunghe	50	48-50
Movimenti fetali	Flessione dorso-ventrale	33	32-35
	Arti,collo,testa	37	37-40
	Bocca e lingua	50	48-52
Reni	Isoecogeni col fegato	39	38-41
	Corticale e midollare	50	48-50
Apparato cardio-vascolare	Camere cardiache	50	48-50
	Vasi maggiori	42	40-44
Diaframma		50	50-56
Cuscinetti podali		35	33-35
Plesso coroideo		40	38-42

*Modificata da Zambelli et al., 2002*



#### **4.5 MISURE FETOMETRICHE E LORO UTILIZZO PER STIMARE L'ETA' GESTAZIONALE**

I diversi stadi di sviluppo prenatale sono stati studiati accuratamente in molte specie di animali domestici e di laboratorio, mentre nel gatto i lavori sono pochi. La conoscenza dello sviluppo anatomico prenatale è fondamentale per poter risalire all'età gestazionale mediante l'utilizzo della tecnica ecografica e di quella radiografica.

Nel 1973 Evans & Sack hanno studiato lo sviluppo prenatale di diverse specie animali, incluso il gatto, ed hanno elaborato delle curve di crescita, specificando in ordine cronologico la data della comparsa di determinate caratteristiche esterne. Nel 1975 Nelson & Cooper hanno valutato il contributo del peso di feto, fluidi fetali e placenta rispetto al peso totale del prodotto del concepimento nelle diverse fasi della gravidanza ed hanno trovato una relazione tra peso fetale, CRL (distanza cranio-parte caudale del bacino) ed età gestazionale. Nel 1971 Boyd ha eseguito uno studio mettendo in relazione il CRL fetale con lo stadio della gravidanza e stimando, poi, l'età radiografica di comparsa di diverse strutture scheletriche visibili dal momento della mineralizzazione ossea. Nel 1973 Tiedemann & Henschel hanno esaminato radiograficamente le variazioni di dimensione della camera gestazionale, nella prima metà della gravidanza, mettendole sempre in relazione con la data dall'accoppiamento. Successivamente nel 1986 Davidson et al., nel 1990 Beck et al. e nel 1993 Grof et al., hanno studiato la connessione tra le misure delle strutture visibili ecograficamente e l'età dei feti. Nel 2002 Zambelli et al. hanno valutato la relazione tra le misure ecografiche del diametro interno ed esterno del sacco gestazionale e del CRL dell'embrione/feto e l'età gestazionale nella prima metà della gravidanza. Nel 2004 Zambelli et al. hanno stimato le misure ecografiche dei diametri addominale, gastrico e biparietale correlandole sempre all'età. Beccaglia et al., poi, nel 2008

hanno valutato la possibilità di utilizzare le misure ecografiche del DPTV (porzione profonda della vescicola diencefalo-telencefalica) per stimare il momento gestazionale.

I lavori più recenti, sono quelli di Nyland & Mattoon, nel 1995, che riprendendo gli studi di Beck et al. (1990), per il gatto, e di England et al. (1990) e Yeager et al. (1992), per il cane, hanno proposto dei metodi per stimare la data del parto a partire da opportune misure ottenute ecograficamente ed i lavori di Zambelli et al. (2002 e 2004) e di Beccaglia et al. (2008) che hanno ottenuto buoni dati per il monitoraggio clinico della gravidanza e la stima dell'età.

Nyland & Mattoon hanno sviluppato delle formule, facili da applicare, che permettono di predire la data del parto basandosi sui precedenti lavori già citati. Nel cane, per loro, è possibile stimare l'età anche nella prima fase della gravidanza, mentre nel gatto solo dopo i 40 giorni di gestazione. Nel cane la misura ecografica migliore per predire l'età gestazionale tra i 20 ed i 37 giorni è considerata quella del diametro del sacco gestazionale (GSD), mentre dai 38 ai 60 il diametro biparietale (HD), anche se sia la distanza cranio-coccige (CRL) che il diametro addominale (BD) risultano utili. Il CRL viene considerato, da loro, difficile da valutare dopo i 48 giorni a causa dei movimenti e della sovrapposizione fetale. Nel gatto, dopo i 40 giorni, viene utilizzata la misura del diametro biparietale e di quello addominale, tenendo presente che quest'ultimo cresce più rapidamente del primo in questa fase.

Le formule per quanto riguarda il cane sono:

*Età gestazionale (+/- 3 giorni) a meno di 40 giorni:*

$$GA = (6 \times GDS) + 20$$

$$GA = (3 \times CRL) + 27$$

*Età gestazionale (+/- 3 giorni) a più di 40 giorni:*

$$GA = (15 \times HD) + 20$$

$$GA = (7 \times BD) + 29$$

$$GA = (6 \times HD) + (3 \times BD) + 30$$

*Giorni dal parto:*

$$DBP = 65 - GA$$

Per il gatto, invece, sono:

*Età gestazionale (+/- 2 giorni) a più di 40 giorni:*

$$GA = 25 \times HD + 3$$

$$GA = 11 \times BD + 21$$

*Giorni dal parto:*

$$DBP = 61 - GA$$

Il diametro del sacco gestazionale (GSD), la distanza cranio-coccige (CRL), il diametro biparietale (HD) ed il diametro addominale (BD) sono espressi in cm. L'età gestazionale (GA) viene calcolata dai giorni dopo il picco di LH nel cane e dai giorni dopo l'accoppiamento nel gatto. I giorni prima del parto (DBP) vengono considerati 65 +/- 1 dal giorno dopo il picco di LH nel cane e 61 dopo l'accoppiamento nel gatto. L'HD è misurato in sezione trasversale, mentre il BD si ottiene sempre in un piano trasverso valutato a livello del fegato.

Zambelli et al. nel 2002 hanno, invece, studiato un gruppo di 12 gatte gravide, con data di accoppiamento nota, esaminandole ecograficamente, con lo scopo di ottenere, per la prima metà della gravidanza, dei dati utili da utilizzare per il monitoraggio clinico della gestazione e per la stima dell'età gestazionale. Sono stati adoperati come parametri il diametro interno del sacco gestazionale (ICC), il diametro esterno del sacco gestazionale (ECC) ed il CRL. Dieci gatte sono state sottoposte ad ovarioisterectomia in momenti specifici della gravidanza, con lo scopo di confrontare le misure ecografiche con quelle reali, mentre 2 gatte hanno portato a termine la gestazione. Otto di loro sono state sottoposte ad ecografia (misurando i parametri di un cucciolo per lato dell'addome materno) e poi all'intervento chirurgico il giorno 10, 14, 16, 18, 20, 22, 25 dopo l'accoppiamento, mentre due il giorno 30. Dopo l'operazione i sacchi gestazionali e gli embrioni/feti sono stati subito misurati con un calibro per confrontare i dati ecografici con quelli macroscopici. I valori trovati sono stati messi in relazione usando un test di regressione lineare che ha mostrato come le misure ecografiche ed anatomiche fossero correlate positivamente e confermando quindi l'accuratezza dell'ecografia nel calcolare i parametri. La media dei valori ecografici dell'ECC, dell' ICC e del CRL è stata, infine, messa in relazione con l'età gestazionale usando lo Spearman rank order test. Sono state ottenute , così, 3 equazioni lineari applicando le quali si può ottenere la stima della data della gravidanza.

*Età gestazionale nella prima metà della gravidanza della gatta:*

$$GA = (CRL + 31,43) / 2,0087$$

$$GA = (ECC + 12,13) / 1,602$$

$$GA = (ICC + 11,566) / 1,368$$

$$GA = \text{età gestazionale}$$

Il diametro esterno del sacco gestazionale (ECC), il diametro interno del sacco gestazionale (ICC) e la distanza cranio-coccige (CRL) sono espressi in mm. Quest'ultima è misurata ecograficamente dal 17° giorno di gravidanza perché prima l'embrione non risulta visibile.

*Fig.21: Media dei valori ecografici dell'ICC, dell' ECC e del CRL e loro correlazione con i giorni dall'accoppiamento.*

Number of days following mating	Number of measured conceptus	Ultrasonographic internal diameter of the gestational sac (mm)	Ultrasonographic external diameter of the gestational sac (mm)	Ultrasonographic length of the embryo/fetus (mm)
10	24	3.51 ± 0.14	6.93 ± 0.07	
14	22	5.12 ± 0.18	8.00 ± 0.04	
16	20	10.26 ± 0.29	11.99 ± 0.06	
17	18	11.42 ± 0.20	14.06 ± 0.08	3.33 ± 0.33
18	16	12.39 ± 0.23	15.40 ± 0.41	5.66 ± 0.44
20	14	17.38 ± 0.37	20.72 ± 1.18	8.74 ± 0.50
22	12	20.42 ± 0.29	24.94 ± 0.93	11.20 ± 0.77
25	10	21.22 ± 0.24	28.64 ± 1.70	17.46 ± 0.72
30	8	26.24 ± 0.30	35.70 ± 1.05	30.18 ± 0.57

*Modificata da Zambelli et al., 2002*

In questo studio Zambelli et al. sono riusciti ad osservare ecograficamente il sacco gestazionale, che si presenta come una struttura sferica, leggermente schiacciata ai poli ed anecogena, dal 10° giorno dall'accoppiamento, mentre l'embrione è stato valutato dal 17° giorno. Questo perché soltanto da questo momento è possibile stimare correttamente la lunghezza dell'embrione, poiché diventano visibili il punto più rostrale del cranio e la base della coda. Il sacco gestazionale viene

misurato, correttamente, nei primi 30 giorni, perché solo in quest'intervallo presenta una forma sferica, mentre successivamente si ingrandisce e diventa deformabile dalla pressione della sonda ecografica. Lo stesso vale per il CRL poiché dopo i 30 giorni il feto si accresce notevolmente e curva e flette di continuo la testa fuorviando la misura. Mentre Davidson et al., 1986, nel loro lavoro, avevano trovato delle considerevoli differenze nel diametro del sacco gestazionale di cuccioli della stessa cucciolata o di gatte diverse, Zambelli et al. hanno trovato dei valori abbastanza omogenei. Concordano entrambi, invece, nel ritenere che le differenze di razza nella taglia dei feti non siano così rilevanti nel gatto, come nel cane. E' fondamentale, comunque, conoscere il periodo della comparsa ed il grado di sviluppo di certe strutture, soprattutto per quelle fasi della gravidanza in cui le misure fetali possono essere influenzate dai parametri materni.

Nel 2004, Zambelli et al., hanno valutato ecograficamente lo sviluppo prenatale dei feti, questa volta, nella seconda metà della gestazione, sottoponendo a studio 8 gatte gravide, con lo scopo di ottenere dati utili per il monitoraggio clinico e la stima dell'età. Sono stati utilizzati, come parametri, la misura ecografica del diametro addominale (AD), gastrico (GD) e biparietale (BP) fetale. Le 8 gatte, di cui era noto il giorno dell'accoppiamento, sono state sottoposte a monitoraggio ecografico, non sedate od anestetizzate, nei giorni 30, 35, 45, 50, 60 di gravidanza e tutte hanno condotto a termine la maternità con successo. Sono stati visualizzati e misurati almeno un feto per ogni lato dell'addome di tutte le gestanti. La misura dell'addome fetale è stata, da loro, ottenuta mediante una sezione trasversa nell'area dello stomaco, quella del diametro biparietale attraverso una sezione frontale del cranio, mettendo in evidenza la "falx cerebri", ed, infine, quella dello stomaco tramite una scansione trasversa nel punto di maggior grandezza della bolla gastrica. E' stata, successivamente, calcolata

la media dei valori delle due misure ottenute per ogni tratto valutato in ciascuna gatta ed è stata stimata la relazione tra queste e l'età gestazionale, mediante il software Mathematica. La correlazione è stata calcolata usando un'analisi di regressione lineare, parabolica ed esponenziale. Dall'equazione di regressione esponenziale, che ha conseguito il coefficiente di regressione più alto per tutti i parametri, Zambelli et al. hanno ottenuto una funzione che permette di calcolare l'età gestazionale.

*Età gestazionale nella seconda metà della gravidanza:*

$$GA = [\log(y/a)]/b$$

GA = età gestazionale

Y = diametro osservato in cm: AD (diametro addominale), GD (diametro gastrico) o BP (diametro biparietale)

Per AD: a = 0,405565; b = 0,0372141

Per GD: a = 0,115113; b = 0,0388901

Per BP: a = 0,483873; b = 0,02756

Zambelli et al. con questo studio hanno trovato che l'analisi di regressione parabolica ed esponenziale presenta coefficienti di regressione più alti della lineare, diversamente da quanto affermato da Beck et al. (1990). La media della durata della gestazione ( 65,75 giorni), del numero di cuccioli ( n =4) e del peso dei feti alla nascita (103,37 g.) corrisponde, invece, ai dati bibliografici.

*Fig.22: Media dei valori ecografici dell'AD, del BP e del GD e loro correlazione con il momento della gravidanza*

Days after mating	Number of measured fetuses	Abdominal diameter (cm)	CV (%)	Biparietal diameter (cm)	CV (%)	Gastric diameter (cm)	CV (%)
30	23	1.32 ± 0.014	0.0005	1.12 ± 0.018	0.0008	0.36 ± 0.010	0.0013
35	21	1.57 ± 0.017	0.0005	1.35 ± 0.010	0.0003	0.47 ± 0.013	0.0012
45	20	1.84 ± 0.038	0.0009	1.53 ± 0.013	0.0003	0.62 ± 0.008	0.0006
50	22	2.81 ± 0.040	0.0006	1.93 ± 0.027	0.0006	0.85 ± 0.008	0.0004
60	19	3.83 ± 0.016	0.0001	2.60 ± 0.020	0.0003	1.18 ± 0.016	0.0005

*Modificata da Zambelli et al., 2004*

Sempre in questo studio hanno effettuato, per la prima volta, la determinazione del sesso attraverso la valutazione ecografica dei genitali esterni al 38°- 43° giorno di gravidanza. Certamente la determinazione del sesso è molto meno importante nel cane e nel gatto che nelle specie unipare, ma è utile per completare l'esame del feto. Come riportato da Curran & Ginther, nel 1993, per la cavalla, il metodo più comune utilizzato per la determinazione del sesso è la localizzazione del tubercolo genitale che durante la differenziazione si muove verso il cordone ombelicale nel maschio e verso la coda nella femmina. Nella gatta, però, tale criterio è difficile da applicare in quanto, in entrambi i sessi, i genitali si trovano vicino alla coda. E' stata eseguita, quindi, una sezione sagittale per valutare il profilo dello scroto e del prepuzio nel maschio e quello della vulva nella femmina. Con il progredire della gravidanza risulta, però, ancora più difficile stimare il sesso, perché la coda aderisce maggiormente agli arti posteriori e si riducono i fluidi fetali.

Nel 2008, Beccaglia et al., hanno eseguito uno studio per valutare il grado di accuratezza della stima della data del parto, nella specie felina, se si utilizza la curva di crescita del diametro biparietale fetale (BP) e della



vescicola diencefalo-telencefalica (DPTV). In precedenti studi, condotti da Beccaglia & Luvoni nel 2004, il DPTV è stato utilizzato per predire la data del parto nel cane. Il DPTV ecograficamente, nella specie canina, si presenta come un'area anecogena, ovoidale, con margini chiaramente definiti, che si visualizza dal 30° all'8° giorno prima del parto. Sette gatte sono state esaminate ecograficamente, una volta alla settimana, dal 25° giorno dopo l'accoppiamento fino al parto, con lo scopo di misurare il BP ed il DPTV. Questi valori sono stati messi in relazione, mediante un'equazione di regressione lineare, con i giorni restanti dal parto. L'equazione ottenuta è stata, poi, utilizzata per calcolare i giorni dal parto e predire l'età gestazionale in un gruppo controllo di 6 gatte gravide sottoposte ad esame ecografico di routine durante la maternità. Il dato ottenuto è stato considerato accurato se la differenza tra la data predetta e quella reale di parto era di 1-2 giorni. Con questo lavoro hanno valutato che, nella specie felina, il DPTV è visibile dal 34° giorno al 1° dal parto e che per predire la data di nascita questo parametro è meno accurato, anche se non così diverso, da quello del BP. Certamente, essendo la gatta un animale ad ovulazione coito-indotta risulta più facile predire il parto nella specie felina che in quella canina, ma è comunque importante per fornire una pronta assistenza in caso di gestazione prolungata.

*Giorni dal parto:*

$$DBP = (BP - 23,39) / 0,47$$

$$DBP = (DPTV - 10,74) / 0,22$$

DBP = giorni dal parto

BP = diametro biparietale

DPTV = diametro vescicola diencefalo-telencefalica.

#### 4.5.1 TECNICA DI MISURAZIONE ECOGRAFICA

Attraverso le misurazioni biometriche è possibile, come descritto nel paragrafo precedente, determinare il periodo di gravidanza e prevedere il momento del parto con buona approssimazione. L'accuratezza delle rilevazioni dipende dalle variazioni individuali di paziente e prodotto del concepimento, dall'apparecchiatura e dall'esperienza dell'operatore nell'individuare con precisione i punti di riferimento necessari. Le principali misure che si valutano ecograficamente per stimare l'età gestazionale si ottengono in tal modo:

- ICC = diametro interno del sacco gestazionale

A livello di placenta zonata si calcola la media dei due diametri interni, uno ventro-dorsale e l'altro medio-laterale, perpendicolari tra di loro. (Son et al., 2001; Beccaglia & Luvoni, 2006)

- ECC = diametro esterno del sacco gestazionale

A livello di placenta zonata si calcola la media dei due diametri esterni, uno ventro-dorsale e l'altro medio-laterale, perpendicolari tra di loro. (Beccaglia & Luvoni, 2006)

- CRL = distanza cranio-coccige

Si calcola misurando la distanza tra il punto più craniale del cranio e l'estremità caudale perineale. (Son et al., 2001; Zambelli et al., 2002; Beccaglia & Luvoni, 2006)

- BP = diametro biparietale

Si calcola misurando la distanza tra le due ossa parietali del cranio che devono essere parallele tra loro in sezione frontale. La testa deve essere

divisa centralmente da una linea ecogena: la falx cerebri. (Son et al., 2001; Zambelli et al., 2002; Beccaglia & Luvoni, 2006 )

- AD = diametro addominale

A livello di fegato e stomaco si calcola la media dei due diametri, uno ventro-dorsale e l'altro medio-laterale, perpendicolari tra di loro in un piano trasverso. (Nyland e Mattoon, 1995; Son et al., 2001; Zambelli et al., 2002; Beccaglia e Luvoni, 2006)

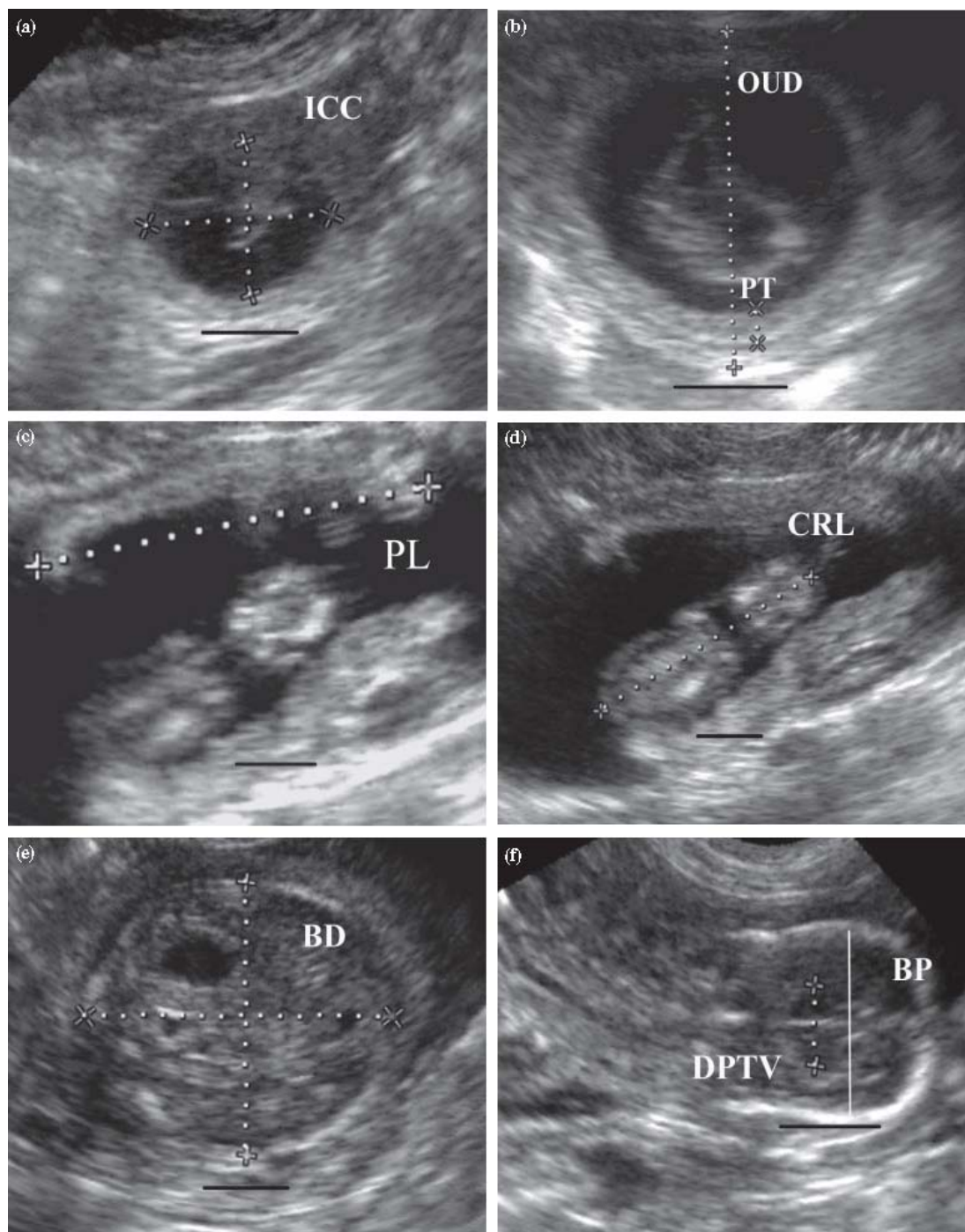
- GD = diametro gastrico

A livello del punto più largo dello stomaco si calcola la media dei due diametri, uno ventro-dorsale e l'altro medio-laterale, perpendicolari tra di loro in un piano trasverso. ( Zambelli et al., 2002)

- DPTV = diametro interno della vescicola diencefalo-telencefalica

Si calcola il diametro della porzione che rappresenta il talamo ed i nuclei basali primordiali in sezione frontale quando le ossa parietali sono parallele.( Beccaglia & Luvoni, 2008; Beccaglia et al., 2008)

Fig.23: Misure ecografiche



ICC: diametro interno del sacco gestazionale  
OUD: diametro esterno del sacco gestazionale; PT: spessore placentare  
PL: lunghezza placentare  
CRL: distanza cranio-coccige  
BD: diametro addominale  
BP: diametro biparietale; DPTV: diametro vescicola diencefalo-telencefalica.

*Modificata da Beccaglia & Luvoni, 2006*

#### **4.6 POSSIBILI APPLICAZIONI FUTURE DELL'ESAME ECOGRAFICO**

In medicina umana sono state stabilite delle linee guida per condurre correttamente l'esame ostetrico ecografico. Tali metodiche sono state elaborate nel 1985 dall'Istituto di Medicina Ecografica Americano. La gravidanza viene, da allora, suddivisa in trimestri. Nel primo trimestre viene localizzato e misurato il sacco gestazionale, vengono valutati il CRL dell'embrione, il BP ed altri parametri. Si apprezzano, inoltre, la vitalità embrionale ed il numero di concepiti e si esaminano l'utero e le strutture annesse. Nel secondo e nel terzo trimestre si controllano la vitalità fetale, il numero di feti e la loro presentazione. Viene registrato il battito cardiaco fetale e valutata la quantità di liquido amniotico e la posizione della placenta. L'età gestazionale viene calcolata misurando il BP e la lunghezza del femore, mentre la crescita si controlla comparando la misura del diametro addominale con quelle prese in precedenza. Si verifica l'anatomia fetale esaminando: il sito d'inserzione del cordone ombelicale, la parete addominale, i ventricoli cerebrali, il cuore, la colonna vertebrale, lo stomaco, la vescica urinaria ed i reni. La tecnica ecografia permette di condurre un esame clinico di routine con lo scopo di assicurarsi del benessere del feto umano stimando parametri come il movimento del corpo, la respirazione, il tono fetale, il battito cardiaco, il flusso del cordone ombelicale, la quantità del fluido amniotico ed i cambiamenti di struttura della placenta. In medicina veterinaria sono stati eseguiti studi, soprattutto nel cane, per utilizzare l'esame ecografico per monitorare la gravidanza dei piccoli animali, anche se, non si sono ancora raggiunti i livelli di precisione che si hanno in campo umano. Nella gatta si deve determinare se esistano notevoli differenze di BP fetali nelle razze dolicocefale e brachicefale (Nyland & Matton, 1995); sono necessari altri studi sulla valutazione degli stadi placentari, com'è stato fatto per l'uomo; sarebbe utile condurre lavori

che valutino la vitalità fetale considerando il battito cardiaco, come nel cane; servirebbero altri studi per determinare, quando e se, il cesareo si renda necessario e per valutare la possibilità dell'utilizzo dell'eco-doppler per esaminare la circolazione materna e fetale ed assicurarsi degli scambi tra madre e feto. (Zambelli et al., 2006)

Nel 2009 Hildebrand et al. hanno studiato la possibilità di utilizzare il sistema ecografico in 3D-4D per monitorare la gravidanza. Tale tecnica è utilizzata con successo in humana, ma nei piccoli animali non è ancora applicata, dati gli elevati costi dei macchinari ecografici, la difficoltà nell'ottenere dati corretti, a causa della tachipnea dei pazienti non sedati, e la mancanza di specifiche conoscenze, in medicina veterinaria, che permettano di eseguire scansioni di alta qualità. Adattando questa tecnica ai piccoli animali hanno visto che tale sistema presenta grandi potenzialità per la valutazione della gravidanza di cani e gatti. Permette, infatti, di ottenere informazioni importanti sullo stato della gestazione, di predire la data del parto e di migliorare la capacità diagnostica. Applicando dei protocolli standard rende possibile ridurre la durata dell'esame, ottenendo comunque informazioni sempre più utili. Offre per la prima volta la possibilità di visualizzare il complesso di comportamenti e trasformazioni dei feti nell'utero. Si possono visualizzare i cambiamenti delle strutture che avvengono in breve tempo, il flusso di sangue ed ingesta ed i movimenti caratteristici dei feti in rapporto con le diverse porzioni intrauterine. Analizzare i comportamenti dei feti e conoscere i tempi in cui essi si manifestano risulta importante per comprendere la normale evoluzione ed accorgersi di eventuali variazioni dalla norma. Sono, comunque, necessari ulteriori studi che valutino l'applicabilità di tale tecnica ed i costi-benefici per stabilire se effettivamente si possa utilizzare di routine nel monitoraggio della gravidanza.

## **5. VALUTAZIONE RADIOLOGICA**

### **5.1 TECNICA RADIOLOGICA**

La tecnica radiologica si fonda sul principio dei raggi-x, che sono delle radiazioni elettromagnetiche ad elevata frequenza ed intensità, ma breve lunghezza d'onda. Si ottengono bombardando un bersaglio di tungsteno con un fascio di elettroni e producendo, così, un gruppo di fotoni con diversa energia. Queste radiazioni possono attraversare una sostanza o venire assorbite da essa e ciò dipende dal potere di penetrazione dei raggi-x (e, quindi, dalla loro energia) e dalla densità relativa, dallo spessore e dal numero atomico della struttura considerata. In radiologia, dopo aver attraversato i fluidi, i tessuti e gli organi del corpo, i fotoni vanno a ionizzare l'argento, che è contenuto nelle emulsioni delle pellicole radiografiche. Questo, solitamente, avviene indirettamente, mediante il passaggio delle radiazioni attraverso degli schermi di rinforzo delle pellicole (le cassette) che migliorano la capacità di impressionamento della pellicola stessa. L'immagine latente che si crea nella pellicola si rende evidente in seguito all'operazione di sviluppo, lavaggio e fissazione chimica. Si ottiene, così, la rappresentazione delle strutture attraversate dalle radiazioni prima di impressionare la pellicola. La radiografia, conseguita, è una riproduzione in 2-D di un'immagine in 3-D. (Burk & Ackerman, 1996)

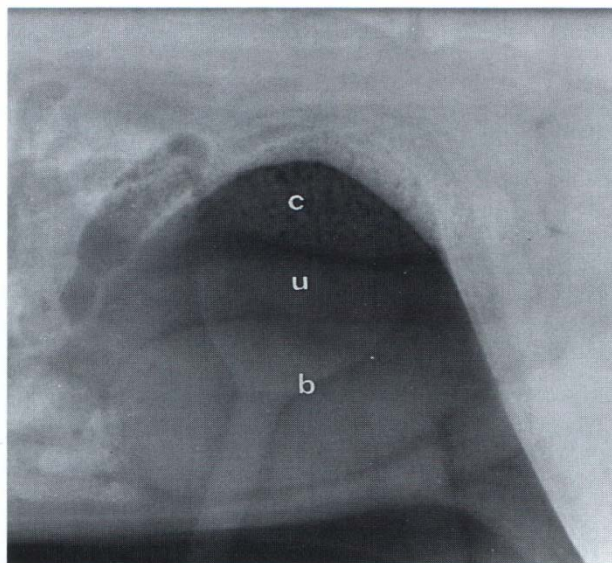
L'utilizzo della radiologia durante l'esame ginecologico della gatta ha per lo più lo scopo di valutare se una massa palpabile a livello addominale corrisponde ad un utero ingrandito o di determinare la presenza di un utero aumentato di volume, perché gravido o patologico, in una gatta difficile da palpare. Tale tecnica può essere, inoltre, adoperata per stimare il numero di feti, per valutare il progredire della gestazione e per assicurarsi la vitalità

dei cuccioli controllando che non siano presenti segni di morte o di mummificazione fetale. Permette, inoltre, di verificare che non vi siano malformazioni della pelvi o dei feti tali da causare distocia. Conoscere l'anatomia del tratto genitale femminile e le condizioni patologiche che possono interessarlo risulta importante per interpretare correttamente le immagini radiografiche.

Un utero aumentato di volume, in assenza della mineralizzazione fetale che si riscontra dal 38° giorno di gravidanza, può essere confuso con un utero neoplastico o affetto da piometra oppure con altri organi addominali come la vescica o l'intestino. Una corretta tecnica radiologica risulta essere, quindi, fondamentale ai fini di tale distinzione assieme ad un'approfondita preparazione del radiologo. E' utile, se il paziente non è critico, eseguire un'idonea preparazione del soggetto, evitando di somministrare cibo nelle 24 ore precedenti l'esame ed eventualmente facilitando l'evacuazione del tratto intestinale mediante un clistere. Ciò può essere d'aiuto anche quando la mineralizzazione fetale non è ancora tale da assicurare una sua esatta visualizzazione. E' stato suggerito di esercitare una compressione addominale per favorire la differenziazione radiografica tra colon, utero e vescica. Questa può essere eseguita usando una paletta di plastica o un cucchiaino da tè e permette di allineare l'utero tra il colon e la vescica nei soggetti che non hanno già un utero troppo aumentato di dimensioni. (Thrall, 2002) Con questa tecnica si riesce ad isolare la struttura d'interesse dalle altre più mobili (vescica e colon) che potrebbero creare delle ombre che offuscano l'immagine. Si devono però regolare i mAs per compensare la diminuzione dello spessore dell'addome causata dalla compressione. (Burk & Ackerman, 1996)



*Fig.24: Differenziazione radiografica di utero, vescica e colon*



*Modificata da Thrall, 2002*

## 5.2 ESAME DELL'APPARATO RIPRODUTTORE

L'esame radiografico dell'apparato riproduttore si esegue di norma con l'animale posizionato in decubito laterale destro.

Solitamente l'utero non è visibile in una radiografia addominale di una gatta, o di cagna, a meno che esso non sia ingrandito a causa di una gravidanza, di piometra o per la presenza di una massa. Di forma tubulare, circa un centimetro di diametro, si trova nella porzione centro-caudale dell'addome con il corpo tra il colon e la vescica e per questo può essere facilmente confuso proprio con il tratto caudale dell'intestino in quanto presentano la stessa radiopacità di tessuto molle. Quando, invece, aumenta di volume a causa di una gravidanza, esso si sposta ventralmente ed in questo modo spinge dorsalmente e cranialmente il piccolo intestino, dorsalmente e lateralmente il colon discendente e determina, poi, una certa compressione ventrale sulla vescica. Radiograficamente si possono valutare delle alterazioni dell'utero che riguardano: il numero, la taglia, la localizzazione, la radiopacità e la funzionalità.

Per quanto riguarda il numero è riportata l'assenza di una delle due corna, anche se è un evento piuttosto raro.

Nel caso si visualizzi un utero con un aumentato generalizzato di dimensioni, in assenza di mineralizzazione fetale, occorre eseguire una diagnosi differenziale prendendo in considerazione la possibilità si tratti di una gravidanza precoce, di una pseudogravidanza, di piometra, di idrometra, di mucometra, di una torsione od incarceramento uterino o di una massa tumorale. Si deve ricordare, però, che il riscontro della mineralizzazione fetale in un utero aumentato di volume è indicatore di gravidanza, ma non esclude la possibilità di una torsione. Vanno considerate l'anamnesi ed i segni clinici per arrivare ad una diagnosi. Se l'ingrandimento, invece, è localizzato può significare la presenza di una

neoplasia, di una cisti endometriale, di un granuloma, un ascesso o una cisti uterina o di piometra, idrometra, mucometra localizzate.

L'utero può assumere una posizione anomala quando ernia. L'erniazione si verifica attraverso una discontinuità della parete addominale, incluso l'anello inguinale, e può essere congenita od acquisita. Può verificarsi anche in corso di gravidanza.

La radiografia dell'utero mostra la radiopacità tipica dei tessuti molli o dei fluidi in gravidanza precoce, ma anche in corso di piometra, idrometra, mucometra e torsione uterina. Importante è quindi considerare l'anamnesi generale e l'esame clinico per poter arrivare ad una diagnosi corretta. Per esempio, la presenza di gas nell'utero può essere indicativa di morte fetale o di ischemia in caso di torsione uterina, mentre la mineralizzazione è indice di sviluppo dello scheletro fetale, ma ci può essere anche in caso il feto sia morto o mummificato ed in questo caso saranno presenti segni di collasso delle ossa.

Per quanto riguarda la funzionalità si deve ricordare che la distocia dipende da fattori sia materni che fetali. La radiografia è poco utile per valutare i primi, ma per i secondi permette di confrontare la posizione del feto relativamente al canale pelvico della madre. Se non ci sono cuccioli nel canale si può considerare, invece, la possibilità di inerzia uterina.

L'esame radiografico delle ovaie, solitamente, è poco utilizzato perché non è consigliabile esporle a radiazioni. E' efficace, però, per identificare una massa non palpabile all'esame fisico o per collocare nelle ovaie una massa palpabile. Si riesce a determinare l'organo da cui ha preso origine la massa sulla base della localizzazione, del rapporto con gli altri organi e della radiopacità. Radiograficamente si differenzia bene una massa ovarica, splenica o ranale.

I contorni e l'architettura interna delle ovaie non sono di norma visibili a meno che non siano affette da una patologia che ne ha causato la mineralizzazione o l'ingrossamento e che ha determinato la dislocazione

delle strutture circostanti. Esse sono disposte caudalmente ai rispettivi reni, ma non sono funzionalmente retroperitoneali come loro.

Radiograficamente si possono accertare anomalie di numero, taglia, localizzazione e radiopacità delle ovaie.

Solitamente una sola delle ovaie presenta alterazioni. Per essere aumentate di volume devono avere un diametro uguale o superare al doppio di quello di un'ansa intestinale. La forma è variabile, ma di solito le masse sono ben circoscritte e, se sono neoplastiche, può essere presente del fluido peritoneale.

Radiograficamente un aumento di taglia dell'ovaio può rappresentare la presenza di una cisti luteale o follicolare, o di un tumore di origine gonadostromale, epiteliale, mesodermica o delle cellule germinali.

Se l'ovaio si ingrandisce può spostare il rene ipsilaterale cranialmente, lateralmente o ventralmente. Il grado e la direzione dello spostamento dipendono dall'entità dell'aumento di volume e dalla posizione del paziente durante la radiografia.

Molti tipi di neoplasie e le cisti ovariche presentano la radiopacità dei tessuti molli. In presenza di mineralizzazione, in corso di teratomi o di teratocarcinomi, si raggiunge, invece, l'opacità del tessuto osseo ed in questo caso diventa importante la differenziazione clinica tra la neoplasia di tipo benigno o maligno. (Thrall, 2002)

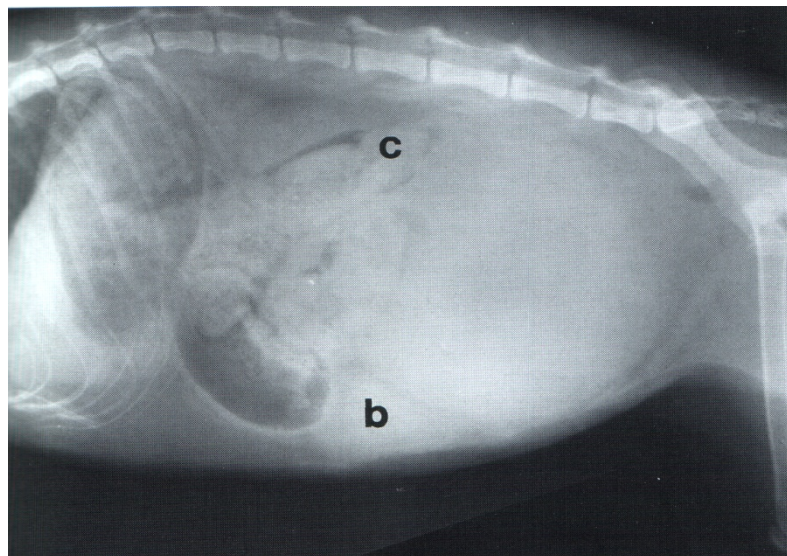
*Fig.25: Piometra*



Gatto F di 7 anni con anoressia e depressione da 3 giorni. La radiografia in VD mostra delle forme ovali radiodense nella regione caudo-laterale dell'addome. Diagnosi differenziale: Gravidanza o Piometra.

*Modificata da Burk & Ackerman, 1996*

*Fig.26: Leiomiosarcoma*



Gatto F di 5 anni con anoressia da 5 giorni. La radiografia mostra una grossa massa della densità del tessuto molle tra la vescica(b) ed il colon(c). Diagnosi differenziali: Gravidanza, Piometra, Tumore uterino.

*Modificata da Burk & Ackerman, 1996*

### 5.3 DIAGNOSI DI GRAVIDANZA

La radiologia, assieme all'ecografia ed alla palpazione addominale, è uno dei metodi utilizzati per eseguire la diagnosi di gravidanza nei piccoli animali. Come già ricordato in precedenza, nel capitolo 4, la palpazione addominale permette un accertamento dal 21° al 35° giorno di gestazione, cioè quando le vescicole presentano una forma sferica ben riconoscibile. (Nyland & Mattoon, 1995) La possibilità di utilizzare la tecnica radiografica è strettamente legata al momento della gravidanza, in quanto occorre sia evidente la mineralizzazione fetale per eseguire una diagnosi certa. Radiograficamente è, comunque, possibile valutare i sacchi gestazionali, anche nella prima metà della gravidanza, ma risulta inutile sottoporre a radiazioni gli embrioni in crescita quando l'ecografia permette una diagnosi dal 10° giorno (Zambelli & Prati, 2006) in assenza di controindicazioni gravi.

Tiedemann & Henschel nel 1973 hanno, infatti, eseguito uno studio sulla possibilità di una diagnosi precoce radiografica dal momento che l'ecografia non era ancora una metodica in uso ed i comuni test di gravidanza ormonali non funzionano per la gatta. Essi hanno confrontato la misura radiografica del lato corto delle vescicole uterine mettendola in relazione con quella corrispondente reale ottenuta sacrificando le gatte e asportandone l'utero. Hanno poi utilizzato queste misure per valutare l'età gestazionale, considerato che queste aumentano progressivamente più ci si allontana dal giorno dell'accoppiamento. Dalla ricerca risulta che sebbene si abbia un ingrandimento dell'utero dal 13° giorno a partire dal sito d'impianto esso non risulta radiograficamente visibile fino al 17° giorno. Il 15° giorno il lato corto della vescicola misura 11 mm ed è troppo piccolo per poter essere distinto radiograficamente. Al 17° giorno si hanno maggiori possibilità di effettuare una diagnosi precoce e ciò aumenta nei quattro giorni successivi. Solitamente delle forme ovali, di taglia e densità

simili, localizzate a livello di quarta e settima vertebra lombare sono indicative di gravidanza. Bisogna prestare, però, attenzione perché esse possono facilmente essere confuse con l'intestino o con la vescica, in particolar modo se la gatta è grassa e di età avanzata. In questo senso conoscere la taglia che le vescicole dovrebbero avere in base all'età gestazionale può essere utile ai fini di una diagnosi.

Per mezzo dell'esame radiologico si ottiene una diagnosi certa solo dopo il 36°-45° giorno dall'accoppiamento (Boyd, 1971), cioè quando la mineralizzazione fetale si rende evidente. Boyd nel 1968 ha studiato, nelle radiografie, la comparsa dei centri di ossificazione delle ossa degli arti dei feti felini stimandone la prima comparsa dal 31° giorno di gestazione ed utilizzando il CRL (distanza cranio-coccige) per calcolare l'età dei feti, basandosi sulle tabelle di Farris (1950). Successivamente nel 1971 ha approfondito i suoi studi valutando le variazioni radiografiche visibili negli uteri delle gatte nei diversi stadi di gestazione e affermando che il sistema scheletrico fetale è visibile dal 38° giorno. Nel 1975, infine, ha esaminato la comparsa dei centri di ossificazione dello scheletro assiale dei feti felini. Secondo Ficus (1973) è possibile eseguire radiograficamente una diagnosi certa di gravidanza, nei cani e nei gatti, dalla fine della quarta settimana di gestazione, mentre Boyd, basandosi sull'ingrandimento dell'utero inizia dal 25° giorno e sui centri di ossificazione dal 38° giorno. Tiedemann & Henshel la effettuano dal 17° giorno, affermando che da metà della quinta settimana a metà della sesta è facile fare una diagnosi di gravidanza, ma è difficile stimare l'età perché ormai le vescicole crescono poco, i feti si sovrappongono e non è semplice eseguire delle misure.

La radiologia, in ogni caso, permette di distinguere tra un feto vitale, morto o mummificato attraverso la valutazione dell'integrità ossea, della presenza di fluidi o di gas. E' possibile valutare le dimensioni dei feti rispetto al canale pelvico della madre e predire, quindi, eventuali complicazioni al parto e la necessità di un cesareo. Risulta, inoltre, più precisa dell'ecografia

nella conta dei feti. Ecograficamente questa si effettua tra il 28° ed il 35° giorno di gestazione, cioè prima che i feti si ingrandiscano troppo e si sovrappongano. (Nyland & Matton, 1995) Radiologicamente, invece, la conta si esegue dal 38° giorno quando la mineralizzazione dello scheletro fetale si rende evidente. (Thrall, 2002)



## **5.4 VARIAZIONI RADIOLOGICHE NELLE DIVERSE FASI DELLA GRAVIDANZA**

Fermo restando che oggigiorno di norma non si ricorre ad un'indagine radiografica per eseguire una diagnosi precoce di gravidanza, ma ci si serve dell'ecografia, variazioni radiologiche indicative di gestazione sono già visibili nei primi 30 giorni.

Tiedemann & Henschel nel 1973 si sono serviti, in un loro studio, proprio della radiologia per eseguire una diagnosi precoce e stimare l'età gestazionale. Stavano cercando un metodo alternativo perché occupandosi di gatte di laboratorio, e non esistendo in commercio un test di gravidanza ormonale valido per i felini, per loro era impossibile eseguire una diagnosi per palpazione addominale. Con questo esperimento hanno valutato l'accrescimento del lato corto delle vescicole uterine scattando radiografie di gatte gravide dal 17° al 30° giorno di gravidanza e utilizzando tali dati per valutare come l'utero cresce, per fare diagnosi e per stimare l'età. Sono state oggetto di studio 22 gatte, di cui era noto il giorno dell'accoppiamento, 11 delle quali sono state sopresse durante l'esperimento per confrontare i dati radiografici con quelli reali. La scelta di considerare il lato corto della vescicola embrionale è stata fatta perché era la misura più semplice da cogliere e meno soggetta ad alterazioni radiografiche.

*Fig.27: Misura radiografica del lato corto della vescicola gestazionale in rapporto con l'età*

Giorni dall'accoppiamento	Misura radiografica del lato corto (mm)	Misura macroscopica del lato corto (mm)
17	12-18	11-13
18	15-22	12-16(2uteri)
19	13-23	
20	15-23	18-22
21	18-25	19-22
22	19-27	
23	22-32	23-26
24	22-30	20-25
25	25-33	27-29
26	26-33	25-28
27	31-34	
28	30-38	37
29	30-37	
30	30-38	35-37

*Modificata da Tiedemann & Henschel, 1973*

Tiedmann & Henschel hanno valutato che, sebbene nel sito d'impianto si verifichi un ingrossamento dell'utero, questo non risulta radiograficamente evidente prima del 17° giorno di gravidanza. Al 21° giorno, invece, la vescicola gestazionale raggiunge i 22-32 mm e diventa più semplice da vedere e misurare. I sacchi hanno solitamente una forma ovale, sono radiodensi e presentano una taglia per lo più simile che aumenta progressivamente con l'età. Nelle fasi precoci della gravidanza è più facile che si conti un numero inferiore di vescicole rispetto alla realtà, date le loro dimensioni ridotte. La taglia delle vescicole dipende da numerosi fattori biologici, ma si è osservato che in cucciolate numerose è comunque elevata e che, in caso di gemelli, la camera gestazionale è solo un poco più ampia di quelle che contengono un unico embrione. Il fatto di poter attribuire ad una determinata misura della vescicola un'età gestazionale è utile sia per

poter datare una gravidanza non nota che per ricercare le vescicole nella radiografia dato che, conoscendo l'età, si può risalire alle dimensioni che esse dovrebbero presentare. Problemi diagnostici si hanno, soprattutto, a causa della sovrapposizione delle anse intestinali, del gas intestinale, del contenuto rettale e della presenza della vescica urinaria. Quest'ultima può in certi casi esser confusa con una vescicola, così come l'ombra del rene anche se la taglia e le dimensioni lo caratterizzano di più.

Per quanto riguarda, invece, le modificazioni radiografiche subite dall'embrione non ci è dato sapere, poichè bisogna attendere fino al 38° giorno di gravidanza quando la mineralizzazione ossea del feto lo rende evidente. Boyd nel 1971 ha condotto uno studio radiografando 33 gatte gravide in precedenza sopresse, con lo scopo di estrarre, poi, i gattini, misurare il CRL e confrontare l'aspetto radiografico del feto con l'età. Le gatte sono state radiografate in decubito sia laterale che ventro-dorsale. E' stato misurato il CRL dei feti estratti dai ventri delle gestanti ed è stato calcolato, poi, un valore medio per cucciolata che si è utilizzato per stimare l'età servendosi delle tabelle compilate da Farris (1950). Si sono, quindi, valutate tutte le radiografie delle gatte adulte sulla base di comparsa, posizione, taglia delle vescicole gestazionali e presenza di elementi scheletrici fetali. E' stato registrato l'ordine cronologico di comparsa degli elementi dello scheletro fetale ed ogni volta che si trovavano i segni di una struttura fetale, nelle radiografie della madre, si andava a controllare che ci fosse anche in quelle dei feti della gatta medesima. Boyd ha potuto, così, riscontrare che al 25° giorno di gravidanza l'utero appare ingrandito e maggiormente spostato anteriormente di posizione nell'addome. Non ci sono segni dei centri di ossificazione della clavicola, della mandibola, della mascella, delle costole e dell'asse di omero, radio, ulna, femore e tibia nelle radiografie degli uteri fino al 38° giorno, sebbene queste strutture siano già visibili in quelle dei feti dal 34° giorno. Dal 38° giorno, nelle radiografie

degli uteri, è possibile visualizzare l'ossificazione della mandibola fetale, le ossa frontali, mascellari e parietali del cranio, la scapola, l'omero ed il femore. Si vedono anche le vertebre e le coste. Al 41° giorno si osservano il radio e l'ulna, mentre al 43° giorno compaiono l'asse della tibia, fibula, ilio ed ischio e l'osso occipitale del cranio. Dal 47° giorno si rendono visibili le ossa interparietali ed al 49° appaiono le ossa metacarpali e metatarsali. Al 52° si visualizzano le falangi delle dita e lo sterno e dal 53° giorno si vedono tutte le dita degli arti, sia anteriori che posteriori, l'articolazione fibulo-tarsale ed il contorno delle bolle timpaniche. Dal 58° giorno compaiono i denti molari negli alveoli della mandibola e della mascella e, poco prima del parto si vedono i denti e l'articolazione tarso-tibiale.

*Fig.28: Quadri radiografici dal 38° giorno di gravidanza sino al termine*

Giorni dall'accoppiamento	Risultanze radiografiche
25-35	Utero espanso con posizione più anteriore in addome
38	Ossificazione della mandibola fetale, delle ossa craniche frontali e parietali, della scapola, dell'omero, del femore, delle coste e dei corpi vertebrali
41	Radio e ulna
43	Tibia, fibula, ileo, ischio ed occipitale cranico
47	Ossa interparietali
49	Ossa metacarpali e metatarsali

52	Falangi delle dita e sterno
53	Osso fibulo-tarsale e bolla timpanica
58	Denti molari
60	Denti e osso tarso-tibiale

*Modificata da Boyd, 1971*

Boyd, nel 1968, ha studiato radiograficamente l'ossificazione dello scheletro appendicolare dei feti di gatte. Un lavoro simile è stato condotto da Smith nel 1969, che ha valutato, però, la fusione dei centri di ossificazione dei gattini dalla nascita in poi. Boyd ha preso in considerazione 70 feti, che sono stati suddivisi per età sulla base del loro CRL (distanza cranio-coccige) secondo le tabelle compilate da Farris (1950). Un feto o, dove il numero lo permetteva, due per cucciolata sono stati radiografati in posizione sia dorso-ventrale che laterale. I feti in cui si riscontravano i segni di ossificazione sono stati esaminati istologicamente, dopo essere stati sezionati in fettine da 5 $\mu$  di spessore e colorati con Ematossilina-Eosina (H&E). Un feto per cucciolata, non conservato in formalina od alcool al 75%, ma fresco, è stato colorato con la tecnica "red S alizarin" (Hood & Neil 1948) ed esaminato in un microscopio per dissezioni.

Questo ha permesso di valutare le date di comparsa dei centri di ossificazione sulle radiografie e, poi, direttamente sul feto che è stato utilizzato, quindi, come controllo. Esaminando individui di sesso diverso provenienti dalle stesse cucciolate non sono state trovate influenze sessuali sui pattern di ossificazione, anche se i numeri esaminati non sono stati sufficienti per trarre delle conclusioni. Si è notato che istologicamente si riscontravano gli stessi centri di ossificazione visibili radiograficamente

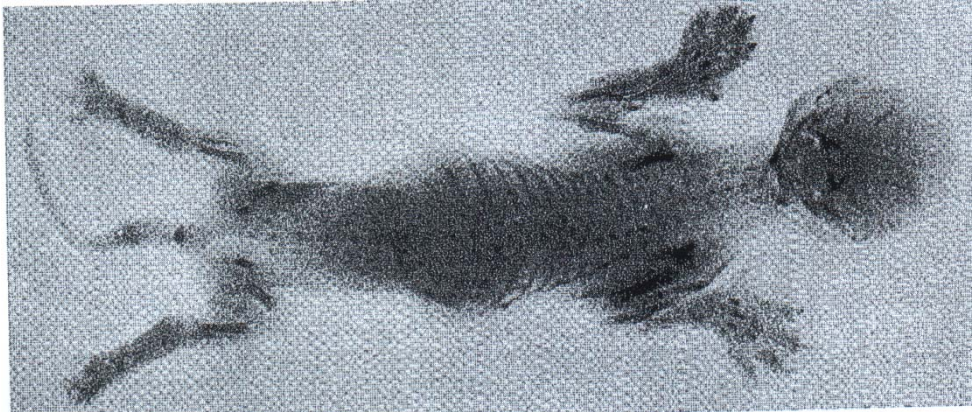
con in aggiunta altre strutture che risultavano nelle radiografie dei feti poco più grandi.

*Fig.29: Centri di ossificazione delle ossa degli arti visibili nelle radiografie dei feti di gatta*

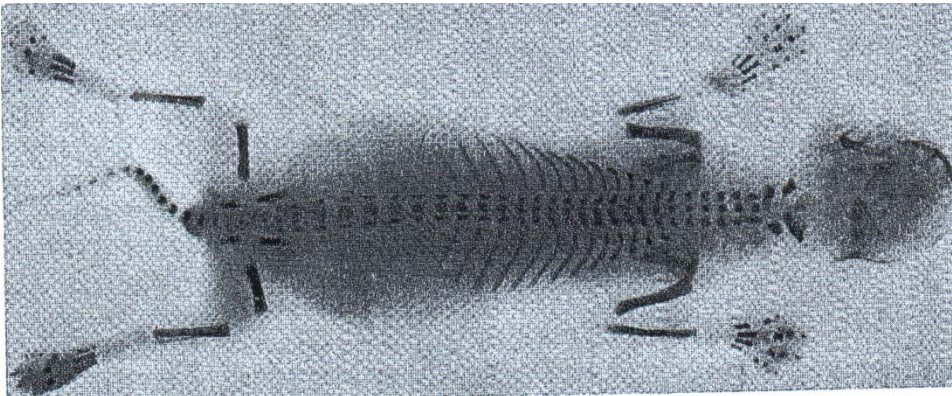
Giorni dall'accoppiamento	Centri di ossificazione visibili all'rx dei feti
24,5	/
31	Clavicola, asse dell'omero
34	Asse di femore, tibia, radio, ulna
36	Scapola, asse del metacarpo e del metatarso delle dita 2°-5°, terza falange delle dita 2°-5° della mano, falange distale del 1° dito della mano, fibula e corpo dell'ileo
38	Corpo dell'ischio
39	Prima falange delle dita 2°-5° della mano, seconda falange delle dita 2°-4° della mano, osso metacarpale del 1° dito, terza falange delle dita 2°-4° del piede
40	Falange prossimale del 1° dito della mano e prima falange delle dita 2°-4° del piede
47	Seconda falange delle dita 2°-5° di mani e piedi
53	Ossio fibulo-tarsale
54	Ossio tibio-tarsale
63	Epifisi prossimale dell'omero

*Modificata da Boyd, 1968*

*Fig.30: Radiografie di feti di gatte*



CRL: 55mm. 36 giorni. Presenti i corpi della scapola e dell'ileo; visibili i centri diafisali del metacarpo, del metatarso e della fibula; osservabili i centri della terza falange del 2° e 5° dito della mano e della seconda falange del 1° dito della mano.



CRL: 90mm. 46 giorni. Presente il corpo dell'ischio e visibili gli assi di tutte le ossa lunghe.

*Modificate da Boyd, 1968*

Successivamente Boyd, nel 1975, ha completato la ricerca del 1968 studiando la comparsa dei centri di ossificazione dello scheletro, questa volta, assiale dei feti felini. Sono stati utilizzati feti provenienti da 90 cucciolate per un totale di 288. I feti potevano essere freschi, inclusi in formalina al 10% o in alcool al 75%. E' stata calcolata la media dei CRL per cucciolata, in modo da poter loro attribuire un'età sulla base delle tabelle compilate da Farris nel 1950. Ogni cucciolo è stato radiografato in posizione sia ventro-dorsale che laterale. Per incrementare la visibilità dei centri di ossificazione 51 feti sono stati trattati con una soluzione di Silver-

nitrate, secondo il metodo descritto da Hodges nel 1953, che migliora il contrasto aumentando la radiopacità. Dopo le radiografie ottenute dai feti interi ne sono state eseguite altre con i singoli crani. Un feto per ogni cucciolata, non conservato in alcool al 75% o formalina al 10%, ma fresco, è stato, poi, colorato con la tecnica “alizarin red S” (Hood & Neil, 1948) ed esaminato al microscopio per dissezioni. I feti di 35 cucciolate sono stati, infine, analizzati anche istologicamente previa colorazione con H&E. Questo ha permesso di studiare e datare la comparsa dei centri di ossificazione della colonna vertebrale, delle coste, dello sterno e del teschio dei feti di gatti con diverse tecniche.

*Fig.31: Centri di ossificazione dello scheletro assiale dei feti di gatte e tempi di comparsa radiografica*

Scheletro assiale	Centri	Metodo	Giorni di gestazione
Vertebre cervicali III-VII	Centro	R	36
		S	37
	Lamine	R	36
		S	34-37
Atlante	Lamine	R	36
		S	34
	Corpo ventrale (arco)	R	51
		S	51
Epistrofeo	Lamine	R	36
		S	34
	Centro	R	36
		S	37
	Dente	R	44
		S	44
Vertebre toraciche	Centro	R	36
		S	34-37



	Lamine	R S	36 37
Vertebre lombari	Centro	R S	36 34-37
	Lamine	R S	36 37
Vertebre sacrali	Centro	R S	36-40 37-40
	Lamine	R S	36-40 40
	Corpo ventrale	R S	58 56
Vertebre caudali (coccigee)	Centro	R S	38 34
	Lamine	R S	41 40
	Ossa arcus haemalis	R S	Post-partum 53
Coste	Corpo	R S	33-36 31
Sterno	Corpo	R S	38-40 37-40

**R:** radiografia

**S:** radiografia previa impregnazione con Silver Nitrate

*Modificata da Boyd, 1975*

*Fig.32: Centri di ossificazione delle ossa facciali e del cranio di feti di gatte e tempi di comparsa radiografica*

Ossa facciali	Centri	Metodo	Giorni di gestazione
Mascella	Centro	R	31
		S	30
Osso incisivo	Centro	R	33
		S	30
Osso palatino	Centro	R	33
		S	30
Osso zigomatico	Centro	R	35
		S	30
Mandibola	Centro	R	31
		S	30
Ossa del cranio			
Osso occipitale	Basioccipitale	R	36
		S	37
	Esoccipitale	R	36
		S	37
	Sopraoccipitale	R	36
		S	34
Osso interparietale	Centro	R	36
		S	34
Osso basisfenoidale	Corpo	R	51
		S	44
	Ala	R	36
		S	34

Osso presfenoidale	Corpo	R	51
		S	44
	Ala	R	40
		S	39
Osso pterigoideo	Centro	R	37
		S	31
Osso temporale:			
parte squamosa	Centro	R	36
		S	34
parte timpanica	Ectotimpanico	R	38
		S	34
parte petrosa	4 centri	R	54
		S	44
Osso parietale	Centro	R	36
		S	37
Osso frontale	Centro	R	33
		S	30
Osso lacrimale	Centro	R	45
		S	43
Osso nasale	Centro	R	36
		S	34
Vomere	Centro	R	36
		S	30

R: radiografia

S: radiografia previa impregnazione con Silver Nitrate

*Modificata da Boyd, 1975*

## **5.5 MISURE FETOMETRICHE E LORO UTILIZZO PER STIMARE L'ETA' GESTAZIONALE**

Dalle radiografie degli uteri delle gatte gravide si possono ricavare delle misure e dei dati utili per stimare il momento della gravidanza. Nella prima metà della gravidanza si deve far riferimento, però, solo ai parametri che riguardano le vescicole gestazionali perché il feto risulta visibile dal 38° giorno, cioè quando la mineralizzazione ossea diventa radiograficamente evidente.

Tiedmann & Henschell, nel 1973, come già visto nel paragrafo precedente, hanno studiato radiograficamente le variazioni di dimensione del lato corto della vescicola embrionale mettendole in relazione con l'età gestazionale. Hanno individuato la modificazione di taglia dal 17° al 30° giorno, confrontandola anche con quella reale, ottenuta valutando gli uteri macroscopicamente. Utilizzando questi dati si può risalire all'età nella prima metà della gravidanza, ma oggi risulta poco utile in quanto l'avvento dell'uso dell'ecografia ha permesso di ottenere una datazione precoce in assenza dei pericoli per lo sviluppo embrionale causati dai raggi x.

*Fig.33: Misura radiografica del lato corto della vescicola embrionale in rapporto con l'età*

Giorni dall'accoppiamento	Misura radiografica del lato corto (mm)
17	12-18
18	15-22
19	13-23
20	15-23
21	18-25
22	19-27
23	22-32
24	22-30
25	25-33
26	26-33
27	31-34
28	30-38
29	30-37
30	30-38

*Modificata da Tiedemann & Henschel, 1973*

Boyd, nel 1971, ha studiato radiograficamente i vari stadi di gravidanza della gatta, annotando i tempi di comparsa delle diverse strutture fetali dal 38° giorno. Questo rappresenta un modo per stimare l'età gestazionale che non fa riferimento, però, a delle misure fetometriche, ma ai tempi di comparsa di determinati elementi.

*Fig.34: Quadri radiografici dal 38° giorno di gravidanza sino al termine*

Giorni dall'accoppiamento	Risultanze radiografiche
25-35	Utero espanso con posizione più anteriore in addome
38	Ossificazione della mandibola fetale, delle ossa craniche frontali e parietali, della scapola, dell'omero, del femore, delle coste e dei corpi vertebrali
41	Radio e ulna
43	Tibia, fibula, ileo, ischio ed occipitale cranico
47	Ossa interparietali
49	Ossa metacarpali e metatarsali
52	Falangi delle dita e sterno
53	Osso fibulo-tarsale e bolla timpanica
58	Denti molari
60	Denti e osso tarso-tibiale

*Modificata da Boyd, 1971*

Un altro parametro che può essere utilizzato è la misura del CRL (distanza cranio-coccige) fetale. Boyd, servendosi delle tabelle elaborate da Farris nel 1950, ha, infatti, stimato in tal modo l'età dei feti impiegati nei suoi studi.

*Fig. 35: CRL in mm in relazione con l'età gestazionale*

CRL in mm	Data dall'accoppiamento
58	38
75	41
83	43
84-85	44
86	45
88	46
94	47
95	48
101	49
102	50
106	52
109-110	53
113-115	54
120-122	56
125	57
130	58
136	60
145	Parto

*Modificata da Boyd, 1971*





## **6. VALUTAZIONE MACROSCOPICA**

### **6.1 TECNICA MICROSCOPICA E MACROSCOPICA**

Le metodiche utilizzate per lo studio dell'anatomia delle specie animali si differenziano in base alle modalità di ricerca e allo scopo di essa stessa. Per quanto riguarda lo sviluppo prenatale dei feti felini si utilizza la tecnica macroscopica per l'osservazione delle caratteristiche esterne, mentre la valutazione microscopica risulta d'elezione per ottenere sezioni di tessuto. Gli embrioni vengono, però, valutati allo stereomicroscopio anche per i caratteri esteriori, poichè a causa delle loro dimensioni ridotte necessitano di ingrandimento. I soggetti vengono analizzati "freschi", o fissati in formalina od in alcool. Per l'osservazione istologica, invece, occorre fissare il soggetto in toto se di dimensioni inferiori al cm<sup>3</sup>, o parte di esso, in paraformaldeide diluita al 4% in PBS (phosphatase buffer saline) (0,1M, ph 7,4) per 12 ore a 4 °C. In seguito si esegue un lavaggio in PBS, la disidratazione attraverso passaggi graduali in etanolo (70, 90, 95 e 100°), la chiarificazione in xilolo ed, infine, l'inclusione in paraffina. I campioni vengono, poi, tagliati al microtomo in sezioni longitudinali (frontali e sagittali) o trasversali dello spessore voluto. Queste vengono immerse in un bagno di acqua calda, fatte aderire ad un vetrino e poste ad asciugare su una piastra calda. La fissazione può essere anche di tipo fisico, cioè ottenuta mediante il congelamento del campione ad opera di isopentano raffreddato dall'azoto liquido. Il pezzo indurito viene, quindi, tagliato con il criostato. La sezione deve essere colorata per poter essere valutata al microscopio. Dal momento che la paraffina è incompatibile con le soluzioni liquide il campione va idratato con bagni di etanolo con scala inversa (100, 90, 70°C, acqua distillata). La colorazione classica è quella Ematossilina-Eosina che consiste nel:

1. Immergere la sezione 20 sec. nel colorante Emallume di Mayer.
2. Lavare 2 volte in acqua distillata.
3. Lavare per 5 min. in acqua corrente di rubinetto senza dirigere direttamente il getto.
4. Lavare in acqua distillata.
5. Immergere la sezione per 15 min. in alcool 90°.
6. Immergere la sezione nell'Eosina per 1 min.
7. Immergere la sezione in alcool 90°.

Il citoplasma delle cellule si visualizza, così, rosa, mentre i nuclei appaiono viola.

Per montare la sezione essa va, infine, disidratata (con passaggi seriali in scala ascendente di alcool), chiarificata in xilolo ed inserita tra il vetrino porta oggetti e quello copri oggetti con un balsamo collante.

Per lo studio dei fenomeni di calcificazione è molto utile, invece, il metodo alizarin red S che consiste nel:

1. fissare in etanolo, includere in paraffina, montare la sezione su vetrini non albuminati, sparaffinare e portare fino all'acqua.
2. trattare il campione per 30 sec.-5 min. (controllare al microscopio per evitare la colorazione del fondo) con una soluzione al 2% di alizarin red S portata a PH 4,1-4,3 aggiungendo ammoniaca diluita.
3. eliminare l'eccesso di colorante, asciugare con carta da filtro senza lavare in acqua, immergere velocemente per 10-20 sec. in acetone e xilene in parti uguali, quindi in xilene e montare in balsamo.

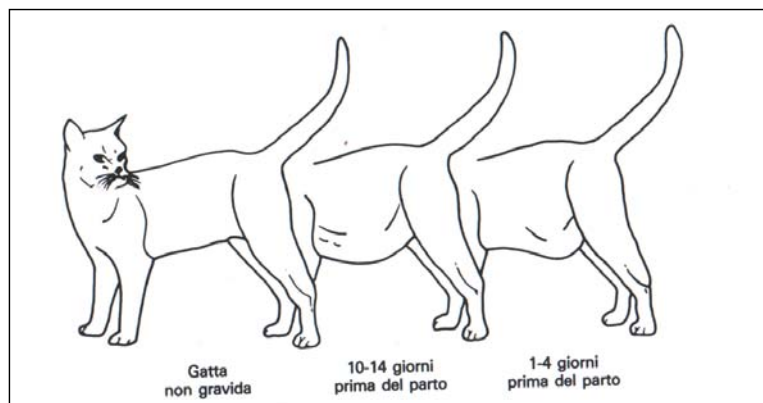
I depositi calcici si visualizzano, così, in rosso-aranciato. (Mazzi, 1977)

## 6.2 DIAGNOSI DI GRAVIDANZA

Il terzo dei metodi di diagnosi di gravidanza della gatta preso in considerazione in questo lavoro è quello che si fonda sull'attenta palpazione addominale. Nei precedenti capitoli si è parlato delle tecniche ecografiche e radiografiche e del loro utilizzo proprio per questo scopo. La prima permette una diagnosi precoce, già, al 10° giorno di gravidanza, mentre la seconda al 17°-21° giorno, se si considerano le vescicole embrionali, e al 38° giorno, se si valuta lo scheletro felino. (Zambelli & Prati, 2006) La palpazione dell'utero gravido attraverso la parete addominale risulta, però, il metodo più pratico e veloce di stimare una gravidanza, anche se non il più precoce e accurato. (Nyland & Mattoon, 1995) La facilità e l'accuratezza della palpazione addominale dipende da diversi fattori: 1. La taglia dell'animale: nei più piccoli è più facile; 2. Il temperamento dell'animale: se è agitato o irascibile risulta impossibile; 3. Il periodo della gravidanza in cui si esegue l'esame; 4. Il numero di feti nell'utero. Con questo metodo si può fare diagnosi dal 13° al 21° giorno, riscontrando una serie di rigonfiamenti ovali nelle corna, anche se, in questo periodo, è più probabile confondere le vescicole con boli fecali. Le camere gestazionali, in questo stadio, hanno un diametro che va dagli 8 ai 20mm. Il momento migliore per questo esame è dal 21° al 30° giorno, quando gli ingrossamenti fetali sono distintamente separati, anche se bisogna fare grande attenzione per evitare che una palpazione troppo energica possa causare aborto. Nelle gatte magre è possibile stimare approssimativamente il numero di feti, sebbene quelli situati nella parte posteriore delle corna si sentano meglio, mentre quelli anteriori possano sfuggire. Le dimensioni delle vescicole vanno da 20mm. a 35mm. Successivamente dal 35° giorno gli ingrossamenti cominciano a farsi confluenti, rendendo il diametro dell'utero più uniforme e causando difficoltà per la palpazione. Comunque a questo stadio l'aumento di

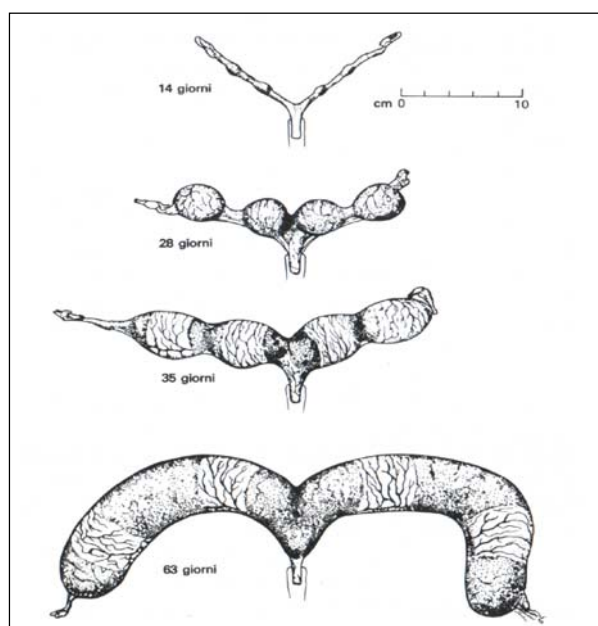
volume addominale è facilmente evidente perché l'utero rigonfio prende contatto con la parete addominale. Dal 45° giorno i feti crescono con rapidità, occupando oltre alle corna anche il corpo dell'utero, e si possono palpare con facilità le parti prominenti del loro corpo. (Arthur et al., 1992; Zambelli & Prati 2006)

*Fig.36: Stadi della gravidanza*



*Modificata da Christiansen, 1987*

*Fig.37: Modificazioni uterine nel corso della gravidanza*



*Modificata da Christiansen, 1987*

### **6.3 VARIAZIONI MICROSCOPICHE E MACROSCOPICHE NELLE DIVERSE FASI DELLA GRAVIDANZA**

Durante la gravidanza l'embrione ed il feto in crescita subiscono delle notevoli modificazioni anatomiche che è opportuno conoscere per diagnosticare eventuali variazioni dalla norma e per verificare l'attendibilità della tecnica radiografica ed ecografica. Apprendere le normali curve di crescita permette, infatti, di utilizzarle come guida per capire le conseguenze di influenze dannose, come per esempio radiazioni, viremie, carenze di ossigeno ecc., o per confrontare i dati con quelli ottenuti mediante la radiologia e l'ecografia.

Tiedemann & Henschel, nel 1973, hanno condotto uno studio radiografico sugli uteri di gatta nella prima metà della gravidanza per valutare la possibilità di eseguire una diagnosi precoce con questa tecnica. Hanno stimato le variazioni radiografiche di lunghezza delle vescicole embrionali di gatte, di cui era noto il giorno dell'accoppiamento, e le hanno messe in relazione con l'età e con le misure reali ottenute dagli uteri, previa soppressione delle medesime. Questo ha permesso di valutare che le variazioni di dimensione delle camere gestazionali osservate con l'esame radiografico si sovrappongono in maniera quasi uguale a quelle macroscopiche.

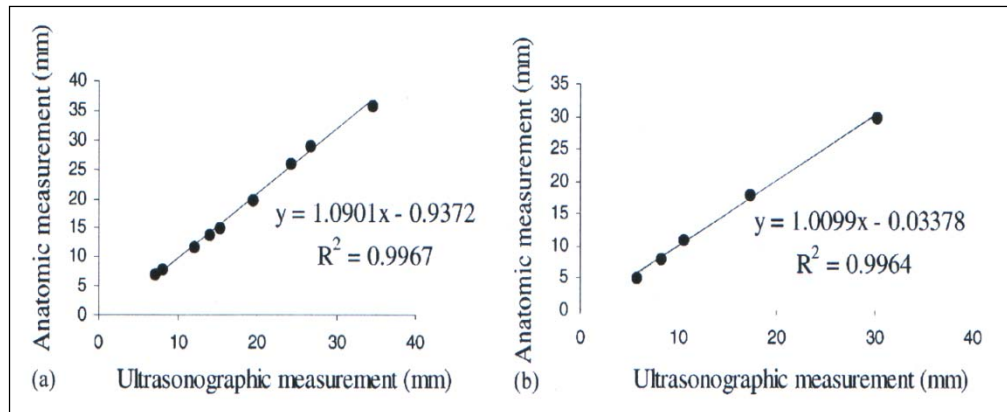
*Fig.38: Misure radiografiche del lato corto della vescicola gestazionale in rapporto con quelle macroscopiche*

Misura radiografica del lato corto (mm)	Misura macroscopica del lato corto (mm)
12-18	11-13
15-22	12-16 (2uteri)
13-23	
15-23	18-22
18-25	19-22
19-27	
22-32	23-26
22-30	20-25
25-33	27-29
26-33	25-28
31-34	
30-38	37
30-37	
30-38	35-37

*Modificata da Tiedemann & Henschel, 1973*

Un lavoro simile, ma questa volta riguardo la tecnica ecografica, è stato condotto da Zambelli et al., nel 2002. Hanno valutato le variazioni di dimensione del diametro interno ed esterno del sacco gestazionale e della distanza cranio-coccige dei feti di gatte, di cui era noto il giorno dell'accoppiamento. Sono stati, così, confrontati i parametri e messi in relazione con l'età gestazionale. Usando un test di regressione lineare hanno trovato un'alta correlazione tra la media dei valori ecografici e le reali misure del sacco gestazionale esterno e della lunghezza dell'embrione/feto.

*Fig.39: Correlazione tra la media dei valori ecografici e la media delle misure reali usando un test di regressione lineare*



**a:** diametro esterno del sacco gestazionale  
**b:** lunghezza embrionale/fetale

*Modificata da Zambelli et al., 2002*

Diversi autori hanno studiato la comparsa dei centri di ossificazione nei feti felini con svariati metodi. I lavori più datati si fondano su osservazioni ricavate da valutazioni macroscopiche od al microscopio. Strauss-Durckheim, nel 1945, ha descritto i centri di ossificazione per lo scheletro dei feti felini, così come St. Gorge Mivart, nel 1881, che ha elaborato una sequenza di sviluppo, ma non ha precisato le date di comparsa delle strutture. Jayne, nel 1898, ha spiegato lo sviluppo della clavicola da un singolo centro di ossificazione e ha valutato la presenza, alla nascita, del corpo e della spina della scapola derivanti anch'essi da un unico centro. Jayne ha, poi, individuato nei neonati la presenza dell'asse dell'omero e di un piccolo centro di ossificazione nell'epifisi prossimale. Lesbre, nel 1897, ha stabilito che la diafisi dell'omero si sviluppa nel corso della 4° settimana di gestazione, mentre l'epifisi è presente dopo la nascita. Lesbre ha collocato sempre nella quarta settimana la comparsa dei centri diafisari di radio, ulna e femore, mentre ha affermato che quello tibiale appare prima del radiale ed in concomitanza con l'asse della fibula. Sempre in questo periodo o poco dopo si possono vedere le diafisi metacarpali e metatarsali, ma i centri della prima e della seconda falange del 1° dito non compaiono

fino alla seconda metà della gravidanza. Lesbre, in accordo con i precedenti autori, ha affermato che l'osso coxale presenta tre centri di ossificazione e che l'ilio si vede in contemporanea alla scapola, l'ischio poco dopo ed il pube per ultimo. Il carpo, invece, si presenta interamente cartilagineo alla nascita. Successivamente Schaeffer, nel 1932, utilizzando la tecnica del colorante alizarin red S, è riuscito a cogliere molti più dettagli ed a datare le strutture. Schaeffer ha descritto la presenza delle diafisi di omero, radio, ulna, femore, tibia e fibula e del corpo della scapola e della clavicola in feti di circa 34 giorni, che sono i più piccoli da lui studiati. A 38 giorni ha segnalato la comparsa dei centri diafisari delle ossa metacarpali del 2° e 5° dito, la terza falange delle dita 1° e 5° della mano e l'ilio, seguiti poco dopo, a 39 giorni, dalle diafisi del metatarso del 2° e 5° dito. A 40 giorni si vede l'asse della terza falange del 3° e 4° dito, mentre a 42 si presentano i centri per il corpo dell'ischio, per la terza falange delle dita 2° e 5° del piede e per la prima falange delle dita 1° e 5° e per la seconda falange del 2° e 5° dito della mano. A 54 giorni si visualizzano anche gli assi della prima e seconda falange delle dita dei piedi ed il corpo dell'osso fibulo-tarsale, a 58 giorni si presentano i corpi dell'osso del pube e di quello tibio-tarsale ed, infine, poco prima del termine della gestazione, Schaeffer ha descritto la comparsa del centro di ossificazione dell'epifisi prossimale dell'omero. Boyd, invece, nel 1968, ha studiato la comparsa dei medesimi centri di ossificazione nei feti felini utilizzando la tecnica radiografica e confrontando le scoperte ottenute con quelle ricavate dall'esame istologico dei feti sezionati e colorati con H & E. Alcuni feti sono stati colorati anche con la tecnica alizarin red S e valutati al microscopio per dissezioni. Boyd ha, così, ottenuto nuovi dati che sono riportati nella tabella che segue.



*Fig.40: Centri di ossificazione delle ossa degli arti visibili nelle radiografie dei feti di gatta confrontati con le osservazioni istologiche e con quelle ottenute con la tecnica alizarin red S*

Giorni dall'accoppiamento	Centri di ossificazione visibili all'rx dei feti	Centri di ossificazione visibili all'istologico	Centri di ossificazione visibili con la tecnica alizarin red S
24,5	/	clavicola	
30-31	Clavicola, asse dell'omero	Asse di omero, radio, ulna, femore, tibia e fibula e calcificazione del collare periostale in scapola, femore, tibia e fibula	Asse di omero, radio, ulna, femore, tibia e fibula e corpo della scapola
34	Asse di femore, tibia, radio, ulna		
36	Scapola, asse del metacarpo e del metatarso delle dita 2°-5°, terza falange delle dita 2°-5° della mano, falange distale del 1° dito della mano, fibula e corpo dell'ileo		Scapola, asse del metacarpo e del metatarso delle dita 2° e 5°, terza falange del 2° e 5° dito della mano, falange distale del 1° dito della mano, corpo dell'ileo, terza falange del 2°, 3° e 4° dito del piede destro e seconda e terza falange delle dita del piede sinistro
38	Corpo dell'ischio		Prima falange del 2° e 3° dito della mano e

			terza falange delle dita 2°-5° del piede
39	Prima falange delle dita 2°- 5° della mano, seconda falange delle dita 2°-4° della mano, osso metacarpale del 1° dito, terza falange delle dita 2° -4° del piede		Prima falange delle dita 2°- 5° della mano, seconda falange delle dita 2°-4° della mano, osso metacarpale del 1° dito, prima falange del 1° dito della mano e prima falange delle dita 2°-4° del piede
40	Falange prossimale del 1° dito della mano e prima falange delle dita 2° - 4° del piede		
47	Seconda falange delle dita 2°-5° di mani e piedi		
53	Osso fibulo-tarsale		
54	Osso tibio-tarsale		
61		Epifisi prossimale dell'omero	
63	Epifisi prossimale dell'omero		

*Modificata da Boyd, 1968*

Boyd, nel 1975, ha proseguito la sua ricerca sull'osteogenesi del gatto studiando la comparsa dei centri di ossificazione dello scheletro assiale. Sono stati radiografati 288 feti, di cui 51 sottoposti all'esame anche previa impregnazione con una soluzione acquosa di Silver nitrato per incrementare la radiopacità. Alcuni feti sono stati valutati al microscopio per dissezioni dopo essere stati colorati con la tecnica "alizarin red S", mentre altri sono stati esaminati istologicamente. Boyd ha così studiato la comparsa delle strutture ossee con diverse tecniche, stabilendone la data di comparsa ed elaborando delle tabelle che schematizzano i risultati.

*Fig.41: Centri di ossificazione dello scheletro assiale dei feti di gatte e tempi di comparsa radiografica, istologica e con colorazione alizarin red S*

Scheletro assiale	Centri	Metodo	Giorni di gestazione
Vertebre cervicali III-VII	Centro	R	36
		S	37
		A	33
		H	35:39
	Lamine	R	36
		S	34-37
		A	35
		H	35-39
Atlante	Lamine	R	36
		S	34
		A	31
		H	35:39
	Corpo ventrale (arco)	R	51
		S	51
		A	47
		H	-

Epistrofeo	Lamine	R S A H	36 34 33 35:39
	Centro	R S A H	36 37 33 35:39
	Dente	R S A H	44 44 43 -
Vertebre toraciche	Centro	R S A H	36 34-37 31-33 35:39
	Lamine	R S A H	36 37 33 35:39
Vertebre lombari	Centro	R S A H	36 34-37 33 35:39
	Lamine	R S A H	36 37 34 35:39
Vertebre sacrali	Centro	R S A H	36-40 37-40 35-40 35:39
	Lamine	R S A H	36-40 40 40 35:39

	Corpo ventrale	R S A H	58 56 52 -			
Vertebre caudali (coccigee)	Centro	R S A H	38 34 36 -			
		Lamine	R S A H	41 40 40 -		
			Ossa arcus haemalis	R S A H	Post-partum 53 44 -	
				Coste	Corpo	R S A H
	Sterno			Corpo	R S A H	38-40 37-40 36-40 35:39

**R:** radiografia

**S:** radiografia previa impregnazione con Silver Nitrate

**A:** colorazione alizarin red S

**H:** istologia

*Modificata da Boyd, 1975*

*Fig.42: Centri di ossificazione delle ossa facciali e del cranio di feti di gatte e tempi di comparsa radiografica e con colorazione alizarin red S*

Ossa facciali	Centri	Metodo	Giorni di gestazione
Mascella	Centro	R	31
		S	30
		A	28
Osso Incisivo	Centro	R	33
		S	30
		A	28
Osso Palatino	Centro	R	33
		S	30
		A	30
Osso zigomatico	Centro	R	35
		S	30
		A	28
Mandibola	Centro	R	31
		S	30
		A	28
Ossa del cranio			
Osso occipitale	Basioccipitale	R	36
		S	37
		A	33
	Esoccipitale	R	36
		S	37
		A	33
	Sopraoccipitale	R	36
		S	34
		A	33

Osso interparietale	Centro	R S A	36 34 33			
Osso basisfenoidale	Corpo	R S A	51 44 40			
	Ala	R S A	36 34 35			
Osso presfenoidale	Corpo	R S A	51 44 43			
	Ala	R S A	40 39 38			
Osso pterigoideo	Centro	R S A	37 31 31			
Osso temporale:	Centro	R S A	36 34 31			
				Ectotimpanico	R S A	38 34 33
Osso parietale	Centro	R S A	36 37 31			

Osso frontale	Centro	R	33
		S	30
		A	28
Osso lacrimale	Centro	R	45
		S	43
		A	31
Osso nasale	Centro	R	36
		S	34
		A	31
Vomere	Centro	R	36
		S	30
		A	31

**R:** radiografia

**S:** radiografia previa impregnazione con Silver Nitrate

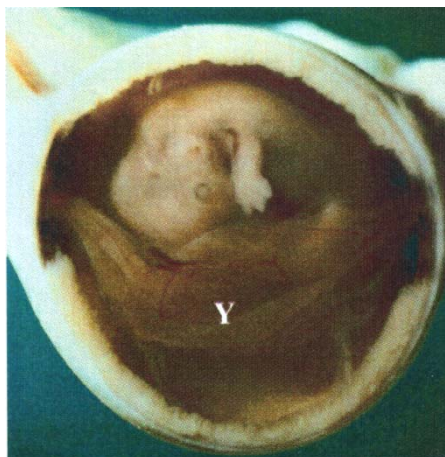
*Modificata da Boyd, 1975*

Per quanto riguarda la crescita prenatale del feto felino e lo sviluppo utero-placentare, Zambelli et al., nel 2002, hanno condotto una ricerca per valutare le variazioni visibili ecograficamente e confrontarle con i cambiamenti reali. Per tale scopo sono stati monitorati ecograficamente l'utero, la placenta, l'embrione, il feto e le membrane fetali di 16 gatte gravide. Tredici soggetti sono stati, in seguito, sottoposti ad ovarioisterectomia in stadi determinati della gravidanza e le varie strutture anatomiche sono state fissate in formalina, sezionate e comparate con le immagini ecografiche. Questo ha permesso di studiare, con entrambe le tecniche, le diverse fasi di sviluppo fetale e di ottenere dei dati sia ecografici che macroscopici. Per quanto riguarda quest'ultimi il feto inizia ad assumere la sua forma definitiva dal 26° giorno quando si rendono visibili gli arti anteriori e le gemme di quelli posteriori e delle orecchie esterne. Fegato, cuore e polmone sono già formati. A 30 giorni il fegato occupa quasi tutta la cavità addominale, mentre gli intestini si localizzano in una piccola porzione alla sua sinistra. La forma del feto è ormai molto



simile a quella definitiva e dal 35° giorno compaiono i cuscinetti dei piedi. Al 45° giorno lo stomaco si trova dorsalmente al fegato, il quale è confinato cranialmente al cordone ombelicale, mentre al 50° giorno la bolla gastrica si sposta caudalmente al fegato. Per quanto riguarda le membrane fetali, a 17 giorni, negli embrioni fissati, si può distinguere la gemma dell'allantoide, mentre a 18 giorni il sacco vitellino, ventralmente all'embrione, occupa quasi completamente la camera gestazionale e l'allantoide, caudalmente, si presenta come una piccola area circolare. A 25 giorni il feto è avvolto nell'amnios e ventralmente presenta il sacco vitellino, che è tubulare e fissato ai poli della camera gestazionale, mentre l'allantoide occupa la maggior parte di quest'ultima.

*Fig.43: camera gestazionale a 25 giorni di gravidanza*



Y: sacco vitellino, fissato ai poli.

*Modificata da Zambelli et al., 2002*

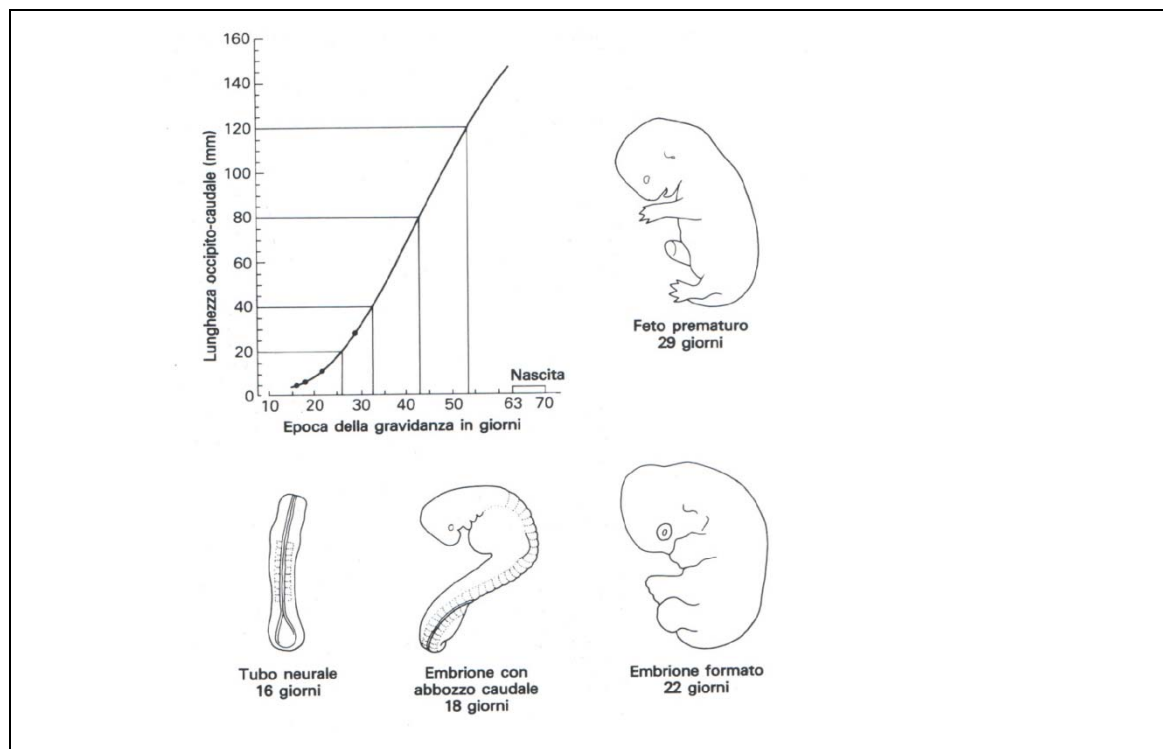
Evans & Sack, nel 1972, hanno invece studiato le curve di crescita e le date di comparsa delle caratteristiche esterne di diverse specie animali (coniglio, ratto, topo, porcellino d'india, cane, gatto, cavallo, maiale, mucca e pecore), basandosi su dati appresi dalla letteratura precedente e sulle collezioni di embrioni e sezioni presenti nella Cornell-Collection del Dipartimento di Anatomia del College Veterinario a New York. Hanno suddiviso lo sviluppo prenatale, che è il periodo dalla fertilizzazione alla nascita, in stadi che sono caratterizzati da cambiamenti morfologici interni ed esterni. Il giorno dell'accoppiamento è considerato il giorno "0" della gravidanza. Vengono vagliati gli stadi di tubo neurale, embrione precoce, embrione formato e feto prematuro. La misura del CRL, cioè la distanza tra il punto più craniale della testa ed il coccige, è utilizzato per datare la gravidanza e stabilire le curve di crescita. Questo è un parametro utilizzato con successo in humana, ma che va impiegato con cautela nei piccoli animali per via del collo più lungo e dei frequenti cambi di postura. Per quanto riguarda il gatto, che è l'oggetto del nostro lavoro, Evans & Sack hanno ricostruito le fasi di sviluppo basandosi per la datazione sui valori ricavati dagli studi di Ackerman (1967), Dawson (1950), Halley (1955) e Windle & Griffin (1931). Il risultato è rappresentato dalle due tabelle che fanno seguito:

*Fig44: caratteristiche esterne dell'embrione/feto di gatto*

gg. di gestazione	Caratteristiche
13	Inizia la formazione del somite
14	Presenti la vescicola ottica ed il placode ottico; formazione del tubo neurale
15	Presenti tre archi branchiali; torsione della parte caudale dell'embrione
17	Presenti quattro archi branchiali; presente la vescicola acustica
18	Presente la gemma degli arti anteriori; formazione del placode olfattivo
19	Formazione della gemma degli arti posteriori
20	Testa a contatto con i rigonfiamenti degli abbozzi cardiaci; si formano le fossette olfattorie; presente il piatto della mano
21	Si forma il meato acustico; si formano gli occhi e il pigmento; si separano un pò le dita; gli intestini erniano nel cordone ombelicale
22	Presente la linea mammaria; si dentella la mano nell'arto anteriore; presente la pinna come una cresta
24	Le dita degli arti anteriori si separano distalmente; si formano i follicoli dei peli tattili sulle labbra, sul muso ed intorno agli occhi; presente un primordiale apparato mammario; la pinna diventa triangolare e si proietta rostralmente; si formano le palpebre
26	Le dita degli arti posteriori si separano distalmente
27	Tutte le dita si allungano molto; la lingua diventa visibile; la pinna copre quasi il meato acustico; follicoli piliferi sono presenti sul corpo

28	Le palpebre si stanno chiudendo; si formano le unghie
30	Le palpebre sono quasi chiuse; la pinna copre il meato acustico
31	Le palpebre si uniscono completamente
32	Si salda il palato
37	Peli tattili sono presenti sul muso
46	Compaiono peli sottili sul corpo; il naso è pigmentato; le unghie si rinforzano alle estremità
50	Peli sottili ricoprono tutto il corpo; le unghie si induriscono e diventano bianche; la pelle si pigmenta
60-63	Nascita

*Fig.45: curva di crescita del gatto*



*Modificate da Evans & Sack, 1973*

#### 6.4 MISURE FETOMETRICHE E LORO UTILIZZO PER STIMARE L'ETA' GESTAZIONALE

Per valutare l'età gestazionale all'esame macroscopico si può far riferimento agli studi citati nel paragrafo precedente riguardo i confronti tra i dati reali e quelli ottenuti mediante la tecnica radiografica ed ecografica. In particolar modo si può utilizzare la tabella compilata da Henschel & Tiedemann che riporta le variazioni in dimensione del lato corto della vescicola embrionale e le mette in relazione con l'età gestazionale.

*Fig.46: Misura del lato corto della vescicola gestazionale in rapporto con l'età*

Giorni dall'accoppiamento	Misura macroscopica del lato corto (mm)
17	11-13
18	12-16 (2uteri)
20	18-22
21	19-22
23	23-26
24	20-25
25	27-29
26	25-28
28	37
30	35-37

*Modificata da Tiedemann & Henschel, 1973*

Nelson & Cooper, invece, nel 1975, hanno condotto uno studio volto a determinare la variazione del peso embrionale/fetale e del CRL ( distanza cranio-coccige) dei felini mettendoli in relazione con l'età gestazionale. Per tale scopo sono state accoppiate 44 gatte. Alcune cucciolate sono state rimosse mediante taglio cesareo, ad intervalli settimanali da due a nove settimane dall'accoppiamento, mentre altre sono state condotte al termine, ma i gattini sono stati pesati e, poi, sacrificati prima di avere la possibilità di poppare. I feti, la placenta ed i fluidi fetali sono stati accuratamente recuperati dopo l'operazione chirurgica, cercando di limitare al minimo le perdite raccogliendo con una siringa i fluidi dalla placenta ancora intatta. I gattini più piccoli di nove settimane sono stati semplicemente pesati, mentre quelli che avevano raggiunto quell'età sono stati valutati da bagnati e, poi, ripesati per determinare la quantità di liquido intrappolato nel pelo. Da ciò è stato ricavato che il peso dei fluidi fetali contribuisce per il 50% al peso totale del prodotto del concepimento dal 14° giorno fino al 40°, mentre in seguito tale apporto cala progressivamente al 20%. La placenta contribuisce in percentuale costante al totale del peso (< 20%) dal 42° giorno fino alla nascita, mentre l' apporto del peso embrionale/fetale cresce rapidamente dal 14° giorno al 56° quando diviene più o meno stabile al 66%. Dall'ovocita alla nascita si verifica un incremento del peso fetale di un fattore pari a  $10^8$  con una crescita maggiore nelle prime quattro settimane di gestazione, mentre al termine si ha un inspiegabile calo di qualche grammo. Per quanto riguarda la placenta l'aumento è, invece, di  $10^2$  tra il 15° ed il 28° giorno oltre il quale il fattore è solo di 3. Il peso da 0 a 7 giorni dell'ovocita/blastocisti è stato considerato sulla base dei dati ottenuti da Hamner nel 1973, mentre quello del totale dei fluidi dai calcoli di Wislocki nel 1935. Il peso fetale è stato, poi, messo in relazione con il CRL mediante una funzione logaritmica:

$$L = 2.69 (W)^{0,3508}$$

L = CRL in centimetri ; W = peso in grammi

Hanno trovato così che il CRL calcolato in questo modo si avvicinava molto a quello reale. Il CRL ed il peso fetale sono stati correlati prima singolarmente con l'età fetale e poi insieme giungendo alla seguente equazione:

$$A = 15,3350 + 3,9805L - 0,0675W$$

A = età in giorni; L = CRL; W = peso in grammi

Tale equazione permette di calcolare l'età da 14 giorni dopo l'accoppiamento alla nascita, con un errore di  $\pm 3$  giorni.

La misura del CRL (distanza cranio-coccige) è stata utilizzata per la stima dell'età gestazionale da molti studiosi. Windle & Griffin nel 1931, Windle et al. nel 1933 e Windle & Fish nel 1932 hanno elaborato delle tabelle con indicato le misure del CRL dei feti felini e la corrispondente data dall'accoppiamento delle madri, quando era nota. Farris nel 1950, ha utilizzato questi dati e quelli ottenuti dai suoi studi per compilare una lista delle misure del CRL in relazione con l'età gestazionale. Quest'ultima è diventata il riferimento per la stima delle età per tutti gli studi radiografici di Boyd che ha, così, fornito ulteriori elementi e tabelle. Il CRL è, quindi, un valido parametro utilizzato anche in radiologia ed in ecografia per la valutazione del momento della gravidanza. Per la seconda tecnica lo si usa nei primi 30 giorni perchè poi i feti aumentano di dimensione, si sovrappongono e sono difficili da valutare per intero in una singola scansione.

*Fig.47: Misure della lunghezza occipito-caudale in diversi stadi della gravidanza*

<i>Giorni dopo l'accoppiamento</i>	<i>Lunghezza occipito-caudale (mm)</i>	<i>Giorni dopo l'accoppiamento</i>	<i>Lunghezza occipito-caudale (mm)</i>
17	6	36	50
19	7	38	58
20	8-9	40	68
21	10	42	80
22	12	44	84-85
23	14	45	86
24	15	47	90
25	19-20	48	95
26	21-22	49	100-102
27	23	50	102-103
28	26	52	106
29	26-28	53	109-110
30	27-31	54	112-115
31	35-36	56	120-122
32	37-38	57	125
33	37-38	58	130
34	43	60	136
35	45	Al parto	145-150

*Modificata da Christiansen, 1987*

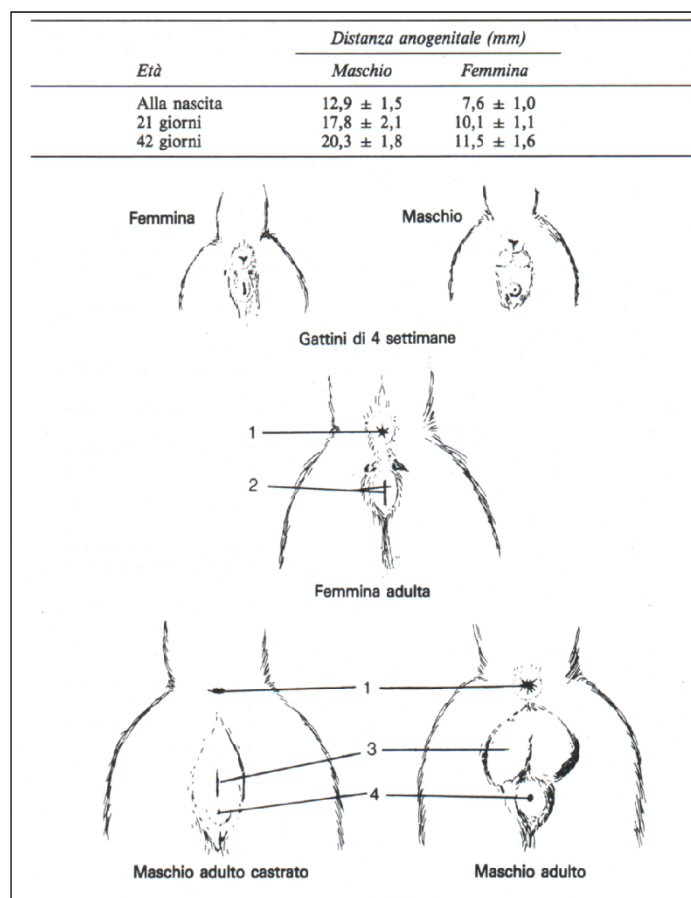
Il CRL è il parametro utilizzato anche da Evans & Sack, nel 1972, per stimare l'età gestazionale e definire una curva di crescita. La gravidanza è stata, da loro, suddivisa in stadi, ognuno con notevoli variazioni delle caratteristiche esterne dei feti, che, conosciute, permettono di capire il momento della gravidanza ed i normali cambiamenti anatomici che il felino subisce nel periodo prenatale. Bisogna tener conto, però, che la misura del CRL risente molto della posizione fetale e, soprattutto, del ripiegamento del collo e dell'inclinazione della colonna vertebrale dell'animale.



## 6.5 DETERMINAZIONE DEL SESSO

L'identificazione del sesso alla nascita si fonda principalmente sulla valutazione della distanza ano-genitale. Lo spazio tra ano ed orifizio del prepuzio è, infatti, maggiore di quello tra ano e vulva. I testicoli normalmente sono già discesi nello scroto, ma si possono anche muovere su e giù nel canale inguinale e non scendere definitivamente fino alla 10°-14° settimana di età. Nel maschio i sacchi scrotali sono ricoperti da corto pelo, mentre nella femmina le labbra ne sono relativamente sprovviste. (Christiansen, 1987)

*Fig.48: Identificazione del sesso nei felini*



1: ano; 2: labbra; 3: scroto; 4: prepuzio

*Modificata da Christiansen, 1987*

I genitali esterni nei due sessi sono morfologicamente e funzionalmente diversi, sebbene abbiano la stessa origine. Negli stadi precoci, le porzioni dei genitali esterni si formano a livello della parte caudo-ventrale della parete addominale e prendono il nome di tubercolo genitale, protuberanze genitali e pieghe cloacali. In seguito il setto urorettale divide la cloaca in una porzione dorsale, il canale ano-rettale, ed in una ventrale, il seno urogenitale.

Nel maschio il tubercolo genitale si allunga rapidamente in direzione ventro-craniale per formare il pene, mentre le pieghe urogenitali crescono, si fondono e compongono l'uretra peniena che viene incorporata nel corpo del pene. Le protuberanze genitali, invece, formano le tasche scrotali che si fondono sulla linea mediale e costituiscono lo scroto.

Nella femmina, come già detto, le caratteristiche morfologiche degli abbozzi che formano i genitali esterni sono inizialmente le stesse del maschio. Col progredire dello sviluppo il tubercolo genitale si accresce limitatamente e va a costituire il clitoride, mentre riguardo all'origine delle labbra ci sono versioni discordanti. (Pelagalli et al., 2009) La prima opinione è che le labbra si sviluppino dalle protuberanze genitali e che le pieghe urogenitali scompaiano quasi del tutto; la seconda è che le labbra si formino dalle pieghe urogenitali e che le protuberanze genitali regrediscono completamente o si riducano a vestigia; infine, la terza è che le labbra minori derivino dalle pieghe urogenitali, mentre le labbra maggiori dalle protuberanze genitali come in humana. Normalmente nei testi di anatomia felina è diffusa la prima opinione, ma recentemente, nel 2009, Inomata et al., hanno condotto uno studio volto a valutare lo sviluppo dei genitali esterni ed hanno concluso che, nei gatti, le labbra si formano dalle pieghe urogenitali, come nell'uomo le labbra minori, mentre le protuberanze genitali, dopo la nascita, si riducono completamente per cui non contribuiscono a formare le labbra. Hanno, inoltre, valutato che la differenziazione dei genitali esterni si può eseguire macroscopicamente

dallo stadio di 3,2-3,3 cm (circa 30 giorni), mentre, prima, occorre un esame istologico.



**TERZA PARTE:**

**ESPERIENZA PRATICA**



## **7. CONFRONTO DEI TRE DIVERSI METODI DI VALUTAZIONE DELLE MISURE FETOMETRICHE E STIMA DELL'ETA' GESTAZIONALE DURANTE LA GRAVIDANZA DELLA GATTA**

La diagnosi di gravidanza ed il monitoraggio successivo sono esami sempre più richiesti per la cura degli animali da compagnia. Per tale scopo si utilizza una tecnica manuale, mediante palpazione addominale oppure ci si serve della radiologia e dell'ecografia. Nelle pagine precedenti si sono già esaminati pro e contro di tali metodologie, ponendo l'attenzione sui tempi e modi di ogni indagine. Con questa esperienza pratica si è tentato di mettere a diretto confronto le misure fetometriche macroscopiche, ecografiche e radiologiche al fine di valutarne la differenza dal punto di vista del dato numerico e della determinazione dell'età. A questo scopo sono stati utilizzati come riferimento in particolare i lavori di Evans & Sack (1972) per la parte macroscopica, gli studi di Zambelli et al. (2002 e 2004) per l'ecografia e di Boyd (1971) per la radiologia. Per quanto concerne quest'ultima si è notato l'impossibilità di ottenere delle misure utili per il confronto, in quanto l'esame si esegue di norma per non più di due volte prima del parto, per non esporre eccessivamente i feti a radiazioni, e solo dopo il 38° giorno, cioè quando la mineralizzazione ossea li rende evidenti, ma sono ormai di dimensioni elevate per cui tendono a sovrapporsi ed incurvarsi. L'ecografia offre, invece, un buon supplemento diagnostico e fornisce dati paragonabili a quelli reali datando la gravidanza in maniera abbastanza precisa. Il presente studio ha permesso di realizzare, inoltre, un piccolo book fotografico che, per quanto possibile, mostra embrioni e feti felini a diversi stadi di sviluppo con differenti metodiche di valutazione.

## **7.1 MATERIALI E METODI**

La presente esperienza si è svolta presso il Dipartimento di Scienze Cliniche della Facoltà di Medicina Veterinaria di Padova. Poiché, solitamente, alcune gatte provenienti da un gattile di Monselice, sono condotte in clinica, per effettuare la sterilizzazione chirurgica, si è deciso di renderle oggetto di valutazione per il nostro studio, dal momento che non era necessario aggiungere alcun intervento invasivo. Sono state, infatti, anestetizzate e, se gravide, valutate prima ecograficamente, poi radiograficamente, quando considerato opportuno, ed infine sottoposte ad ovarioisterectomia. L'utero, invece che essere eliminato, è stato aperto ed i cuccioli sono stati misurati e fotografati. Hanno contribuito alla ricerca anche i feti di uteri gentilmente inviatici dal canile sanitario di Rovigo, in seguito ai loro normali programmi di sterilizzazione e che sono giunti in clinica in condizioni naturali oppure fissati in formalina. Di seguito sono riportati nello specifico le metodiche ed i materiali rispettivamente per la tecnica ecografica, radiologica e macroscopica.

### **7.1.1 ECOGRAFIA**

Sono state oggetto di valutazione ecografica 17 gatte tra quelle provenienti da un gattile di Monselice che solitamente vengono condotte presso il Dipartimento di Scienze Cliniche della Facoltà di Medicina Veterinaria di Padova ogni Lunedì per essere sterilizzate chirurgicamente. L'età ed il peso erano variabili, mentre la data dell'accoppiamento ci era sconosciuta. Da Gennaio a Maggio del 2010, quando appunto le gatte entrano nel periodo riproduttivo, si sono valutate le femmine mediante palpazione addominale e tutti i soggetti positivi o dubbi sono stati esaminati ecograficamente. Prima di tali operazioni, però, le gatte sono state sottoposte ad anestesia con 8 mg/kg di Ketamina, 25µg/kg di medetomidina e 300 µg/kg di



metadone, data la loro indole selvatica. I soggetti sono stati esaminati con l'apparecchio GE Medical Systems Ultrasound del 2006 utilizzando una sonda settoriale da 7-10 MHz. In ogni valutazione si è cercato di visualizzare e misurare un feto sul lato sinistro dell'addome ed uno sul versante destro, per quanto possibile. Se la gravidanza risultava inferiore ai 30 giorni si misuravano il diametro esterno del sacco gestazionale (ECC), quello interno (ICC) e la distanza cranio-coccige (CRL) del prodotto del concepimento. Quando la gestazione appariva, invece, superiore ai 30 giorni si consideravano il diametro biparietale (BP) del cranio del feto, il diametro addominale (AD) ed, infine, il diametro gastrico (GD). Come punti di riferimento per effettuare le misurazioni si sono utilizzate tali indicazioni:

- ECC = media dei due diametri esterni, uno ventro-dorsale e l'altro medio-laterale, perpendicolari tra di loro a livello di placenta zonata.
- ICC = media dei due diametri interni, uno ventro-dorsale e l'altro medio-laterale, perpendicolari tra di loro a livello di placenta zonata.
- CRL = distanza tra il punto più craniale del cranio e l'estremità caudale delle natiche alla base della coda.
- BP = distanza tra le due ossa parietali del cranio parallele tra di loro in sezione frontale.
- AD = media dei due diametri addominali, uno ventro-dorsale e l'altro medio-laterale, perpendicolari tra di loro a livello di fegato e stomaco.

-GD = media dei due diametri gastrici, uno ventro-dorsale e l'altro medio-laterale, perpendicolari tra di loro nel punto di maggior dimensione dello stomaco.

Per quanto riguarda la stima dell'età gestazionale si è fatto riferimento, per la prima metà della gravidanza, al lavoro di Zambelli et al. del 2002 dove le misure ecografiche sono state messe in relazione all'età mediante le seguenti equazioni di regressione lineare:

$$GA = (CRL + 31,43) / 2,0087$$

$$GA = (ECC + 12,13) / 1,602$$

$$GA = (ICC + 11,566) / 1,368$$

CRL, ECC, ICC in mm.

Nella seconda metà della gravidanza ci si è serviti, invece, del lavoro di Zambelli et al. del 2004 in cui viene utilizzata la seguente equazione logaritmica per datare la gestazione:

$$GA = [\log(y/a)]/b$$

Per AD: a = 0,405565; b = 0,0372141

Per GD: a = 0,115113; b = 0,0388901

Per BP : a = 0,483873; b = 0,02756

AD, GD, BP in cm.

### 7.1.2 RADIOLOGIA

Quando il precedente esame ecografico ci permetteva di ritenere che la gravidanza fosse ad uno stadio avanzato si eseguiva subito anche un esame radiografico. Abbiamo deciso di sottoporre a tale valutazione solo gatte la cui gestazione sembrava superiore ai 45 giorni, in quanto solitamente i proprietari si preoccupano molto delle conseguenze che le radiazioni possono comportare sui feti e accettano l'esame solo quando l'organogenesi è ormai completata ed il pericolo per i cuccioli è ridotto. Si sono, quindi, radiografate 6 gatte, poste in decubito laterale destro, tarando la macchina a 53-55 KW e 4 mAs. Sulle immagini, così, ottenute si è cercato di misurare il CRL dei feti utilizzando gli stessi riferimenti riportati nel paragrafo precedente per la medesima valutazione ecografica. Per quanto riguarda la stima dell'età gestazionale si è fatto riferimento ai dati sulla comparsa delle diverse strutture ossee riportati da Boyd, nel 1971, e riassunti nella seguente tabella:

Giorni dall'accoppiamento	Risultanze radiografiche
25-35	Utero espanso con posizione più anteriore in addome
38	Ossificazione della mandibola fetale, delle ossa craniche frontali e parietali, della scapola, dell'omero, del femore, delle coste e dei corpi vertebrali
41	Radio e ulna
43	Tibia, fibula, ileo, ischio ed occipitale cranico

47	Ossa interparietali
49	Ossa metacarpali e metatarsali
52	Falangi delle dita e sterno
53	Osso fibulo-tarsale e bolla timpanica
58	Denti molari
60	Denti e osso tarso-tibiale

### 7.1.3 MICROSCOPIA E MACROSCOPIA

Terminati gli esami la gatte sono state condotte in sala chirurgica per essere operate. L'anestesia si è mantenuta mediante Isoflurano ed i soggetti sono stati, infine, sterilizzati e ricondotti in ambulatorio per il risveglio. Gli uteri delle gatte sono stati, invece, subito portati nel laboratorio di ostetricia della clinica per essere esaminati. Ogni utero è stato fotografato con una macchina digitale (fujifilm 6.3 mega pixels) e, poi, aperto. Si sono estratti, poi, 2 embrioni/feti che sono stati sottoposti a misurazioni mediante un calibro e fotografati. Le misure biometriche eseguite sono state le stesse di quelle rilevate con l'ecografia, utilizzando sempre i medesimi punti di riferimento. Per la stima dell'età gestazionale si è fatto riferimento al lavoro di Evans & Sack del 1973 dove sono riportate le variazioni delle caratteristiche esterne e del CRL dei felini, nel periodo prenatale, in relazione con l'età. Tali dati sono riassunti nella tabella che segue:

gg. di gestazione	Caratteristiche
13	Inizia la formazione del somite
14	Presenti la vescicola ottica ed il placode ottico; formazione del tubo neurale
15	Presenti tre archi branchiali; torsione della parte caudale dell'embrione
17	Presenti quattro archi branchiali; presente la vescicola acustica
18	Presente la gemma degli arti anteriori; formazione del placode olfattivo
19	Formazione della gemma degli arti posteriori
20	Testa a contatto con i rigonfiamenti degli abbozzi cardiaci; si formano le fossette olfattorie; presente il piatto della mano
21	Si forma il meato acustico; si formano gli occhi e il pigmento; si separano un pò le dita; gli intestini erniano nel cordone ombelicale
22	Presente la linea mammaria; si dentella la mano nell'arto anteriore; presente la pinna come una cresta
24	Le dita degli arti anteriori si separano distalmente; si formano i follicoli dei peli tattili sulle labbra, sul muso ed intorno agli occhi; presente un primordiale apparato mammario; la pinna diventa triangolare e si proietta rostralmente; si formano le palpebre
26	Le dita degli arti posteriori si separano distalmente
27	Tutte le dita si allungano molto; la lingua diventa visibile; la pinna copre quasi il meato acustico; follicoli piliferi sono presenti sul corpo
28	Le palpebre si stanno chiudendo; si formano le unghie

30	Le palpebre sono quasi chiuse; la pinna copre il meato acustico
31	Le palpebre si uniscono completamente
32	Si salda il palato
37	Peli tattili sono presenti sul muso
46	Compaiono peli sottili sul corpo; il naso è pigmentato; le unghie si rinforzano alle estremità
50	Peli sottili ricoprono tutto il corpo; le unghie si induriscono e diventano bianche; la pelle si pigmenta
60-63	Nascita

Le stesse analisi sono state condotte su 16 uteri provenienti dal canile sanitario di Rovigo. Questi giungevano a noi freschi o conservati in formalina e senza che sulla gatta, da cui erano stati estratti, fossero eseguiti esami ecografici o radiologici. Sono rientrati, nonostante ciò, nel nostro lavoro in quanto ci hanno consentito di effettuare rilievi microscopici/macrosopici ampliando i nostri dati ed il book fotografico. In totale, quindi, 64 tra embrioni e feti sono stati, alla fine, stoccati in formalina e condotti al Dipartimento di Scienze Sperimentali Veterinarie della Facoltà di Medicina Veterinaria. Un embrione di 25 giorno è stato scelto, in conclusione, per eseguire delle sezioni istologiche, mentre i feti di 6 gatte sono stati ulteriormente valutati e fotografati dopo aver eseguito un taglio lungo il piano sagittale del feto privato del cranio.

Occorre aggiungere che per ottenere i dati i feti sono stati misurati macroscopicamente, mentre gli embrioni di dimensioni inferiori al cm. sono stati valutati e fotografati allo stereomicroscopio, poichè a causa delle

loro dimensioni ridotte necessitavano di ingrandimento. Per l'osservazione istologica, invece, si è fissato il soggetto in toto in paraformaldeide diluita al 4% in PBS (phosphatase buffer saline) (0,1M, ph 7,4) per 12 ore a 4 °C. In seguito si sono eseguiti un lavaggio in PBS, la disidratazione attraverso passaggi graduali in etanolo (70, 90, 95 e 100°), la chiarificazione in xilolo ed, infine, l'inclusione in paraffina. Il campione è stato, poi, tagliato al microtomo in sezioni longitudinali dello spessore di 5-7 $\mu$ . Queste sono state immerse in un bagnetto termostato, fatte aderire ad un vetrino e poste ad asciugare su una piastra calda. Dal momento che la paraffina è incompatibile con le soluzioni liquide, prima della colorazione, il campione è stato idratato con bagni di etanolo con scala inversa (100, 90, 70°C, acqua distillata). La colorazione utilizzata è quella Ematossilina-Eosina. Per montare la sezione essa è stata, poi, disidratata (con passaggi seriali in scala ascendente di alcool), chiarificata in xilolo ed, infine, montata su un vetrino mediante un balsamo collante.

## 7.2 PROVE

Le prove svolte hanno riguardato in tutto 33 gatte ed i loro embrioni/feti che, come in precedenza descritto, appartengono ad un gattile di Monselice od al canile sanitario di Rovigo. Le gatte di Monselice sono state ecografate, radiografate, quando ritenuto opportuno, ed infine sterilizzate chirurgicamente. Gli uteri sono stati, poi, aperti ed i feti/embrioni valutati e fotografati. Gli uteri delle gatte del canile sanitario sono stati analizzati solo dal punto di vista microscopico e macroscopico, poichè non stati oggetto in precedenza di ecografie e radiografie. Tutte le gatte sono state numerate in base all'ordine di arrivo dalla n° 1 alla 33, mentre a quelle valutate anche ecograficamente, e radiograficamente se del caso, è stato conferito l'appellativo aggiuntivo di caso da 001 a 017. Le misure biometriche eseguite sono state l'ECC, l'ICC ed il CRL per la prima metà della gravidanza, il BP, l'AD ed il GD per i secondi 30 giorni. Tali rilievi si sono effettuati ecograficamente, radiograficamente (solo il CRL) e macroscopicamente ( il CRL si è valutato per tutta la gestazione). Infine agli embrioni è stata conferita un'età sulla base dei dati ottenuti con le tre tecniche come spiegato nel precedente paragrafo. Tutti questi dati sono stati messi, poi, in relazione con lo scopo di valutare quanto le tre metodologie differiscono tra loro e di rilevarne i pro ed i contro.

Nella tabella che segue sono riportati i soggetti del nostro studio ed i rilievi effettuati:



Gatta N	Feto A							Feto B							ETA'
	Metodo	ECC	ICC	CRL	BP	AD	GD	Metodo	ECC	ICC	CRL	BP	AD	GD	
1	ECO A	?						ECO B	?						?
	MACRO A	?						MACRO B	?						
	RX A	?						RX B	?						
2	ECO A							ECO B							
	MACRO A			6	?	?		MACRO B	?						40
	RX A							RX B							
3	ECO A							ECO B							
	MACRO A			3,4	?	?		MACRO B	?						27-28
	RX A							RX B							
4 caso001	ECO A	1,9	1,7	0,9				ECO B	1,9	1,66	0,9				20
	MACRO A	2	1,8	0,7				MACRO B	1,9	1,7	0,7				20
	RX A							RX B							
5 caso002	ECO A				1,49	2,4	0,74	ECO B				1,69	2,54	0,9	47
	MACRO A			8,5	1,6	2,2		MACRO B			8,5	1,3	2,1		47
	RX A			7				RX B			7,6				47
6 caso003	ECO A				1,83	2,71	0,79	ECO B				1,86	2,63	0,67	49
	MACRO A			11,5	1,8	2,8		MACRO B			11,7	1,7	3		55
	RX A			9,7				RX B			9,5				53
7 caso004	ECO A	2,5	1,79	1,03				ECO B	2,5	1,8	0,8				22
	MACRO A	2,5	2,1	1				MACRO B	2,5	2	0,9				21
	RX A							RX B							
8	ECO A							ECO B							41
	MACRO A			8	1,6	1,6		MACRO B			8,5	1,6	1,8		45
	RX A							RX B							
9	ECO A							ECO B							32
	MACRO A			5,5	0,9	0,9		MACRO B			5,5	0,9	0,9		31
	RX A							RX B							
10	ECO A							ECO B							30
	MACRO A	?	?	3,1	0,7			MACRO B	?	?	3	0,6			27
	RX A							RX B							
11	ECO A							ECO B							29
	MACRO A	?	?	2,7	0,5			MACRO B	?	?	2,6	0,4			26
	RX A							RX B							
12	ECO A							ECO B							23
	MACRO A	2,4	2	1,2				MACRO B	2,5	2,1	1,4				23
	RX A							RX B							
13	ECO A							ECO B							22
	MACRO A	2,2	1,8	1,1				MACRO B	2,3	1,9	1,1				22
	RX A							RX B							
14 caso005	ECO A	4	3,43		0,99	1,44	0,3	ECO B				1,02	1,3	0,35	29
	MACRO A	?	?	5,4	1	1,3		MACRO B			5,5	1	1,3		30
	RX A							RX B							
15 caso006	ECO A	1,82	1,53	0,75				ECO B	2,04	1,65	0,64				20
	MACRO A	2	1,6	0,8				MACRO B	2,05	1,7	0,9				20
	RX A							RX B							
16 caso007	ECO A	aborto						ECO B							?
	MACRO A	2,5	aborto					MACRO B	aborto						
	RX A							RX B							
17 caso008	ECO A	2,62	2,47	1,9				ECO B	2,65	2,01	1,72				25
	MACRO A	2,7	2,3	1,7				MACRO B	2,72	2,32	1,9				25
	RX A							RX B							

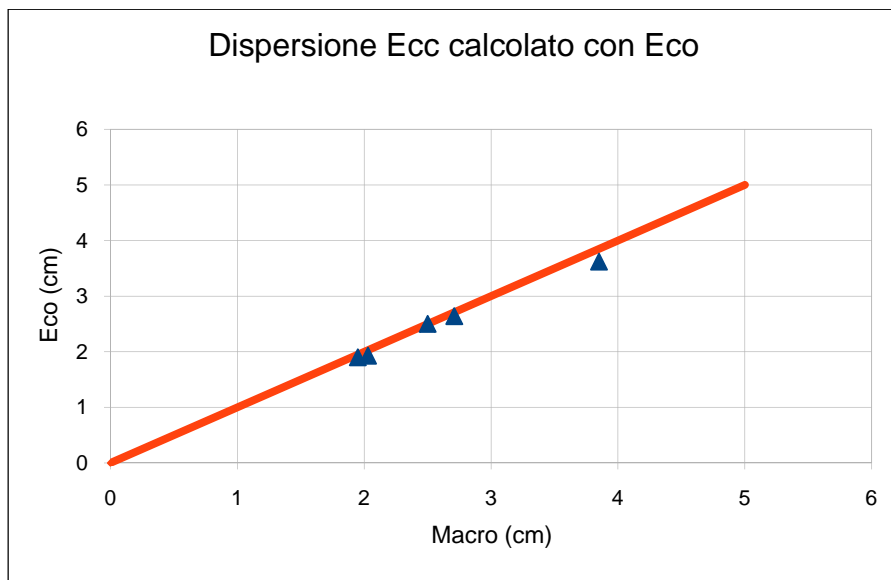
Gatta N	Feto A							Feto B							ETA'
	Metodo	ECC	ICC	CRL	BP	AD	GD	Metodo	ECC	ICC	CRL	BP	AD	GD	
18	ECO A							ECO B							26
	MACRO A	2,9	2,7	1,9				MACRO B	3,2	2,8	1,9				25
	RX A							RX B							
19	ECO A							ECO B							41
	MACRO A			8	1,2	1,5		MACRO B			8	1,3	1,6		46
	RX A							RX B							
20	ECO A							ECO B							26
	MACRO A	3,1	2,9	1,8				MACRO B	3	2,6	1,6				24
	RX A							RX B							
21 caso009	ECO A				1,03	1,57	0,37	ECO B				1,04	1,55	0,42	32
	MACRO A			5,6	1,2	1,5		MACRO B			5,7	1,3	1,4		35
	RX A							RX B							
22 caso010	ECO A				2,05	2,38	1,38	ECO B				1,56	3,04	0,72	51
	MACRO A			11,5	1,8	2,55		MACRO B			11	2	2,6		55
	RX A			9,7				RX B			9,4				53
23 caso011	ECO A				1,47	2,45	0,61	ECO B				1,48	2,43	0,56	44
	MACRO A			11,2	1,7	2,4		MACRO B			10,08	1,7	2,6		55
	RX A			10,3				RX B			10				53
24 caso012	ECO A	1,17						ECO B							?
	MACRO A	aborto						MACRO B	aborto						
	RX A							RX B							
25 caso013	ECO A				1,69	3,25	0,62	ECO B				1,6	2,34	0,71	47
	MACRO A			11	1,6	2,25		MACRO B			10,5	1,6	2,3		55
	RX A			9				RX B			10,2				53
26	ECO A							ECO B							56
	MACRO A			12	2,2	3,3		MACRO B			12,6	2,1	2,8		60
	RX A							RX B							
27	ECO A							ECO B							
	MACRO A	aborto						MACRO B	aborto						?
	RX A							RX B							
28 caso014	ECO A				1,77	1,71	0,43	ECO B				1,67	2,24	0,54	42
	MACRO A			7,5	1,4	1,6		MACRO B			8	1,2	1,3		47
	RX A							RX B							
29 caso015	ECO A				3,5	2,5	0,6	ECO B				?	2,2	0,5	46
	MACRO A			8,5	1,5	1,5		MACRO B			9	1,4	1,6		48
	RX A			8				RX B			8,2				47
30	ECO A							ECO B							28
	MACRO A	2,9	2,7	3				MACRO B	3	2,8	3,2				28
	RX A							RX B							
31 caso016	ECO A				1,57	1,91	0,55	ECO B				?	?	?	47
	MACRO A			10	1,4	1,9		MACRO B			10,2	1,6	1,9		50
	RX A							RX B							
32 caso017	ECO A	3,83	3,14	?	0,95	1,1	0,23	ECO B	3,41	2,91	?		1,41		30
	MACRO A	3,8	3,4	3,6	4			MACRO B	3,9	3,3	4				29
	RX A							RX B							
33	ECO A							ECO B							22
	MACRO A	2,2	2	0,7				MACRO B	2,4	2,2	0,7				22
	RX A							RX B							

? dato non rilevato

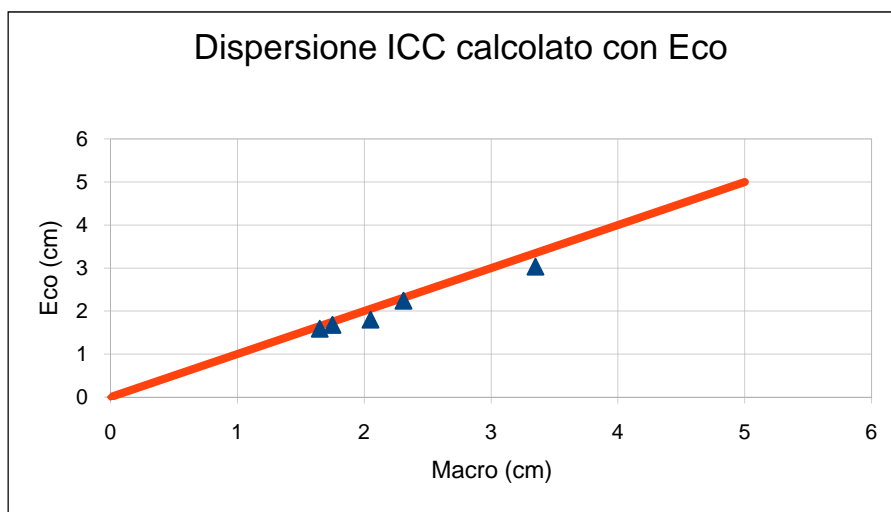
Si è deciso di escludere dal trattamento dei dati le gatte numero 1, 2 e 3 poichè essendo state le nostre prime “pazienti” sono state utilizzate come prova e non tutti i rilievi sono stati eseguiti in maniera corretta. Le gatte 16, 24 e 27 non possono, invece, farne parte in quanto al momento dell’osservazione sul tavolo anatomico si è reso evidente che esse stavano abortendo (cosa che era già stato ipotizzata ecograficamente nei primi due casi). I dati dei casi dallo 001 allo 017 (esclusi lo 007 e lo 012: i 2 aborti) sono stati messi in relazione tra loro, così come le età ottenute con le tre tecniche di misurazione fetometriche. I rilievi eseguiti sugli embrioni/feti delle restanti gatte, invece, poichè erano soltanto quelli di tipo anatomico, sono stati utilizzati per completare il più possibile la scala di crescita visibile nel book fotografico e come conferma della stretta connessione tra la tecnica ecografica ed i dati reali.

L’embrione della gatta n° 17 è stato, infine, scelto per eseguire delle sezioni istologiche, mentre i feti delle gatte 8, 9, 14, 32, 30, 10 sono stati ulteriormente valutati al tavolo anatomico e sezionati longitudinalmente con lo scopo di visualizzare anche lo sviluppo degli organi interni.

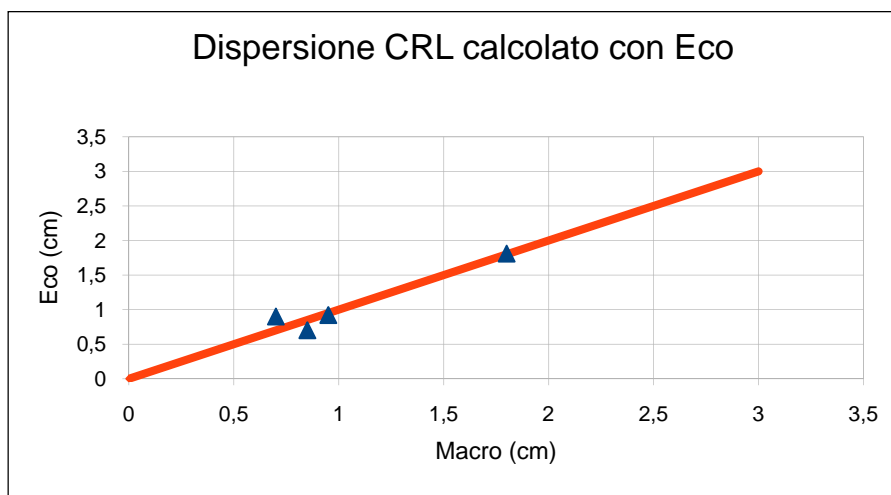
### 7.3 RISULTATI



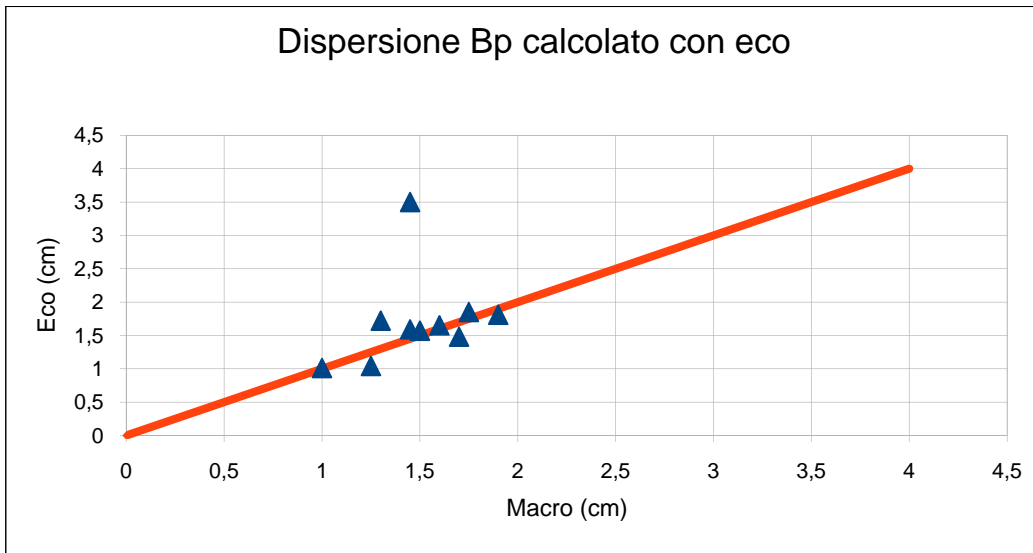
Tab.1: Differenza tra le misure ecografiche dell'ECC (triangoli) ed i dati reali.



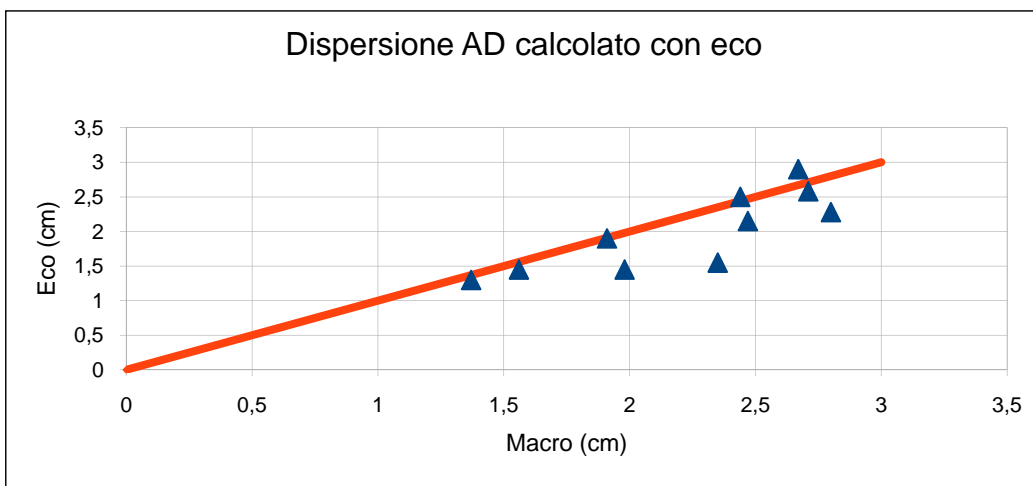
Tab.2: Differenza tra le misure ecografiche dell'ICC (triangoli) ed i dati reali



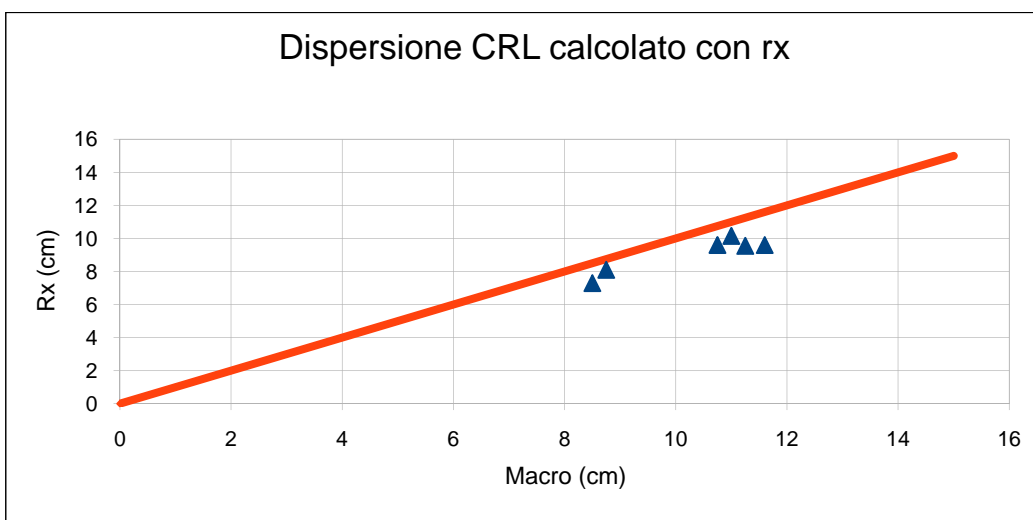
Tab.3: Differenza tra le misure ecografiche del CRL (triangoli) ed i dati reali.



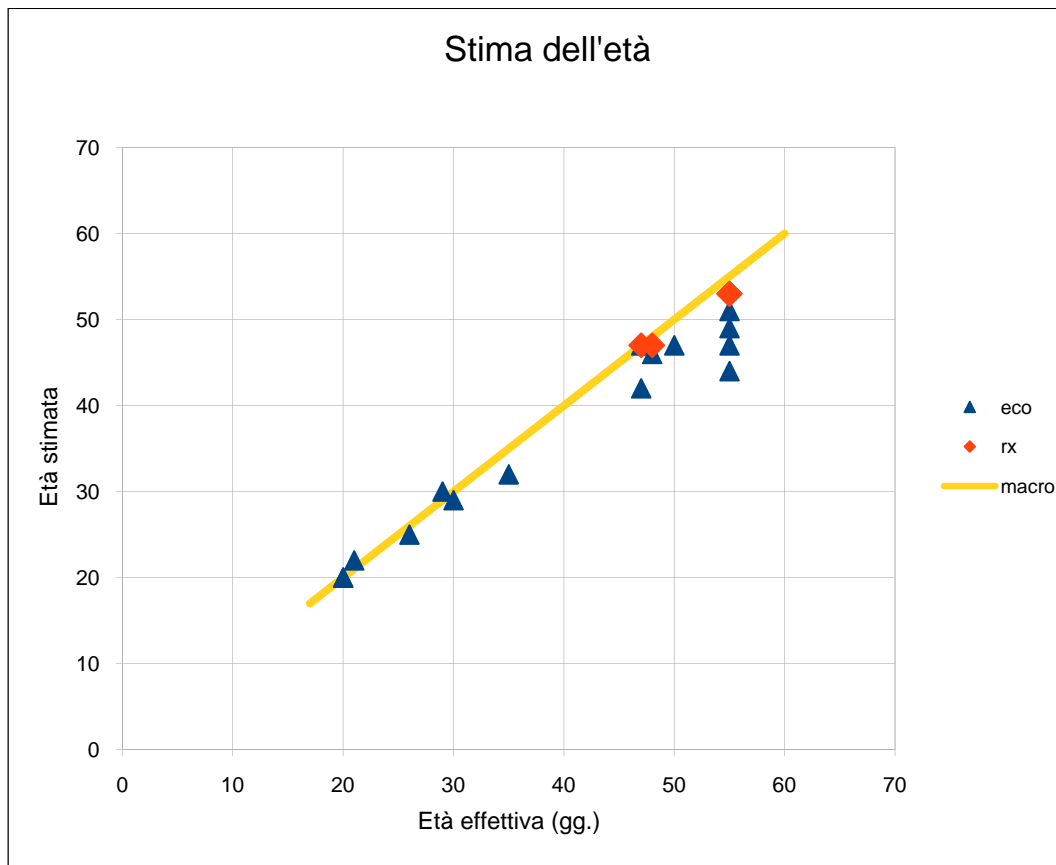
Tab.4: Differenza tra le misure ecografiche del BP (triangoli) ed i dati reali.



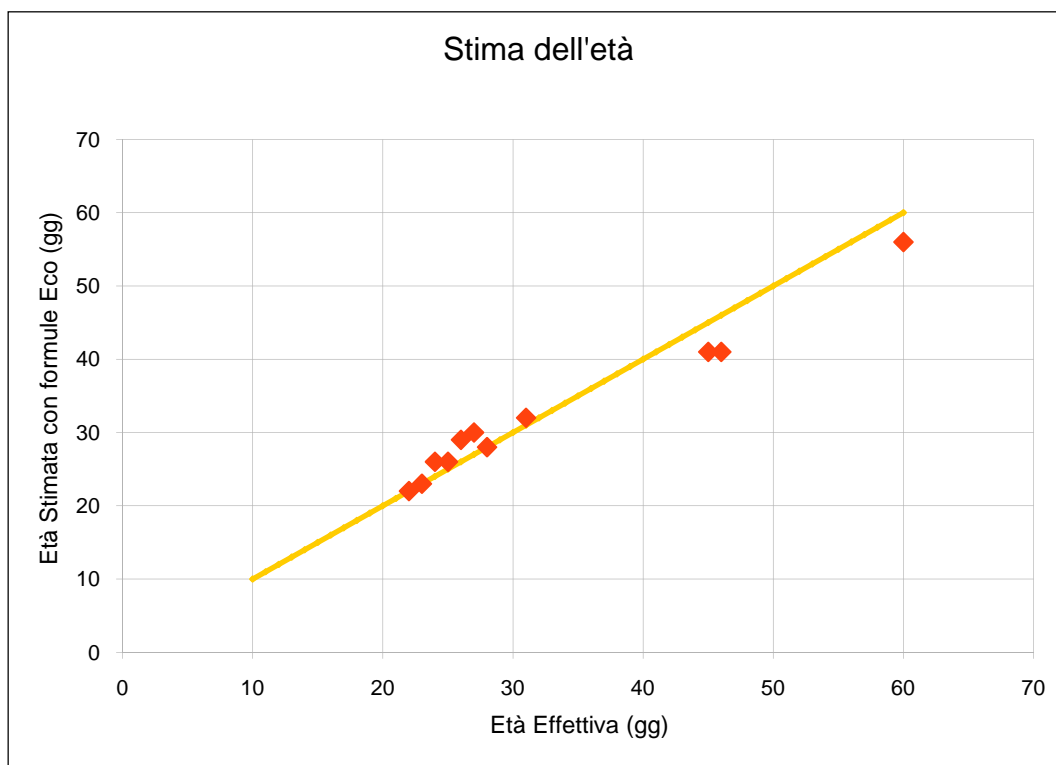
Tab.5: Differenza tra le misure ecografiche dell'AD (triangoli) ed i dati reali.



Tab.6: Differenza tra le misura radiografiche del CRL (triangoli) ed i dati reali.



Tab.7: Differenza tra l'età reale e quella stimata radiograficamente ed ecograficamente.



Tab.8: Differenza tra l'età reale e quella stimata con i dati macro, utilizzando le formule eco.

## 7.4 DISCUSSIONE

Attraverso le misure fetometriche è possibile determinare il periodo della gravidanza e prevedere il momento del parto della gatta. Esistono, ovviamente, alcune variabili che è opportuno tenere in considerazione, come le differenze di taglia tra i soggetti valutati ed anche tra i soggetti stessi di una cucciolata, l'esperienza dell'operatore e la precisione dell'apparecchiatura utilizzata. Partendo da queste considerazioni si è voluto mettere in relazione le tre diverse tecniche di misurazione fetometrica (ecografica, radiografica e macro/microscopica), confrontando le misure ottenute e la stima dell'età al fine di mettere in evidenza eventuali pro e contro di ciascuna metodologia. Diciassette gatte sono state, perciò, valutate ecograficamente ed i dati ottenuti sono stati messi in relazione con quelli derivati dall'osservazione micro/macroscopica e dalla valutazione radiologica, quando eseguita. I risultati sono stati riportati nelle tabelle n° 1-7 del paragrafo precedente. Esaminandole si può notare come i valori ottenuti ecograficamente, mediante le misurazioni fetometriche, nella prima metà della gravidanza siano simili a quelli "reali", mentre quelli ottenuti nella seconda parte della gestazione presentino delle differenze, più o meno marcate. Questo si riflette, ovviamente, anche sull'età la quale risulta quasi sempre coincidere per le due tecniche nei primi 30 giorni, mentre nei successivi compaiono delle differenze. Ciò si potrebbe imputare al fatto che nella seconda metà della gestazione i feti si accrescono notevolmente, si sovrappongono e risulta difficile ottenere, in poco tempo, la scansione ecografica più idonea alla misurazione. Non è sempre facile trovare i punti di riferimento adatti e così, a volte, si è costretti a rilevare la misura con una certa approssimazione. I valori più discordanti si riscontrano, infatti, proprio a termine di gravidanza. Per quanto riguarda la tecnica radiografica, invece, si è tentato di misurare il CRL fetale, ma ci si è resi subito conto

che a causa della sovrapposizione e dell'incurvamento dei soggetti il dato risultava molto diverso dalla "realtà" (sottostimato). Poichè la radiografia è una riproduzione in 2-D di un'immagine in 3-D l'effetto sovrapposizione è ancora più accentuato, senza contare che esistono sempre un certo grado di magnificazione e di distorsione radiografica. Solitamente, nella pratica clinica, si eseguono una o due radiografie al massimo, per cui appare complicato riscontrare dei feti ben posizionati da poter facilmente valutare. Le stesse radiografie, inoltre, non sempre sono perfettamente visibili a causa della sovrapposizione delle anse intestinali. Le strutture fetali osservabili radiografando l'addome materno risentono, quindi, di diversi fattori che ostacolano il riconoscimento di determinati elementi e di conseguenza la stima dell'età. Le ossa più grandi dello scheletro assiale ed appendicolare sono abbastanza individuabili, mentre le difficoltà maggiori si hanno con le ossa del carpo e del tarso e con le falangi della dita. La datazione, qui, eseguita risente proprio di questo, poichè ci si è basati sull'individuazione delle ossa interparietali e delle bolle timpaniche che sono strutture facilmente visibili. Risulta, invece, molto più semplice la conta dei feti che alla successiva valutazione macroscopica si è sempre riscontrata corretta.

Gli embrioni/feti delle 16 gatte del canile sanitario di Rovigo sono stati, invece, valutati solo dal punto di vista micro/macroscopico e l'età è stata calcolata sia sulla base di tali osservazioni sia utilizzando le formule ecografiche con i dati "reali". I risultati di tale prova sono riportati nella tabella n° 8 del paragrafo precedente. Come per la prima prova anche qui le età risultano molto simili nella prima metà della gravidanza, confermando l'attendibilità della valutazione ecografica, mentre nella seconda parte della gestazione i dati sono pochi per poter trarre delle conclusioni, ma la differenza nelle due età risulta meno marcata. Bisogna, inoltre, tenere conto che tali soggetti sono giunti fissati in formalina, diversamente da quelli della prova precedente, per cui ci potrebbero essere delle differenze nelle



misurazioni dovute anche a questo motivo, dato l'azione coartante della soluzione sui tessuti.

Occorre, infine, sottolineare che per attribuire l'età dal punto di vista micro/macroscopico ci si è serviti delle osservazioni eseguite da Evans & Sack, nel 1972, sulle caratteristiche esterne del feto e sulla misura del CRL. Proprio riguardo quest'ultima si sono notate delle discordanze rispetto alla letteratura. Tra i 26 ed i 35 giorni di età si riscontrano le differenze più rilevanti. Di seguito sono riportate le misure del CRL riferite da Farris (1950), Boyd (1971) ed Evans & Sack (1972) e quelle qui rilevate.

Giorni dall'accoppiamento	CRL in mm (letteratura)	CRL in mm (dati sperimentali)
26	21-22	26
27	23	30
28	26	31-34
29	26-28	38
30	27-31	54
31	35-36	55
32	37-38	
33	37-38	
34	43	
35	45	56
36	50	
38	58	60

I valori del CRL misurati in questa prova differiscono dalla letteratura solo nell'intervallo 26-38 giorni, mentre le caratteristiche esterne considerate da Evans & Sack per valutare l'età gestazionali corrispondono. La gatta 14

presenta, infatti, feti che sono lunghi 54,5 mm e quindi, dovrebbero avere 36-38 giorni, ma le palpebre non sono ancora del tutto chiuse riportando, così, l'età a 30 giorni. La gatta 9 presenta feti di 55 mm con palpebre quasi del tutto chiuse, mentre la gatta 21 presenta feti di 56,5 mm con palpebre ben chiuse. La gatta 10, invece, presenta feti di 30,5 mm che dovrebbero avere 30 giorni, ma che non presentano le caratteristiche tipiche di tale età, ma di 27 giorni, avendo le palpebre aperte e non essendoci ancora le unghie in formazione. Queste differenze, in ogni caso, si riscontrano nel momento in cui la crescita fetale comincia a farsi rilevante ed in pochi giorni si verificano notevoli incrementi di taglia per cui è possibile via sia una certa variabilità nel CRL, mentre le caratteristiche esterne riconducono ad un'età più attendibile. Nella nostra esperienza, comunque, quest'intervallo si è dimostrato il più critico per determinare l'età in quanto proprio a 30 giorni le misure fetometriche da rilevare ecograficamente cambiano, i feti subiscono mutamenti repentini e l'incurvamento della colonna vertebrale o del collo possono trarre in inganno nella misurazione.

## 7.5 CONCLUSIONI

La diagnosi di gravidanza nella gatta può essere eseguita utilizzando diversi metodi: la palpazione addominale, la radiografia e l'ecografia. Tali tecniche possono essere impiegate anche per monitorare la gestazione e per misurare i cambiamenti di dimensione delle strutture fetali ed extrafetali che servono per predire l'età gestazionale.

Dal confronto dei tre diversi sistemi di misurazione fetometrica e stima dell'età gestazionale si può rilevare che l'ecografia risulta una tecnica piuttosto attendibile, soprattutto nella prima metà della gravidanza. Le misure ottenute mediante la valutazione ecografica sono, infatti, molto simili a quelle "reali", soprattutto nei primi 30 giorni di gestazione. Nei giorni successivi si è notata una differenza più o meno marcata, probabilmente da imputare all'aumento di dimensione dei feti ed alla conseguente difficoltà ad ottenere, in poco tempo, un'immagine ecografica corretta da misurare. La radiologia presenta, invece, degli ostacoli maggiori. Il feto, come già detto, diventa evidente solo dopo il 38° giorno; la misurazione del CRL fetale, quindi, appare complicata in quanto i cuccioli tendono ad incurvarsi e a sovrapporsi a causa del notevole aumento di dimensioni. Per questi motivi è difficile valutare anche la comparsa di strutture ossee molto piccole, come per esempio le falangi, che vengono usate in bibliografia per datare la gravidanza. La radiologia è, però, tutt'oggi il metodo migliore per contare il numero di feti.

È importante, nell'esecuzione delle misure biometriche, tenere sempre in considerazione l'esperienza dell'operatore, la precisione delle apparecchiature nonché le variazioni individuali che riguardano madre e feto. Quest'ultimo fattore è rilevante soprattutto nel cane se si considera la differente mole tra le varie razze e non è da sottovalutare, in ecografia, nemmeno nel gatto. Non tutti i pazienti infatti reagiscono all'esame allo stesso modo rendendolo non sempre "facile" da eseguire; inoltre il diverso

grado di riempimento della vescica urinaria può offrire un'immagine più o meno chiara da valutare, mentre il respiro stesso del soggetto può causare difficoltà nell'ottenere una scansione adatta per le misurazioni.

In contrasto con quanto riportato in letteratura si è notata una misura del CRL superiore nei giorni 26-38 di gravidanza, mentre le caratteristiche esterne fetali risultano le stesse. Questo si verifica in un intervallo della gestazione nel quale i feti si accrescono notevolmente per cui, a parer nostro, tale misura potrebbe risentire di differenze, mentre le caratteristiche esterne fetali risulterebbero più attendibili. Si deve tener conto che anche la letteratura riporta dati contrastanti e questo conferma la difficoltà di ottenere dei valori "assoluti", soprattutto dalla seconda metà della gravidanza in poi, sebbene sia possibile con buona approssimazione determinare il periodo della gravidanza.

Gli embrioni/feti valutati in questo lavoro sono diventati, infine, il soggetto di un book in cui sono riportate le radiografie e le ecografie eseguite in diversi stadi di sviluppo e le fotografie dei medesimi soggetti disposte, a parere nostro, in ordine cronologico. Vi sono, inoltre, inserite le sezioni longitudinali di alcuni feti ed alcune sezioni istologiche.

**QUARTA PARTE:**

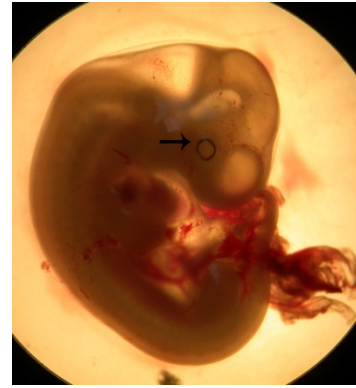
**BOOK FOTOGRAFICO**



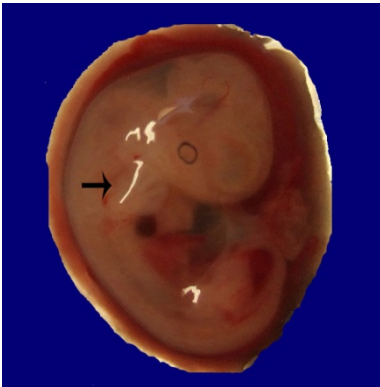
## 8.FOTO



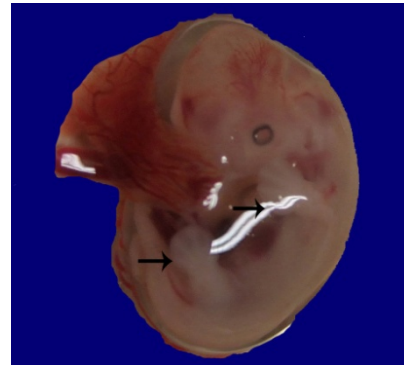
Embrione di 20gg. fissato in formalina. Presenti le gemme degli arti (freccia) ed il cuore (puntina).



Embrione di 21 gg. fresco. Ben visibili i precursori degli occhi (freccia).



Embrione di 22 gg. fresco. Si dentella la mano dell'arto ant. (freccia).



Embrione di 23 gg. fresco. Si dentellano mani e piedi (freccie).

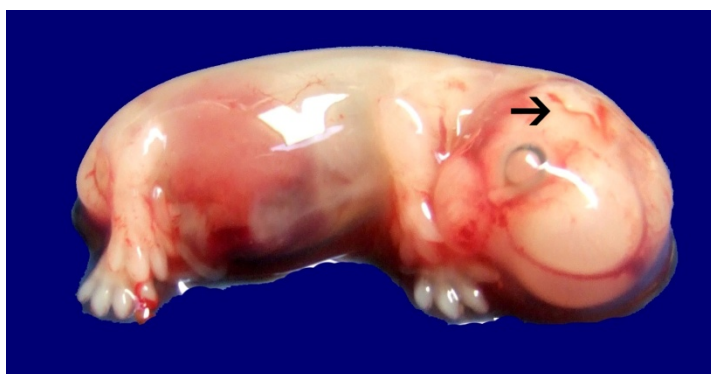


Embrioni di 24 gg. fissati in formalina. Le dita degli arti anteriori si separano distalmente, si formano le palpebre (freccia) ed i follicoli dei peli tattili del muso. Visibile anche il meato acustico (puntina).





Embrioni di 25 gg. Il primo fissato in formalina, il secondo fresco. Iniziano a separarsi le dita degli arti posteriori.



Feto di 26 gg. fresco. Si separano tutte le dita. La pinna si proietta rostralmente (freccia).



Feto di 27 gg. fissato in formalina. Feto di 27-28 gg. fissato in formalina. Le dita si allungano, iniziano a formarsi le unghie e la lingua diventa visibile. Presenti follicoli piliferi su tutto il corpo.

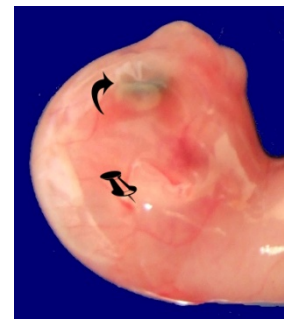




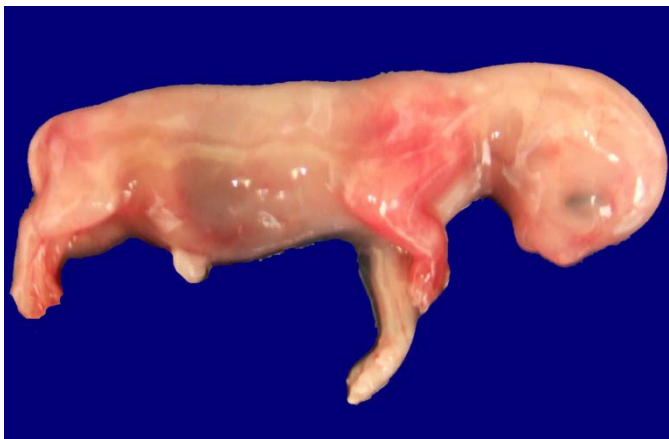
Feto di 28 gg.

Feto di 29 gg.

Entrambi fissati in formalina. Si formano le unghie, le palpebre si stanno chiudendo.



Feto di 30 gg. fresco. Le palpebre sono quasi chiuse (freccia), la pinna copre il meato acustico (puntina).



Feto di 31 gg. fresco. Le palpebre si chiudono.



Feto di 35 gg. fresco. Si salda il palato.



Feto di 40 gg. fissato in formalina. Compaiono peli tattili sulla faccia.



Feto di 45 gg. fresco. Si rinforzano le unghie alle estremità.



Feto di 46 gg. fissato in formalina. Compaiono peli sottili sul corpo.



Feto di 47 gg. fresco.



Feto di 48 gg. fissato in formalina. Peli tattili ben visibili sulla faccia.



Feto di 50 gg. fissato in formalina.  
Si pigmenta la pelle, le unghie si induriscono e diventano bianche.



Feto di 55 gg. fresco. Peli sottili ben visibili su tutto il corpo.



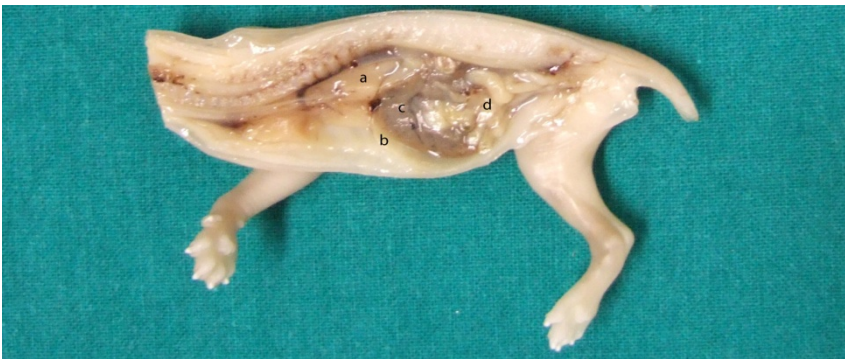
Feto di 60 gg. fissato in formalina.



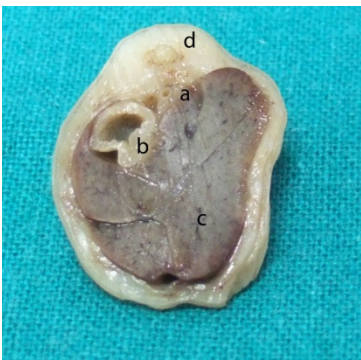
## FETI SEZIONATI



Sezione longitudinale sagittale sinistra di un feto di 45 giorni fissato in formalina e privato del cranio. Visibili: a: cuore; b: polmoni; c: diaframma; d: esofago; e: aorta; f: fegato; g: stomaco; h: milza; i: rene sx; l: cistifellea; m: anse intestinali



Sezione longitudinale sagittale destra di un feto di 45 giorni fissato in formalina e privato del cranio. Visibili: a: polmoni; b: diaframma; C: fegato; d: anse intestinali.



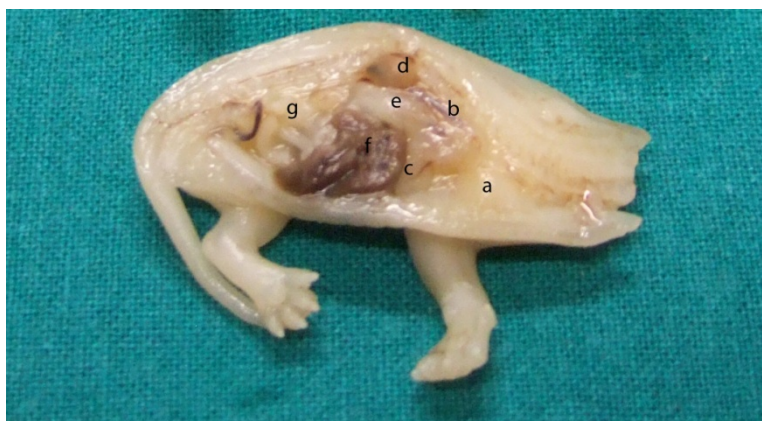
Sezione trasversale dell'addome di un feto di 45 giorni fissato in formalina eseguita a livello della regione ipocondriaca e xifoidea.. Visibili: a: aorta addominale; b: stomaco; c: fegato; d: 2° vertebra addominale.



Feti dal 31° al 27° giorno di gravidanza, fissati in formalina. a: 31 giorni; b: 30 giorni; c: 29 giorni; d: 28 giorni; e: 27 giorni.



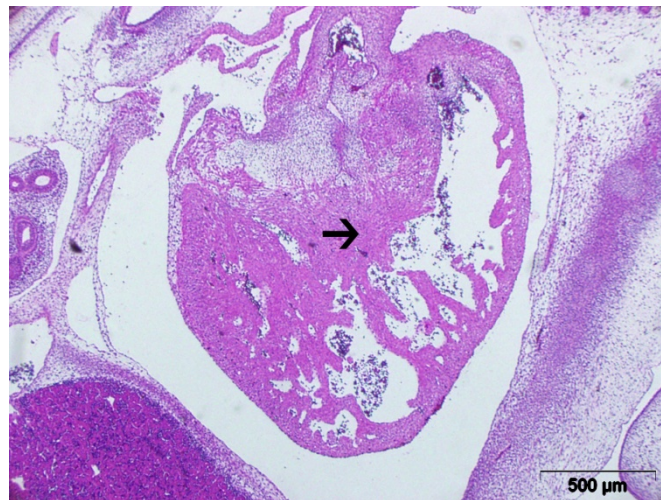
Sezione longitudinale sagittale destra di un feto di 30 giorni fissato in formalina e privato del cranio. Visibili: a: polmoni; b: cuore; c: diaframma; d: fegato; e: t. adiposo mesenterico ed anse intestinali.



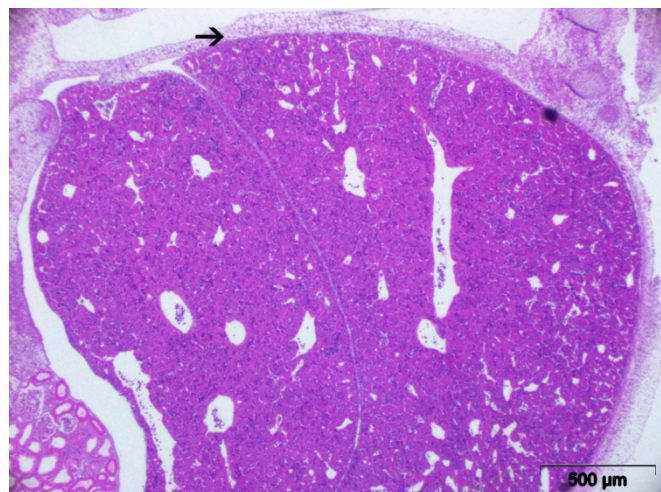
Sezione longitudinale sagittale sinistra di un feto di 30 giorni fissato in formalina e privato del cranio. Visibili: a: polmoni; b: aorta; c: diaframma; d: rene sx; e: stomaco; f: fegato; g: anse intestinali.



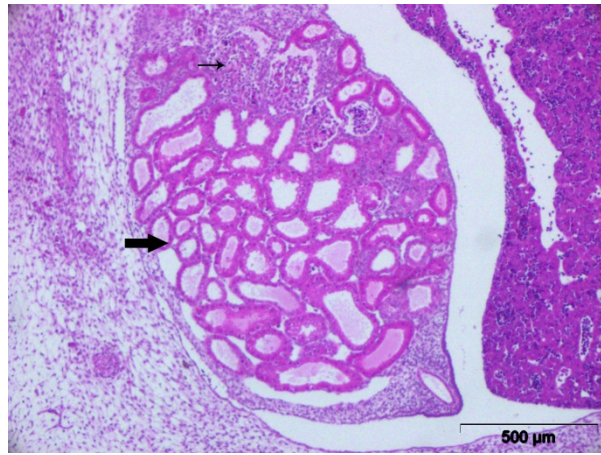
## SEZIONI ISTOLOGICHE



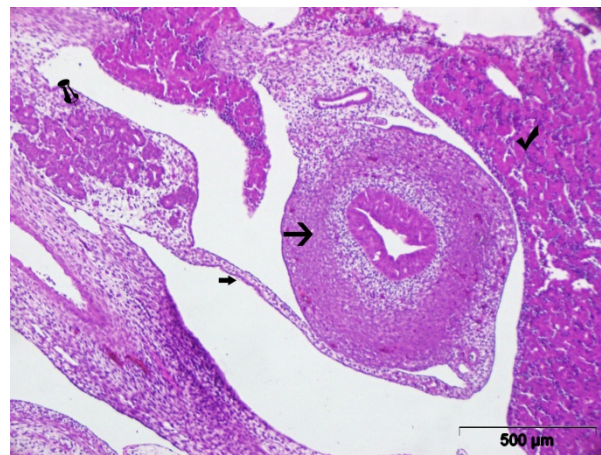
Embrione di 25 gg. Sezione longitudinale del cuore.  
Camere cardiache in formazione (freccia).



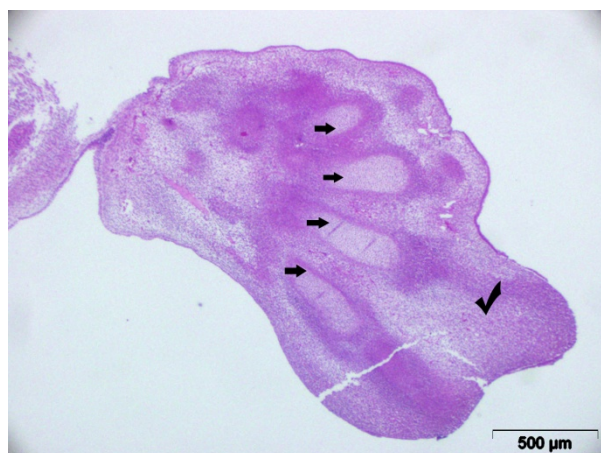
Embrione di 25 gg. Sezione longitudinale del fegato.  
Visibili la capsula (freccia) ed il parenchima.  
Struttura lobulare e spazi portalari in formazione.



Embrione di 25 gg. Sezione longitudinale del rene. Ben visibili i tubuli (freccia grande) e la capsula; glomeruli ancora in via di sviluppo (freccia piccola).



Embrione di 25 gg. Sezione longitudinale dello stomaco in formazione (freccia grande). Visibili anche: il piccolo omento (freccia piccola), il pancreas con gli acini in via di sviluppo (puntina) ed il fegato (✓).



Embrione di 25 gg. Sezione longitudinale del piede in via di sviluppo (ancora palmato). Visibili le cartilagini delle falangi in via di sviluppo (freccie) ed il mesenchima interstiziale (✓).



## SVILUPPO DEI GENITALI ESTERNI



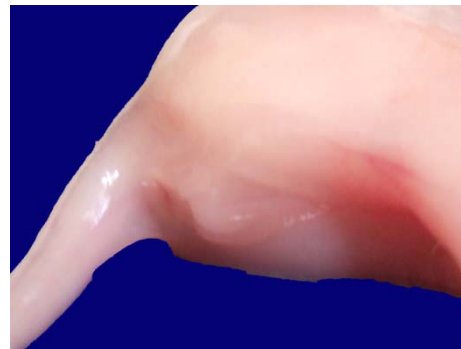
Genitali maschili di feto di 30 gg. fresco.



Genitali femminili di feto di 30 gg. fresco.



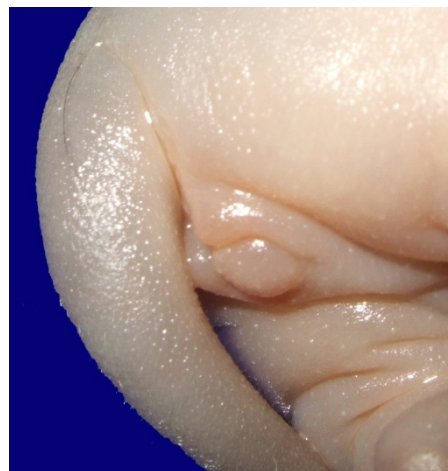
Genitali maschili di feto di 45 gg. fresco.



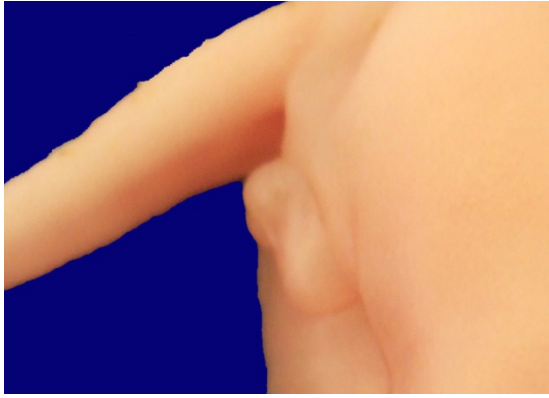
Genitali femminili di feto di 45 gg. fresco.



Genitali maschili di feto di 50 gg. fissato in formalina.



Genitali femminili di feto di 50 gg. fissato in formalina.



Genitali maschili di feto di 55 gg. fresco.



Genitali femminili di feto di 55 gg. fresco.

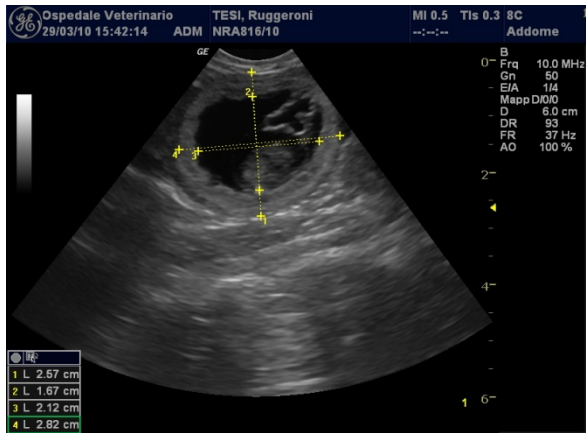


Genitali maschili di feto di 60 gg. fissato in formalina.

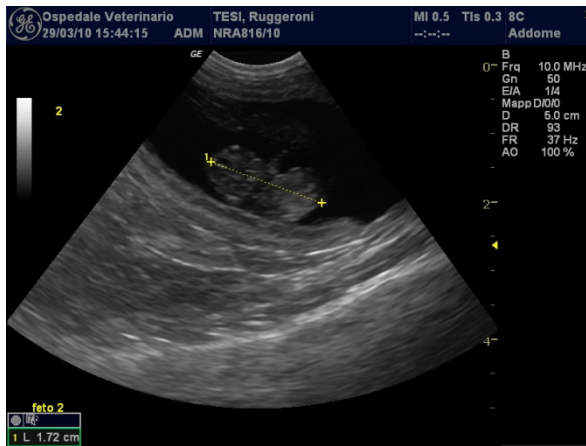


Genitali femminili di feto di 60 gg. fissato in formalina.

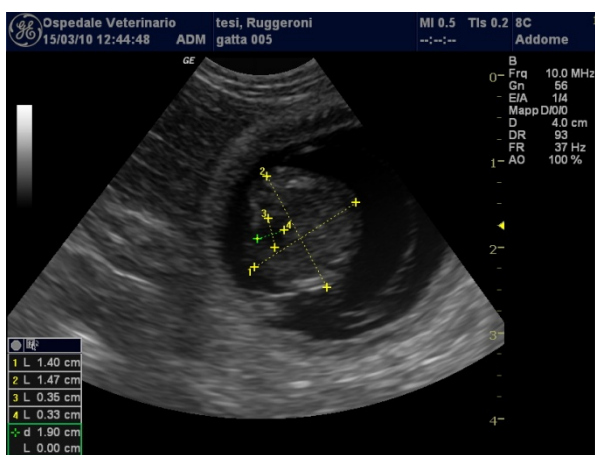
## 9. ECOGRAFIE



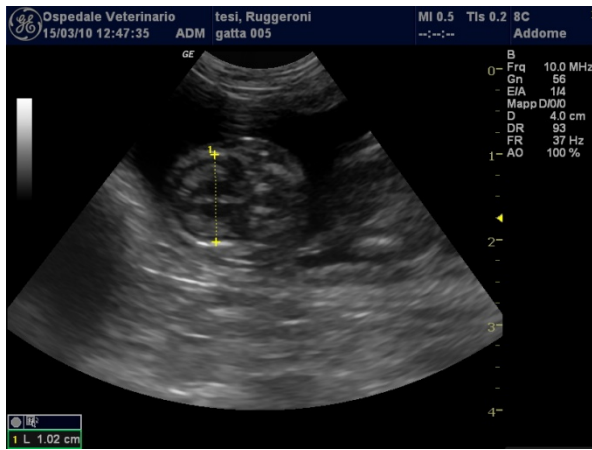
ECC ed ICC a 25 gg.



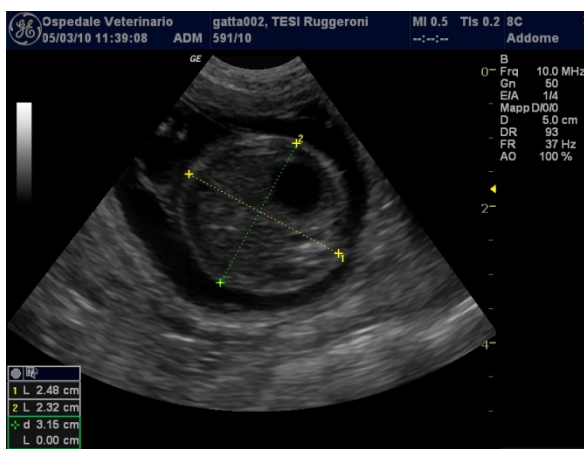
CRL a 25 gg.



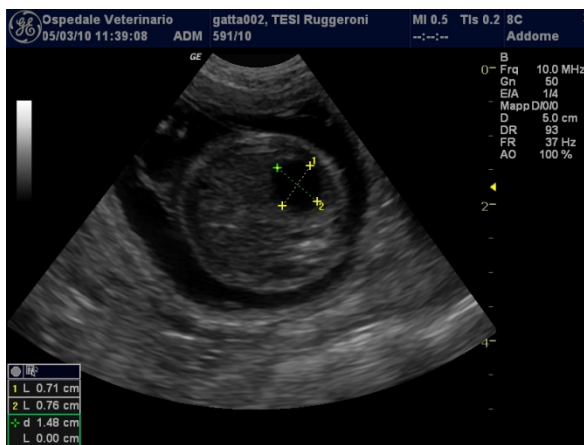
AD e GD a 30 gg.



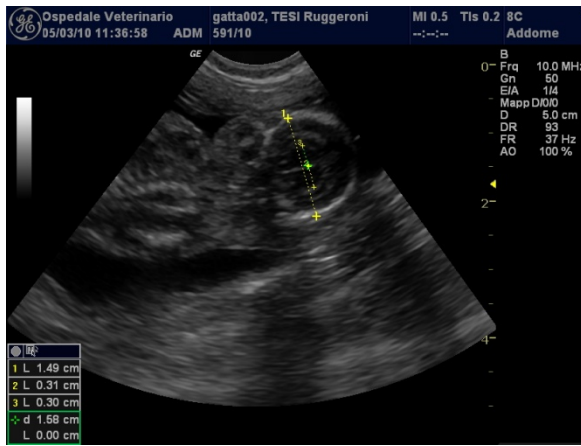
BP a 30 gg.



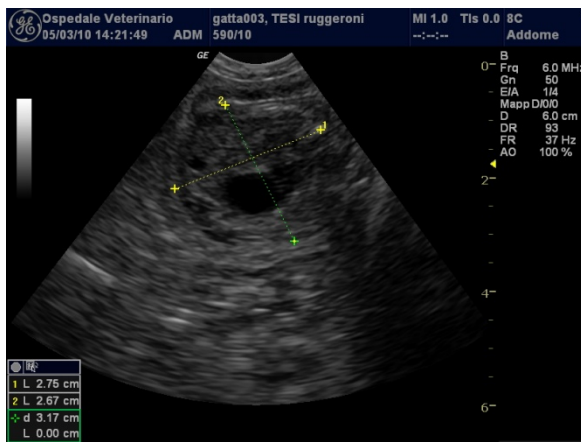
AD a 47 gg.



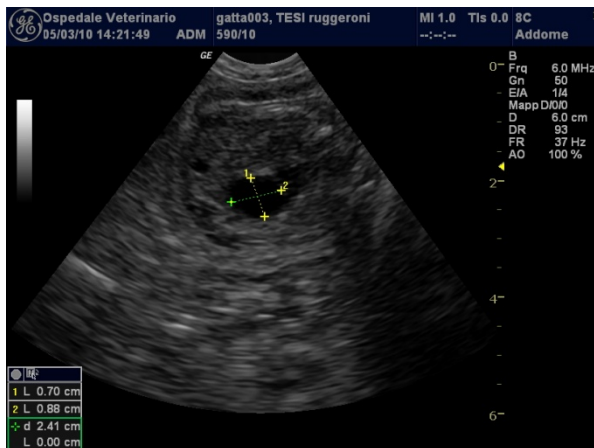
GD a 47 gg.



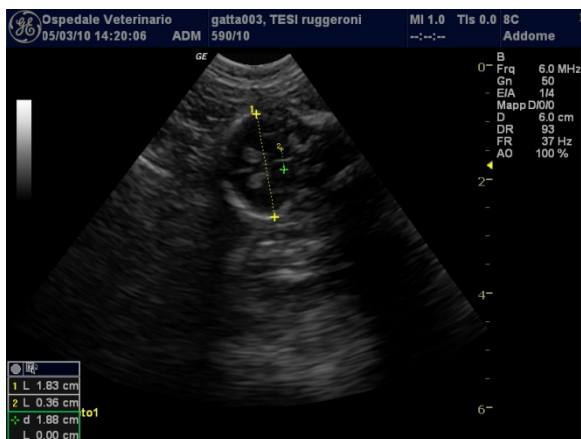
BP e DPTV a 47 gg.



AD a 55 gg.



GD a 55 gg.

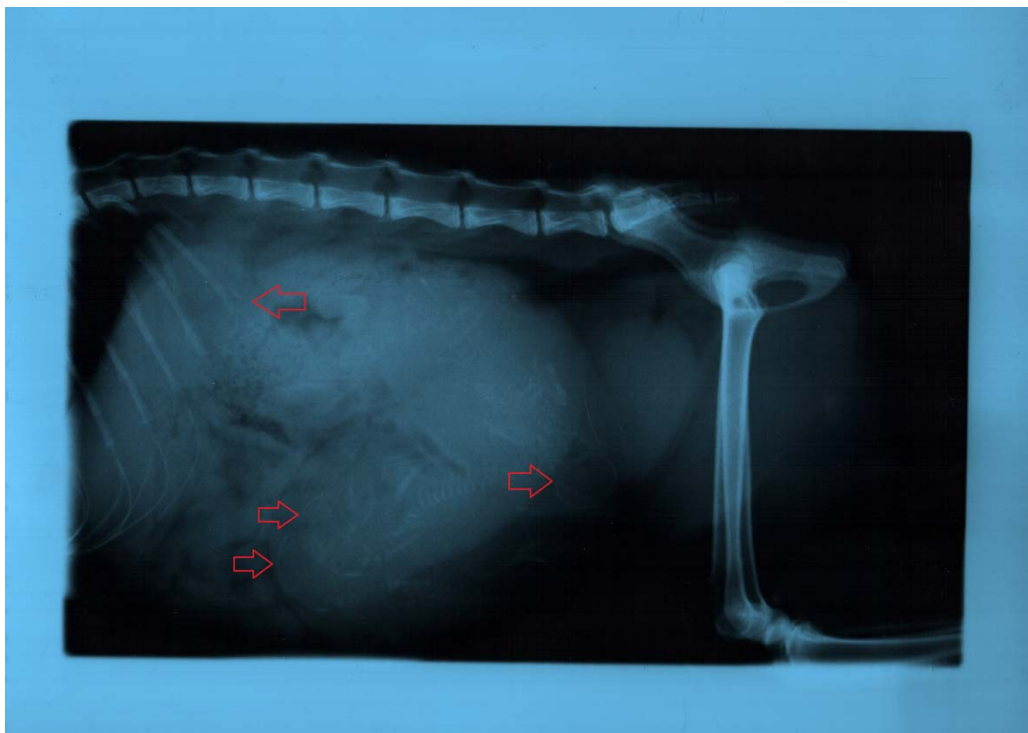


BP e DPTV a 55 gg.

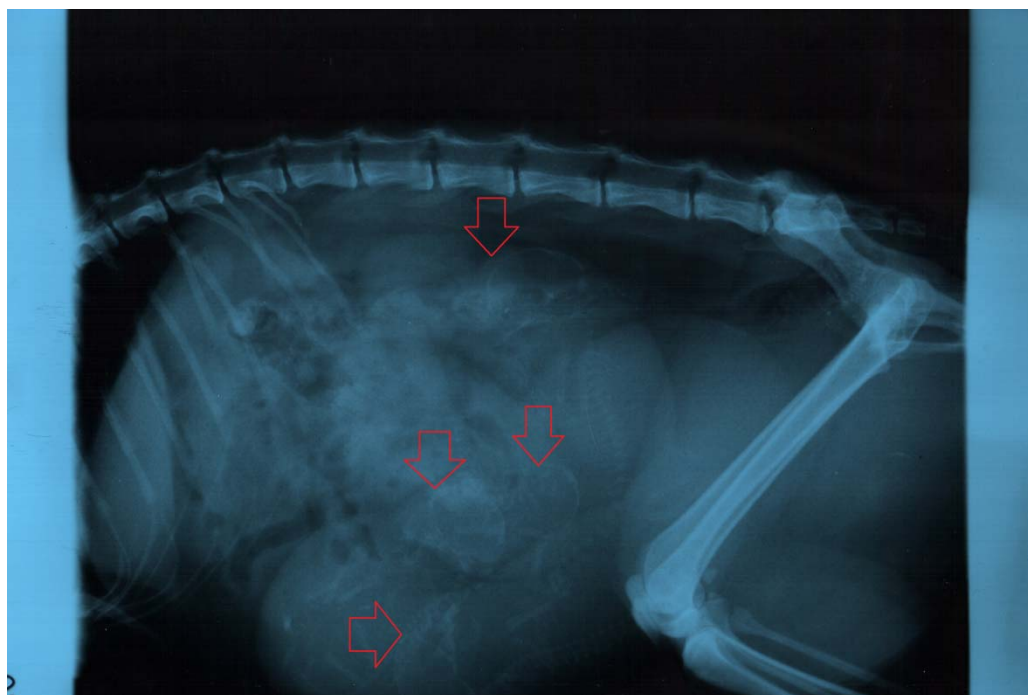




## 10. RADIOGRAFIE



Radiografia in decubito laterale dx di una gatta al 48° giorno di gravidanza.  
Presenti 4 feti (freccie rosse).



Radiografia in decubito laterale dx di una gatta al 55° giorno di gravidanza.  
Presenti 4 feti (freccie rosse).





## **BIBLIOGRAFIA**

- Arthur, Noakes, Pearson, Parkinson, Veterinary reproduction & obstetrics, 7<sup>th</sup> ed., cap. 3, W.B.Saunders Company Ltd, 1996
- Bargellini, Fanfoni, Fonti, Rubini e Zeyen, Testo atlante di ecografia addominale del cane e del gatto, Poletto editore, 2006.
- Beccaglia, Anastasi, Grimaldi, Rota, Faustini, Luvoni, Accuracy of prediction of parturition date through ultrasonographic measurement of fetal parameters in the queen, Vet Res Commun, 32, s99-s101, 2008.
- Beccaglia e Luvoni, The prediction of parturition date in canine pregnancy, Reprod Dom Anim 41, 27-32, 2006.
- Beccaglia, Faustini, Luvoni, Ultrasonographic study of deep portion of Diencephalo-Telencephalic vesicle for the determination of gestational age of the canine foetus, Reprod Dom Anim 43, 367-370, 2008.
- Beck, Baldwi, Bosu, Ultrasound prediction of parturition in queens, Radiology, 31:32-5, 1990.

- Boyd, Radiographic appearance of the centres of ossification of the limb bones in the feline foetus, Br. Vet. J., 124(9): 365-70, 1968.
- Boyd, The radiographic identification of the various stages of pregnancy in the domestic cat. J Small Anim Pract, 12:501-6, 1971.
- Boyd, Studies on the appearance of the centres of ossification of the axial skeleton in the feline foetus, Zentralbl Veterinarmed, 5(3) : 193-205, 1975.
- Burk, Ackerman, Small Animal Radiology and Ultrasonography, 2<sup>nd</sup> ed., cap. 1;3, W.B.Saunders company, USA, 1996.
- Christiansen, La riproduzione nel cane e nel gatto , ed. italiana a cura di F.caioli e G.Bono, cap. 1;11;12;18;19, edi-ermes, Milano, 1987.
- Curran, Ghinter, Ultrasonic fetal gender diagnoses during months 5-11 in mares, Theriogenology, 40:1-12, 1993.
- Davidson, Nyland, Tsutsui, Pregnancy diagnosis with ultrasound in the domestic cat. Vet Radiol, 27:109-14, 1986.

- Davidson, Baker, Reproductive ultrasound of the bitch and queen, Topic in Companion Animal Medicine, vol. 24, num. 2, pag. 55-63, 2009.
- Dellmann, Eurell, Istologia e anatomia microscopica veterinaria, 2<sup>th</sup> ed., ed. italiana a cura di Bortolami e Lucchi, Ambrosiana, 2005.
- De Luliis & Pulerà, The dissection of vertebrates, Elsevier, 2007.
- Dyce, Sack, Wensing, Testo di anatomia veterinaria, 3<sup>rd</sup> ed., ed. italiana a cura di Ceccarella, Germanà, Mascarello, Peirone e Scapolo, cap. 15, Antonio Delfino Editore, Roma, 2006.
- Evans, Sack, Prenatal development of domestic and laboratory mammals : growth curves, external features and selected references. Anat. Histol. Embryol., 2:11-45, 1973.
- Farris, The care and breeding of laboratory animals, New York, 1950.
- Halley, The placodal relations of the neural crest in the domestic cat, J.Anat., 89, 133-152, 1955.

- Hildebrandt, Drews, Kurz, Hermes, Yang e Goritz, Pregnancy monitoring in dogs and cats using 3D and 4D ultrasonography, *Reprod. Dom. Anim.* 44, 125-128, 2009.
- Hodges, Ossification in the foetal pig, *Anat.Rec.* 116, 315-325, 1953.
- Hood, Neil, A modification of alizarin red S technique for demonstrating bone formation, *Stain Tech.*, 23, 209-218, 1948.
- Jayne, Mammalian anatomy, vol.I, J.B. Lippincott, Philadelphia, 1898.
- Kahn, Veterinary reproductive ultrasonography, cap.5, Mosby-Wolfe, 1992.
- Kustritz, Reproductive behaviour of small animals, *Theriogenology* 64, 743-746, 2005.
- Lesbre, F-W, soc. d'agricul., Lyon, seance, 1897.
- Mazzi, Tecniche istologiche ed Istochimiche, Piccin, 1977.
- Merighi, Anatomia applicata e topografia regionale veterinaria, Piccin, 2005.

- McDonald , Veterinary endocrinology and reproduction, 4<sup>th</sup> ed., cap. 9;17;18, Lea & Febiger, Philadelphia, London, 1989.
- Mivart, the cat: An introduction to the study of back-boned animals, especially mammals, Chas. Scribner & Sons, New York, 1881.
- Nautrup & Tobias, An atlas and textbook of diagnostic ultrasonography of the dog and cat, Manson Publishing, 2001.
- Nelson, Cooper, The growing conceptus of the domestic cat. Growth, 39:435-51, 1975.
- Nyland, Mattoon, Pregnancy diagnosis and fetal development; Fetal measurements and estimation of fetal age. In: Veterinary diagnostic ultrasound, p. 146-51, WB Saunders company, USA, 1995.
- Pelagalli, Castaldo, Lucini, Patruno, Scocco, Embriologia Morfogenesi e anomalie dello sviluppo, 3<sup>rd</sup> ed., cap. 11; 12; 22, Idelson-Gnocchi, 2009.
- Schaeffer, Morph. Jahrb.,70, 548, 1932.

- Schoenwolf & Mathews, Atlas of descriptive embryology, 6<sup>th</sup> ed., Pearson Education, Inc., 2006.
- Senger, Pathways to pregnancy and parturition, 2<sup>nd</sup> ed., cap. 2;4;12-15, Cadmus Professional Communications, USA, 2003.
- Smith, Fusion of ossification centres in the cat, J. Small Anim. Pract., vol.10, pp. 523-530, 1969.
- Son, Jeong, Kim, Park, Kim e Lee, Establishment of the prediction table of parturition day with ultrasonography in small pet dogs, J.Vet.Med.Sci.63(7):715-721, 2001.
- Strauss-Durckheim, Anatomie descriptive et comparative du chat, chez l'auteur, 4, Rue Copeau, Paris, 1845.
- Tiedemann, Henschel, Early radiographic diagnosis of pregnancy in the cat. J Small Anim Pract, 14:567-72, 1973.
- Tsutsui, Nakagawa, Hirano, Nagakubo, Shinomiya, Yamamoto e Hori, Breeding season in female cats acclimated under a natural photoperiod and interval until puberty, J. Vet. Med. Sci. 66(9): 1129-1132, 2004.

- Thrall, Textbook of veterinary Diagnostic Radiology, 4<sup>th</sup> ed., cap. 38;39;46, W.B. Saunders Company, USA, 2002.
- Windle & Fish, F.comp.Neurol, 54, 85, 1932.
- Windle & Griffen, F. comp. Neurol., 52, 149, 1931.
- Windle, O'Donnel & Glasshagle, Physiol.Zool.,6,521, 1933.
- Wislocki, On the volume of the fetal fluids in sow and cat, Anat. Record, 63, 183-192, 1935.
- Zambelli, Caneppele, Bassi, Paladini, Ultrasound aspects of fetal and extrafetal structures in pregnant cats, J Fel Med Surg ;4:95-106, 2002.
- Zambelli, Castagnetti, Belluzzi, Bassi , Correlation between the age of the conceptus and various ultrasonographic measurements during the first 30 days of pregnancy in domestic cats (Felis catus). Theriogenology, 57, 1981-1987, 2002.
- Zambelli, Castagnetti, Belluzzi, Paladini, Correlation between fetal age and ultrasonographic measurements during the second half of

pregnancy in domestic cats (*Felis catus*). *Theriogenology*, 62, 1430-1437, 2004.

- Zambelli, Prati, Ultrasonography for pregnancy diagnosis and evaluation in queens, *Theriogenology*, 66, 135-144, 2006.



## **RINGRAZIAMENTI**

Ringrazio tutti quanti hanno contribuito alla realizzazione di questo lavoro, in particolare il dott. Antonio Mollo, il dott. Marco Patruno, la dott.sa Chiara Milani e tutto lo “staff” del Dipartimento di Scienze Sperimentali Veterinarie della Facoltà di Medicina Veterinaria.

Ringrazio tutti gli amici che ho incontrato durante la mia “avventura” universitaria e quelli di sempre, la mia famiglia per l’immancabile sostegno, Michele ed, infine, i miei animali per essersi prestati sempre come “pazienti” modelli di studio.

Silvia