

Impiego clinico di un impianto di deslorelin nel gatto

RIASSUNTO

Introduzione e scopo del lavoro - Negli ultimi anni è stato messo in commercio in Europa un impianto sottocutaneo a rilascio prolungato di deslorelin (Suprelorin® 4,7mg; Virbac), per uso veterinario. Questo lavoro riporta i dati di studi effettuati in gatti adulti maschi e femmine, nei quali tale impianto è stato usato per il controllo temporaneo dell'attività riproduttiva.

Materiali e metodi - Sono stati inclusi 20 gatti e 20 gatte puberi. A tutti i gatti selezionati è stato somministrato un impianto di 4,7 mg di deslorelin (Suprelorin®, Virbac) nel sottocute della regione scapolare. Al momento dell'impianto e ad ogni controllo successivo è stata eseguita una visita clinica completa comprendente valutazione dei genitali esterni, valutazione del peso, ematologia, biochimica e dosaggi ormonali. I soggetti sono stati valutati a 20-30 giorni dall'impianto, quindi a intervalli mensili fino a 6 mesi, e semestrali fino a 36 mesi.

Risultati - Femmine: Tutte le gatte trattate hanno mostrato inizialmente un estro prolungato. Successivamente, 18/20 gatte a 20 giorni dall'impianto e 20/20 gatte a 40 giorni, hanno mostrato livelli sierici ormonali chiaramente indicativi di anestro. Attualmente, solo 7/20 gatte hanno ripreso la regolare attività ciclica 18, 20, 21, 23, 23 24 e 26 mesi dopo il trattamento. La durata media dell'anestro indotto dal deslorelin, in queste 7 gatte, è stata di 22 ± 4 mesi. - **Maschi:** Anche nei maschi, è stato segnalato un temporaneo aumento delle attività sessuali. In 19 gatti la concentrazione di testosterone sierico è calata a livelli basali già al primo controllo effettuato a 20-30 gg post-impianto ed è rimasta tale per 15 ± 3 mesi dopo l'impianto. Tutte le analisi ematobiochimiche effettuate nei soggetti di entrambi i sessi non hanno mostrato alterazioni rispetto ai limiti di norma o rispetto a quanto rilevato prima dell'impianto.

Discussione - Nei gatti l'impianto di deslorelin da 4,7 mg si è dimostrato efficace nel sopprimere, dopo un'iniziale stimolazione, l'attività dell'asse ipotalamo-ipofisi-gonadi in maniera sovrapponibile a quella della sterilizzazione chirurgica. Tale effetto di soppressione è risultato della durata di circa due anni nelle femmine e di circa 15 mesi nei maschi.

INTRODUZIONE

Il Gonadotropin Releasing Hormon (GnRH) è la gonadoliberina fondamentale nel controllo ormonale dell'apparato riproduttivo maschile e femminile, caratterizzata da una funzione (controllo del rilascio delle gonadotropine) estremamente omogenea in tutti i mammiferi¹. L'importanza della sua funzione e la semplicità della sua struttura chimica (10 aminoacidi) hanno favorito lo sviluppo di farmaci a base di molecole a struttura chimica simile e con funzione uguale (stessa affinità recettoriale e stessa risposta cellulare = agonisti) o maggiore (maggiore affinità recettoriale e maggiore risposta cellulare = superagonisti)². La somministrazione continua di agonisti o superagonisti del GnRH porta, dopo un iniziale effetto di stimolazione, ad un blocco, o *down-regulation* dei recettori ipofisari per il GnRH e quindi ad una diminuzione di secrezione degli ormoni luteinizzante (LH) e follicolo-stimolante (FSH) e ad una conseguente soppressione dell'attività delle gonadi^{3,4}. Gli effetti osservati in molte specie animali sono simili a quelli della ste-

Maria Carmela Pisu¹, Stefano Romagnoli²

¹ Libero Professionista, VRC Centro di Referenza Veterinario, corso Francia 19, Torino

² Medicina degli Animali, Produzioni e Salute, Università di Padova, Padova

Studi preliminari presentati al 68° Congresso Nazionale SCIVAC Milano 2011 e a The 14th EVSSAR Congress in Milan, March 2011.

"Articolo ricevuto dal Comitato di Redazione il 29/06/2011 ed accettato per la pubblicazione dopo revisione il 24/01/2012".

rilizzazione ma cessano nel momento in cui viene meno la somministrazione dell'agonista/superagonista del GnRH⁵. Tra gli agonisti di sintesi attualmente disponibili per uso umano o veterinario si annoverano prodotti con formula chimica uguale al GnRH quali la gonadoliberina stessa oppure i suoi analoghi (con formula chimica leggermente diversa) quali ad es. buserelin e lecirelin^{6,7}. Questi composti sono in commercio da circa 30 anni per uso negli animali da reddito e nel cavallo, e vengono impiegati comunemente anche nel cane e nel gatto. Nel corso degli ultimi 15 anni sono stati messi a punto analoghi del GnRH ad azione prolungata (superagonisti) quali goserelin, leuprorelorin, nafarelin, histrelin, triptorelin e deslorelin. Negli ultimi anni è stato messo in commercio in Europa un impianto sottocutaneo a rilascio prolungato di deslorelin (Suprelorin® 4,7 mg; Virbac), per uso veterinario indicato per la soppressione della produzione di testosterone nel cane maschio con conseguente infertilità temporanea^{8,9,10}. A differenza del GnRH endogeno, il deslorelin ha una potenza 7 volte superiore, è più stabile e possiede una maggiore affinità per i recettori cellulari specifici per tale ormone. Grazie ad un'azione di stimolazione ipofisaria continua il deslorelin determina, un'iniziale fase di ipersecrezione di gonadotropine FSH e LH seguito dal blocco della sintesi e/o del rilascio delle stesse, con conseguente soppressione della fertilità dell'animale trattato^{11,12,13}. Nel corso degli ultimi anni l'impiego clinico del deslorelin è stato testato anche per altre indicazioni quali la soppressione temporanea della fertilità nella cagna, l'induzione dell'estro nella cagna^{5,14,15}, il trattamento dell'incontinenza urinaria post ovariectomia nella cagna, la posposizione della pubertà nel cane e nel gatto, la soppressione temporanea della fertilità e il trattamento e la prevenzione della "patologia surrenalica" nel furetto^{16,17,18,19}. L'interesse suscitato dall'efficacia di questo prodotto nel controllo della riproduzione degli animali da compagnia ci ha spinto a verificarne l'applicabilità pratica anche nel gatto²⁰. Questo lavoro riporta i dati di studi effettuati in gatti adulti maschi e femmine, nei quali l'impianto sottocutaneo da 4,7 mg di deslorelin è stato usato per la soppressione temporanea della fertilità e dei comportamenti sessualmente correlati.

MATERIALI E METODI

Sono stati inclusi 20 gatti maschi e 20 gatte femmine puberi. I gatti sono stati inseriti nello studio principalmente in seguito a richiesta da parte dei proprietari di controllo dell'attività riproduttiva che non prevedesse intervento chirurgico. Prima della somministrazione, ciascun proprietario ha firmato un modulo di consenso informato all'impiego del farmaco. La selezione dei pazienti si è

basata sui seguenti requisiti: buone condizioni di salute sulla base della visita clinica e dei risultati dell'esame ematobiochimico. Per nessuno degli animali inclusi nella prova, si è resa necessaria la sedazione per l'inserimento dell'impianto sottocutaneo.

Femmine

Sono state sottoposte a trattamento 20 femmine di età compresa tra 9 e 20 mesi, di razza Norvegese delle Foreste, Maine Coon, Sacro di Birmania, Europea, Siberiana e di peso compreso tra 2,55 kg e 4,60 kg che vivevano sempre in ambiente domestico. 19 delle 20 gatte si trovavano in una fase non estrale, mentre una gatta è stata trattata in calore, dietro richiesta del proprietario al fine di interrompere un estro prolungato.

Sono state escluse gatte in stato di gravidanza o di suo rischio (accoppiamenti recenti), e gatte con anamnesi di patologie del tratto riproduttivo.

In 14/20 gatte l'applicazione di deslorelin è stata eseguita con lo scopo di sopprimere temporaneamente l'attività sessuale, mantenendole intere al fine di poterle utilizzare come riproduttrici in seguito. Quattro gatte sono state trattate poiché la sterilizzazione chirurgica non era proponibile a causa del rischio anestesilogico dovuto a patologie cardiache o renali (destrocardia congenita, cardiomiopatia ipertrofica congenita sintomatica, ipoplasia renale, difetto interventricolare grave). Infine, 2 gatte manifestavano sintomi di calore dopo ovariectomia, (il test di stimolazione con human Chorionic Gonadotropin aveva dato risultato positivo confermando la presenza di un residuo ovarico) e l'opzione chirurgica era stata rifiutata dal proprietario.

Alla visita preliminare tutte le gatte mostravano un buon sviluppo scheletrico, un ottimo stato di nutrizione ed un buono stato di salute complessivo ad eccezione della paziente con ipoplasia renale nella quale si è riscontrata una leggera disidratazione.

Maschi

Sono stati sottoposti a trattamento 20 soggetti maschi di età compresa tra 7 e 36 mesi e di peso corporeo compreso tra 2,4 e 6,75 kg. Quattordici/20 erano gatti comuni Europei che vivevano in casa ma con libertà di accesso all'esterno, mentre gli altri erano: 3 Persiani, 1 Maine Coon, 1 Norvegese e 1 Sacro di Birmania che stavano sempre in ambiente domestico.

Diciotto soggetti erano sia stalloni che per motivi gestionali sono stati sottoposti ad impianto al fine di ottenere un'infertilità temporanea, che comuni gatti d'appartamento per i quali i proprietari rifiutavano la sterilizzazione chirurgica, o accettavano di posporla su richiesta dello sperimentatore. In 2 gatti la sterilizzazione chimica è stata eseguita per evitare la chirurgia a causa del rischio anestesio-

gico; uno di questi due soggetti era affetto da patologia cardiaca, e l'altro da policistosi renale con creatininemia superiore a 7 ng/ml (valori norma <1,5 ng/ml)²¹.

Alla visita preliminare di inclusione tutti gatti mostravano un buono sviluppo scheletrico, un ottimo stato di nutrizione e un buono stato di salute complessivo, presenza di entrambi i testicoli in sede scrotale, loro simmetria e assenza di noduli o alterazioni di elasticità e consistenza, nonché presenza di spicole peniene.

A tutti i gatti selezionati per lo studio è stato quindi somministrato un impianto di 4,7 mg di deslorelin (Suprelorin®, Virbac) nel sottocute della regione scapolare, senza necessità di preventiva tricotomia. Tutti i gatti sono sottoposti ad impianto nel periodo di presentazione alla visita, indipendentemente dalla stagione e dal fotoperiodo.

In occasione del trattamento, e ad ogni controllo successivo è stata eseguita in ciascun gatto una visita clinica completa comprendente valutazione dei genitali esterni (sfoderamento del prepuzio e valutazione delle spicole peniene nei maschi) e striscio vaginale nelle femmine seguita da valutazione del peso e da prelievo di 4,0 ml di sangue dalla vena cefalica o giugulare, in provette vacutainer con e senza anticoagulante (EDTA) per l'ematologia (ADVIA Hematology counter system, Siemens Medical Solutions Diagnostics, s.r.l., Bayer, Germany) e la biochimica (Hitachi 912 Automatic Analyzer Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim, Germany). Per i dosaggi ormonali, i campioni di sangue coagulato, sono stati centrifugati a circa 700 g per 10 minuti, aliquotati in provette Eppendorf da 1,5 ml e conservati a -20 °C. Le analisi sono state effettuate presso il Laboratorio di Chimica Clinica del Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie dell'Università di Padova, presso il laboratorio della Clinica Veterinaria San Marco di Padova ed il Laboratorio Veterinario Torinese; con metodiche di chemiluminescenza (testosterone: DPC e Beckman coulter; estradiolo: Immulite).

I soggetti sono stati valutati a 20-30 giorni dall'impianto, quindi a intervalli mensili fino a 6 mesi, poi a 12, 18, 24 e 36 mesi onde controllare la persistenza dell'effetto farmacologico nonché eventuali alterazioni comportamentali, variazioni di peso e di mantello. Ai proprietari è stata inoltre consegnata una scheda su cui annotare ogni possibile effetto collaterale, alterazione della normale attività del paziente o variazioni del mantello. In 12/20 gatti maschi ad ogni controllo è stato effettuato un test di stimolazione del testosterone, con 50 µg di gonadorelina (Fertargil®, Intervet), (dosaggio prima e 60 min dopo la somministrazione di gonadorelina)²².

Cinque gatti maschi sono stati seguiti per 6 mesi e quindi, in accordo con i proprietari, sottoposti a castrazione²³. I testicoli prelevati, sono stati fissati

e valutati istologicamente per i seguenti parametri: fibrosi interstiziale, numero delle cellule del Leydig, numero dei tubuli seminiferi, diametro tubulare medio e presenza di granuli di glicogeno all'interno delle cellule del Sertoli. Tali parametri sono stati paragonati a quelli di soggetti non trattati e orchiettomizzati alla stessa età e nello stesso periodo dell'anno mediante ANOVA (procedura GLM) e l'indice di correlazione di Pearson²³. Per altri gatti, i cui proprietari hanno preferito prolungare lo studio, si è scelto di attendere il ritorno alla fertilità normale per valutare la durata dell'azione del prodotto in esame. In un gruppo di questi gatti è stato calcolato il volume testicolare mediante ecografia utilizzando la formula $V=4/3\pi abc$ (corrispondente al volume di un ellissoide in cui a = semiasse della larghezza, b = semiasse della lunghezza, c = semiasse dell'altezza).

RISULTATI

Femmine

In 19/20 gatte trattate i proprietari hanno evidenziato a partire da 72-86 ore dopo l'impianto, manifestazioni estrali intense e prolungate (non valutate con dosaggi ormonali) durante le quali, oltre alle vocalizzazioni intense, nei soggetti abitanti in comunità (allevamenti, colonie, famiglie con più gatte) si sono osservati anche sporadici episodi di aggressività e tentativi di sovvertire la gerarchia precedente. Dal termine di questo iniziale periodo (in alcuni casi anche superiore ai 10 giorni), tutte le suddette femmine sono entrate in una fase di riposo sessuale; non è stato possibile dosare la concentrazione plasmatica di progesterone a tutte le femmine per escludere un'ovulazione ma i dosaggi eseguiti alle gatte conviventi hanno indicato, una fase anestrata (< 2,0 ng/ml). Le 2 gatte con sindrome da residuo ovarico si sono comportate come le gatte intere. La gatta in estro prolungato ha avuto ancora 10 giorni di comportamento estrale dopo l'impianto.

Al primo controllo clinico 20 giorni post-trattamento, tutte le gatte sono risultate in buone condizioni di salute, in nessuna è stato rilevato alcun segno di reazione al sito di inoculo, né i proprietari hanno riferito effetti collaterali nei giorni successivi l'impianto. In 18/20 animali i livelli sierici di 17β estradiolo sono risultati inferiori al livello di anestro indicato dal laboratorio utilizzato (15 pg/ml)²¹. Due gatte presentavano valori di 17β estradiolo tipici del picco estrale (rispettivamente 84 e 107 pg/ml)²¹ presumibilmente dovuti ad un estro post-impianto prolungato ed intenso. In tali soggetti al 40° giorno, l'estradiolo era tornato ai livelli dell'anestro (rispettivamente 2,4 e 4,7 pg/ml)²⁴.

Dopo il primo periodo di calore e aggressività, tutte le gatte si sono notevolmente tranquillizzate

dimostrando un rapporto più giocoso con i conspecifici ed un maggior attaccamento ai proprietari, caratterizzato da notevole aumento della ricerca di contatto. Al controllo a 6 mesi dall'impianto nessuna gatta aveva ancora ripreso l'attività ciclica ed i valori di estradiolo restavano molto inferiori ai 15 pg/ml.

Tutte le gatte hanno manifestato un aumento del peso post-trattamento dal 2,5 al 7%. Nel 90% dei soggetti (18/20 gatte) i proprietari hanno segnalato un aumento della assunzione di cibo sia espressa come quantità totale, sia come numero di accessi alle ciotole nelle pazienti non alimentate ad libitum.

I controlli ematobiochimici post-impianto (effettuati solo in 8/20 gatte causa l'indisponibilità dei proprietari) non hanno indicato nessuna variazione rispetto ai valori normali, e nelle 4 pazienti con precedenti patologie non sono state riscontrate variazioni rispetto ai valori rilevati prima del trattamento. In particolare, nella gatta con ipoplasia renale non si sono riscontrati livelli di creatinemia e azotemia più elevati né incrementi delle resistenze arteriolari renali all'esame eco Doppler. I controlli a 12 e 18 mesi non hanno indicato modifiche né sui livelli ormonali, né sul peso rispetto al controllo ai 6 mesi.

Attualmente, solo 7/20 gatte hanno ripreso la regolare attività ciclica rispettivamente: 18, 20, 21, 23, 23, 24 e 26 mesi dopo l'impianto di deslorelin. La durata media dell'anestro indotto dal deslorelin, in queste 7 gatte, è stata di 22 ± 4 mesi. La gatta che ha ripreso l'attività dopo 21 mesi, al secondo estro evidente dalla ripresa della funzione ovarica è stata fatta accoppiare ed ha partorito 3 gattini.

Maschi

Tutti i soggetti sono stati controllati tra 20 e 30 giorni post-impianto e sono stati trovati tutti in buone condizioni di salute. Anche nei maschi, in conseguenza dell'iniziale effetto di stimolazione ipofisaria, nei primi giorni post impianto, è stato segnalato un aumento delle attività sessuali, con aumentate marcature, nervosismo e, nei gatti conviventi, tentativi di monte ripetute e combattimenti tra maschi. Un gatto non è stato più catturabile dopo la seconda visita, ed un gatto Norvegese non è più tornato, per i controlli successivi al primo. Per cui nessun dato clinico è disponibile per questi soggetti dal 2° mese in poi, se non i report dei due proprietari. Due gatti sono deceduti dopo essere stati investiti da un'auto 3 mesi dopo l'impianto.

Non è stato possibile effettuare il test di stimolo con la gonadorelina ad ogni controllo, in tutti i gatti, anche se è sempre stato possibile effettuare almeno un prelievo di sangue per il dosaggio del testosterone basale. Al controllo a 20 giorni 3/15 gatti mostravano un livello di testosterone ematico compreso tra 1,5 e 8,0 ng/ml (valori di norma

nei soggetti sterilizzati: $<0,1$ ng/ml, nei soggetti interi 0,4 -10 ng/ml),²¹ mentre in tutti gli altri il valore era inferiore a 0,1 ng/ml. Alla visita successiva tutti i gatti tranne uno raggiungevano un livello di testosterone inferiore a 0,1 ng/ml. In 9/10 gatti controllati a 30 giorni (nei quali è stato possibile eseguire il test di stimolo con GnRH) entrambi i valori di T pre- e post-stimolazione risultavano $<0,1$ ng/ml.

Una leggera riduzione del volume testicolare è stata rilevata in 18 dei 20 gatti alla prima visita di controllo (20-30 gg post-impianto). Tale riduzione è diventata evidente dal secondo mese post trattamento per arrivare ad una diminuzione di circa il 70% del volume testicolare in tutti i gatti, tranne uno, al controllo a 90 giorni. L'involuzione delle spicole del pene è stata riscontrata in 19/20 gatti a partire dal controllo a 60 giorni. Le spicole non sono risultate più evidenziabili in tutti i gatti tranne uno a partire da 90 giorni post-impianto.

Il 95% dei soggetti ha mostrato a 6 mesi un aumento ponderale tra il 6 ed il 24%. Tale aumento è stato addebitato sia ad un incremento nell'assunzione di cibo (è risultata aumentata sia la dose totale di cibo ingerito nelle 24 ore, sia il numero di accessi alle ciotole) sia alla maggiore tranquillità dei soggetti (cessazione del vagabondaggio, delle lotte tra conspecifici e dei comportamenti sessuali). I valori ematobiochimici sono sempre stati nei limiti normali o invariati rispetto a quanto rilevato prima dell'impianto.

Nei testicoli dei 5 gatti sottoposti a castrazione chirurgica 6 mesi dopo l'impianto è stato osservato un aumento significativo del tessuto intertubulare con conseguente incremento della fibrosi interstiziale. Per quanto riguarda invece il numero delle cellule del Leydig non si sono osservate differenze statisticamente significative, né è risultata inferiore l'altezza dei tubuli seminiferi mentre si è riscontrato un numero maggiore degli stessi. Come atteso, all'interno dei tubuli seminiferi non sono stati osservati spermatozoi²³.

Ad eccezione del gatto che non ha risposto al trattamento, tutti gli altri sono diventati più affettuosi, hanno smesso di marcare il territorio, hanno smesso o marcatamente ridotto vagabondaggio, comportamento riproduttivo ed aggressività nei confronti dei conspecifici. Tale effetto è durato in media per 15 ± 3 mesi dopo l'impianto e la ripresa delle normali attività sessuali (aumento del volume testicolare, roaming, comparsa dell'odore tipico nelle urine, inizio della ricrescita delle spicole) si è verificata in un intervallo compreso tra 12 e 21 mesi dall'impianto. Il trattamento è risultato efficace nel 95% dei gatti maschi, calcolando l'insuccesso su 20 gatti trattati (nei due gatti persi al follow-up l'effetto del farmaco c'era già stato).

Un soggetto non ha mostrato alcun effetto del trattamento con deslorelin, né dal punto di vista comportamentale (è rimasto poco affettuoso con

TABELLA I
Razza, data di inclusione e valori ormonali post-impianto e durata dell'attività dell'impianto dei 20 gatti inclusi nella sperimentazione

Paziente	Razza	Età Ins.	Data inserimento	20 - 30 gg	6 mesi	12 mesi	18 mesi	24 mesi	Ripresa attività
				estrog. pg/ml					
1	maine coon	14 mesi	08-03-08	11,10	0,70	16,00	15,00	17,10	mag-10
2	europea	28 mesi	12-02-08	11,90	3,90	6,00	14,00		feb-10
3	sacro birmania	20 mesi	10-12-08	84,00	12,00	12,00	11,00		ago-10
4	sacro birmania	19 mesi	23-12-08	107,00	0,20	0,80	12,00		ago-10
5	maine coon	15 mesi	21-07-09	6,40	8,20	8,00			feb-11
6	norvegese	11 mesi	03-02-09	9,50	8,40	5,90	4,09		gen-11
7	europea	7 mesi	15-05-09	n.d	10,00	17,00	22,00		mar-11
8	europea	13 mesi	23-07-09	n.d	n.d	15,00			
9	sacro birmania	10 mesi	23-10-09	5,90	6,30	7,01	11,00		
10	europea	16 mesi	24-11-09	3,40	8,00	9,08	10,02		
11	europea	12 mesi	12-12-09	6,00	n.d	4,00	2,30		
12	europea	10 mesi	02-02-10	6,70	n.d	7,07	9,80		
13	maine coon	24 mesi	24-03-10	8,40	9,02	13,00			
14	maine coon	11 mesi	23-04-10	12,00	7,80	7,90			
15	sacro birmania	10 mesi	24-04-10	9,60	n.d	11,50			
16	siberiana	19 mesi	05-03-10	17,00	n.d	6,70			
17	europea	20 mesi	30-05-10	11,04	n.d	3,90			
18	sacro birmania	8 mesi	06-08-10	8,08					
19	maine coon	10 mesi	07-09-10						
20	europea	12 mesi	22-09-10						
Paziente	Razza	Età Ins.	Data inserimento	20 - 30 gg	6 mesi	12 mesi	18 mesi	24 mesi	Durata attività
Maschi				testost. ng/ml					
1	europea	14 mesi	17-03-05	0.1 ng/ml					scappato
2	europea	7 mesi	17-03-05	0.1 ng/ml	0.1 ng/ml				6 mesi
3	europea	18 mesi	16-06-05	0.1 ng/ml	0.1 ng/ml				6 mesi
4	europea	12 mesi	17-03-05	0.1 ng/ml	0.1 ng/ml				6 mesi
5	europea	7 mesi	24-04-05	0.1 ng/ml					deceduto
6	europea	36 mesi	05-05-08	5.3 ng/ml	7.7 mg/ml	3.1 ng/ml			nessun effetto
7	europea	18 mesi	05-05-08	0.1 ng/ml	0.1 ng/ml	0.1 ng/ml	0.1 ng/ml		19 mesi
8	europea	18 mesi	03-10-08	0.1 ng/ml	0.1 ng/ml				14 mesi
9	europea	18 mesi	03-10-08	0.1 ng/ml	0.1 ng/ml				14 mesi
10	europea	7 mesi	24-10-08	0.1 ng/ml					deceduto
11	europea	7 mesi	28-11-08	0.1 ng/ml	0.1 ng/ml				15 mesi
12	europea	7 mesi	24-10-08	0.1 ng/ml	0.1 ng/ml				16 mesi
13	sacro birmania	25 mesi	14-02-09	8,00	0,05	0,09			20 mesi
14	persiano	10 mesi	14-03-09	1,80	0,03	0,09			21 mesi
15	europea	9 mesi	05-11-09	0,09	0,02	<1			13 mesi
16	europea	19 mesi	30-06-09	n.d	0,07	<0.3			14 mesi
17	persiano	11 mesi	26-09-09	n.d	<1	<1	0,02		16 mesi
18	persiano	10 mesi	11-12-09	12,00	0,06	0,04	0,09		No follow up
19	norvegese	12 mesi	22-01-10	n.d	0,09	0,01			12 mesi
20	maine coon	9 mesi	24-03-10	0,84	0,02	0,08			12 mesi

i familiari e aggressivo con gli altri gatti, ha continuato a vagabondare e a marcare il territorio) né da quello endocrino, con valori di testosterone post-stimolazione assolutamente normali.

DISCUSSIONE

Il rilascio continuo di deslorelin provoca inizialmente uno stimolo dei recettori ipofisari del GnRH, cui fa seguito un blocco della loro funzione o *downregulation* con conseguente progressivo arresto del rilascio di FSH e LH. Come nel cane e nella cagna^{8,15}, anche nel gatto maschio e femmina l'impianto di deslorelin da 4,7 mg si è dimostrato efficace nel sopprimere l'attività riproduttiva. L'impianto infatti, determina un iniziale estro della durata di 1-10 giorni seguito dalla scomparsa dei calori in tutte le femmine a partire dalla terza-quarta settimana post-trattamento, per un periodo di tempo variabile (22 ± 4 mesi). Nel presente studio non sono state eseguite indagini specifiche per valutare la possibile azione del GnRH agonista sull'induzione dell'ovulazione nelle gatte, né è stato eseguito per tutte le pazienti il dosaggio del progesterone per escludere la possibilità di ovulazione naturalmente indotta o spontanea. Ulteriori studi sarebbero necessari per valutare più approfonditamente questo aspetto. Nei gatti maschi, la riduzione dei livelli di testosterone e la mancata risposta alla stimolazione con gonadoliberina già nel corso del primo mese post-impianto sta ad indicare una completa soppressione della funzionalità ipofisaria con conseguente mancato rilascio di LH. Nel maschio, la completa soppressione dell'asse ipotalamo-ipofisi-gonadi si è ottenuta nel 95% dei soggetti.

Un soggetto maschio non ha mostrato alcun effetto del trattamento con deslorelin. È difficile ipotizzare una causa plausibile di tale insuccesso, considerando anche che il lotto degli impianti di deslorelin di questo animale era il medesimo di altri 12 dei 20 gatti, e che tutti gli impianti (oltre ad essere applicati nello stesso modo a tutti gli animali) sono stati tutti conservati secondo le indicazioni fornite dalla ditta produttrice. Le uniche differenze rilevabili sono legate al fatto che all'inizio della prova il gatto in questione risultava avere una concentrazione di testosterone superiore a quella degli altri gatti (valori post stimolazione compresi tra 7,0 e 16,1 ng/ml, contro un range degli altri soggetti di 0,8-3,2 ng/ml) ed una lunghezza e larghezza dei testicoli superiori a quelle degli altri gatti ($1,8 \times 1,1$ cm contro un range degli altri soggetti di $1,0-1,4 \times 0,4-0,9$ cm). Anche la concentrazione di testosterone basale risultava maggiore all'inizio della prova rispetto a quella degli altri gatti (valori compresi tra 7,0 e 16,1 ng/ml, contro valori compresi tra 0,2 e 3,0 ng/ml per gli altri gatti).

L'impianto a base di deslorelin ha mostrato nei

gatti di entrambi i sessi, effetti totalmente corrispondenti a quelli della sterilizzazione chirurgica, con livelli ematici di ormoni sessuali paragonabili ai livelli riscontrati negli animali castrati chirurgicamente. Le spicole peniene, essendo strettamente legate alla testosteronemia, sono scomparse in tutti i soggetti maschi (tranne uno) sottoposti ad impianto, con il risultato che in tali soggetti la mucosa del pene è risultata liscia per tutta la durata dell'effetto.

Si è osservata una discreta variabilità nella durata dell'effetto sia nei soggetti maschi che nelle femmine (maschi 15 ± 3 mesi, femmine 22 ± 4 mesi); tale variabilità potrebbe essere imputata alle caratteristiche di razza, alla stagione e al fotoperiodo. Tale aspetto potrebbe risultare di particolare importanza negli animali adibiti alla riproduzione. Va comunque tenuto presente che l'impianto è facilmente rimovibile.

In nessun soggetto si sono osservati effetti collaterali né interazioni con le terapie già in atto.

Nei soggetti con insufficienza renale non si sono riscontrati segni di peggioramento clinico, né ematologico.

Pur non potendo imputare l'aumento del peso al trattamento a causa della mancanza del gruppo di controllo, è comunque opportuno consigliare ai proprietari un'attenzione particolare nell'alimentazione e nella quantità di cibo somministrato ai gatti trattati con deslorelin, considerando che le variazioni di peso evidenziate sono comparabili a quelle riscontrabili dopo orchietomia o ovariectomia.

Le variazioni di comportamento segnalate dai proprietari indicano una riduzione dell'aggressività ed una maggior sedentarietà ed affettuosità paragonabili a quelle che si ottengono con la sterilizzazione chirurgica, in grado quindi di limitare le lotte tra soggetti dello stesso sesso e rafforzando in modo pacifico le gerarchie. Un aspetto importante nei gatti di razza che partecipano a mostre è la totale mancanza di effetti sul mantello che non ha mostrato alterazioni né come colore, né come robustezza o morbidezza.

Per tali motivi la somministrazione dell'impianto di deslorelin per via sottocutanea può essere considerata un buon sistema per mettere a riposo sessuale temporaneo soggetti che si vogliono comunque mantenere interi per successivi accoppiamenti, come pure una valida alternativa alla sterilizzazione chirurgica in tutti quei pazienti che, per alto rischio anestesilogico, non possano affrontare la chirurgia.

Il deslorelin non è comunque ancora registrato per l'uso nel gatto, per cui è necessario informare in modo completo i proprietari che si sta adottando un uso off label del farmaco.

Parole chiave

Gatti, GnRH, fertilità, deslorelin, sterilizzazione.

I **Application of a single deslorelin implant in cats**

Summary

Introduction - A long acting subcutaneous implant of deslorelin (4,7 mg Suprelorin®, Virbac) has recently been marketed in Europe for veterinary use. This paper reports data from studies conducted in adult tomcats and queens, in which the implant has been used for a temporary control of reproductive activity.

Materials and methods - 20 queen and 20 tomcats were included. All the cats received an implant of 4,7 mg of deslorelin (Suprelorin®, Virbac) into the sub cutis of the scapular region. At each control time a complete physical examination was performed with assessment of the external genitalia, assessment of body weight, hematology, biochemistry and hormonal assays. All cats were evaluated 20-30 days after implantation, and then at monthly intervals up to 6 months, and every six months up to 36 months.

Results - **Female:** All queens showed signs of estrus for a few days following treatment. Subse-

quently, 18/20 queens at 20 days after implantation and 20/20 queens at 40 days showed hormonal and clinical features clearly indicative of anoestrus. Currently, only 7/20 cats have recovered their regular cyclic activity: 18, 20, 21, 23, 23 24 and 26 months after implantation of Deslorelin. The average duration of deslorelin induced hormonal suppression in these seven queens was of 22 ± 4 months. - **Males:** Also tomcats showed a temporary increase in sexual activity. In 19/20 tomcats testosterone concentration decreased to basal levels at the first visit at 20-30 days post-treatment and remained so for 15 ± 3 months after implantation. Hematological and biochemical parameters were within normal limits for both sexes.

Discussion - A 4.7 mg deslorelin implant was able, after an initial stimulation, to suppress the hypothalamic-pituitary-gonadal axis of male and female cats. This suppressive effect lasted about two years in queens and about 15 months in tomcats.

Key words

Cats, GnRH, fertility, deslorelin, castration (sterilization).

BIBLIOGRAFIA

- Parker KL and Schimmer BP: Pituitary hormones and their hypothalamic releasing factors In: Goodman and Gilman's The pharmacological basis of therapeutics. 10th Edition, Ed Hardman JG, Limbird LE and Gilman AG 2001; 56, pp 1541-1562.
- Padula AM; GnRH analogues - agonists and antagonists. Anim Reprod Sci, 88 (1-2):115-126, 2005.
- Tsutsumi M, Laws SC, Rodic V, Sealton SC: Translational regulation of the gonadotropin-releasing hormone receptor in alpha T3-1 cells. Endocrinology 136 (3):1128-1136, 1995.
- Rispoli, LA and Nett TM: Pituitary gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) receptor. Structure, distribution and regulation of expression. Anim Reprod Sci 88:57-74, 2005.
- Trigg TE, Wright PJ, Armour AF et al: Use of a GnRH analogue implant to produce reversible long-term suppression of reproductive function in male and female domestic dogs. J Repro Fert Suppl 57, 255-261, 2001.
- Brogden RN, Buckley MM, Ward A: Buserelin. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and clinical profile. Drugs 39 (3):399-437, 1990.
- Rizzo A, Cosola C, Mutinati M, Spedicato M, et al: Bovine ovarian follicular cysts: in vitro effects of lircirelin, a GnRH analogue. Theriogenology 74 (9):1559-1569, 2010.
- Junaidi A, Williamson PE, Cummins JM, Martin GB, et al: Use of a new drug delivery formulation of the gonadotrophin-releasing hormone analogue Deslorelin for reversible long-term contraception in male dogs. Reprod Fert Dev 15:317-322, 2003.
- Trigg TE, Doyle AG, Walsh JD, Swangchan-uthai T, et al: A review of advances in the use of the GnRH agonist deslorelin in control of reproduction. Theriogenology 66:1507-1512, 2006.
- Romagnoli S, Nassuato C, Stelletta C, et al: Serum testosterone concentrations and scrotal diameter in male dogs treated with deslorelin implants. Proceedings Congress European Veterinary Society for Small Animal Reproduction, Amsterdam, The Netherlands, 2005, pp 27-28.
- Bertschinger HJ, Asa CS, Calle PP, et al: Control of reproduction and sex related behaviour in exotic wild carnivores with the GnRH analogue deslorelin: preliminary observations. J Repro Fert Suppl 57:275-283, 2001.
- Bertschinger HJ, Trigg TE, Jöchle W, Human A: A Induction of contraception in some African wild carnivores by downregulation of LH & FSH secretion using the GnRH analogue deslorelin. Reproduction, Suppl. 60: 41-52, 2002.
- Trigg TE, Doyle AG, Walsh J, et al: Advances in the use of the GnRH agonist deslorelin in control of reproduction. 5th International Symposium on Canine and Feline reproduction. S. Paolo, Brazil pp 49-51, 2004.
- Concannon PW: Induction of fertile estrus in anoestrus dogs by continuous infusion of GnRH agonist. J Reprod Fert, Suppl 39:149-160, 1989.
- Romagnoli S, Stelletta C, Milani C, Gelli D, et al.: Clinical use of deslorelin for the control of reproduction in the bitch. Reprod Domest Anim, 44 Suppl 2:329-333, 2009.
- Romagnoli S, Salata P, Stelletta C et al.: Postponement of puberty in male and female prepuberal cats with deslorelin: a preliminary study Proceedings EVSSAR Congress Louvaine La Neuve, 2010b, p 145.
- Schoemaker Nj, van Deijk R, Muijlaert B, Kik MJ, et al: Use of a gonadotropin releasing hormone agonist implant as an alternative for surgical castration in male ferret (Mustela putorius furo). Theriogenology 70 (2): 161-7, 2008.
- Vagner RA, Piche CA, Joche W, Oliver JW: Clinical and endocrine responses to treatment with deslorelin acetate implant in ferrets with adrenocortical disease. AJVR 66 (5): 910-914, 2005.
- Richler M, Hubler M, Jöchle W, Trigg TE: The effect of GnRH analogs on urinary incontinence after ablation of the ovaries in dogs. Theriogenology 60: 1207-1216, 2003.
- Goericke-Pesch S, Georgiev P, Antonov A, Albouy M et al: Clinical efficacy of a GnRH-agonist implant containing 4.7 mg. deslorelin, Suprelorin®, regarding suppression of reproductive function in tomcats. Theriogenology.75(5):803-810, 2010.
- England G, Harvey M: Manual of small animal reproduction and neonatology, Ed. BVSAVA 1998, pag 82.
- Shille VM, Olson PN: Dynamic testing in reproductive endocrinology. In: Current Veterinary Therapy X. RW Kirk Editor, WB Saunders Company, pagg 1282-1288, 1989.
- Zoppi D: Variazioni della concentrazione sierica del testosterone in seguito alla somministrazione di un agonista del GnRH (Deslorelin) nel gatto maschio. Tesi di Laurea, Università degli Studi di Padova, Relatore Prof. Stefano Romagnoli, 2006.
- England G, Harvey M: Manual of small animal reproduction and neonatology, Ed. BVSAVA, 1998, pag 13.