
TEZA DE DOCTORAT

Interrelația dintre Hormonul anti-Müllerian și patologia ovariană la specia canină

REZUMAT AL TEZEI DE DOCTORAT

Doctorand: **Zoltán-Miklós Gál**

Conducător de doctorat:

Prof. univ. Dr. DHC Ioan Ștefan Groza



INTRODUCERE

La animalele domestice, chiștii ovarieni au o prevalență ridicată, fiind responsabili de apariția hiperestrogenismului. Chiștii ovarieni pot avea originea la nivelul diferitelor structuri ovariene, iar dezvoltarea, frecvența și mărimea acestora diferă în funcție de specie. Clasificarea acestor formațiuni se face din punct de vedere histologic, cel mai frecvent tip de chist ovarian întâlnit fiind chistul folicular (Knauf și colab., 2014).

La specia canină, chiștii ovarieni au o importanță deosebită din punct de vedere clinic, fiind o sursă marcantă de hiperestrogenism la cățele, situație care poate duce la apariția unui estru prelungit, călduri anovulatorii, interestrul scurtat, hiperplazie endometrială chistică, piometru, tumori mamare și tumori vaginale, iar în forme cronice până la apariția patologiilor cutanate, și a supresiei medulare hematogene (Johnston și colab., 2001) (Arlt și colab., 2011). Chisturile foliculare sunt active din punct de vedere endocrinologic, secretând estradiol și progesteron, ceea ce duce la cercetări privind profilul hormonal la cățelele cu chisturi ovariene (Chuffa și colab., 2016). Aceste condiții au un impact semnificativ asupra sănătății generale și a funcției de reproducere a câinilor afectați, în special a celor din programele de reproducere, evidențiind relevanța acestui subiect. Impactul hipotiroidismului asupra reproducerii este semnificativ clinic, în special la câinii de rasă pură, unde scopul este de a îmbunătăți sănătatea și trăsăturile fenotipice. La cățele, există cunoștințe limitate despre efectele deficienței de hormoni tiroidieni asupra performanței reproductive (Pancieră, D.L., 2012).

Un marker important folosit în medicina umană în cazul infertilității, este hormonul anti-Mullerian. Produs de către celulele granuloase ale ovarului, acest hormon este inițial implicat în dezvoltarea foliculilor ovarieni (Broekmans, 2008). Nivelurile serice ale AMH-ului se corelează strâns cu numărul foliculilor antrali, acestea reflectând mărimea rezervei de foliculi primordiali. Evaluarea rezervei ovariene prezintă importanță în cazul fertilizărilor in vitro, hormonul anti-Mullerian fiind folosit și în evaluarea potențialului de fertilitate. Dozarea acestui hormon ajută la diagnosticarea și monitorizarea cazurilor de tumori ale granuloasei ovariene și, mai nou, în evaluarea sindromului ovarelor polichistice, nivelurile serice de AMH fiind crescute în sindromul polichistic ovarian, și pot constitui un marker util pentru evaluarea gradului de extindere a acestei afecțiuni (Broekmans, 2008, Jenny Visser et al, 2006, Fleming, 2005).

În medicina veterinară, implicațiile hormonului anti-Mullerian au fost studiate în număr restrâns la specia canină, cercetările respective încercând să contureze valorile AMH-ului din diferite patologii ovariene, folosind kit-uri de testare de uz uman sau menite animalelor de laborator. Deoarece kit-urile de testare pentru specia canină sunt nou apărute pe piață, între studiile efectuate există mari diferențe, ceea ce explică necesitatea clarificării problemelor și fidelizării lor cu patologiele ovariene la specia canină și amplexarea pe care au luat-o studiile din domeniul endocrinologiei canine.

STRUCTURA TEZEI

Teza de doctorat, intitulată „Interrelația dintre Hormonul Anti-Mullerian și patologia ovariană la femelele din specia canină”, conține 97 pagini, 20 figuri și 19 de tabele. Doctorandul a respectat metodologia de redactare a tezelor de doctorat. Teza este împărțită în două părți, după cum urmează:

Prima parte a tezei cuprinde 27 de pagini și este structurată pe trei subcapitole.

Partea a doua cuprinde 70 pagini și este structurată pe 3 capitole în care sunt prezentate scopul, obiectivele, materialele și metodele, rezultatele cercetărilor privind AMH-ul, hipotiroidismul, profilul hormonal la femelele din specia canină diagnosticate cu chiști ovarieni, discuții generale, concluziile generale și în final aspectele de originalitate și contribuții inovative ale cercetărilor.

SCOPUL ȘI OBIECTIVELE LUCRĂRII

Prin această lucrare științifică autorul și-a propus să ofere o perspectivă complexă asupra patologiei chistice ovariene la câini, în contextul etiologiei și a mecanismelor etiopatologice incomplet elucidate, prin utilizarea hormonului anti-Müllerian (AMH), un marker folosit în medicina umană care a câștigat importanță și în medicina veterinară în ultimii ani, la femelele din specia canină diagnosticate cu formațiuni chistice ovariene, subliniind potențialul său în acest domeniu. În plus, s-a avut în vedere investigarea hipotiroidismului ca factor etiologic posibil al acestei afecțiuni și s-a analizat profilul hormonal al femelelor canine pentru a clarifica raportul dintre estrogen, progesteron și testosteron în cazul patologiei chistice ovariene, corelând toate aceste aspecte cu valorile AMH-ului.

Cercetarea s-a realizat ținând cont de următoarele obiective:

1. Dozarea serică a hormonului anti-Müllerian la cățele prin metoda ELISA dublu sandwich pentru a evidențierea diferențelor în cazul patologiei chistice ovariene.
2. Efectuarea dozărilor serice ale hormonilor tiroidieni T4 și fT4 prin metoda ELFA pentru stabilirea prevalenței hipotiroidismului în cazul patologiei chistice ovariene la femelele din specia canină și corelarea acestora cu valorile serice de AMH.
3. Testarea serică a hormonilor steroidieni sexuali Testosteron II, Progesteron și Estradiol II prin metoda ELFA pentru realizarea profilului hormonal, determinarea dinamicii acestora și definirea relației dintre hormonii sexuali și AMH la femelele din specia canină cu patologie chistică ovariană.

MATERIALE ȘI METODE

Cercetarea realizată în capitolul 2 s-a bazat pe un număr de cazuri de 131 de femele, împărțit într-un lot control și un lot cu femele diagnosticate cu chiști ovarieni, în capitolul 3 un număr de 48 de femele diagnosticate cu chiști împărțite în lot cu valori normale ale hormonilor tiroidieni (indivizi cu eutiroidism) și lot cu hipotiroidism, iar în capitolul 4 un număr de 96 de femele împărțite în lot control și lot cu femele diagnosticate cu chiști ovarieni.

Pentru diagnosticarea femelelor din specia canină cu patologie chistică ovariană, s-a folosit ecograful Esaote My Lab X5 cu sondă microconvexă de 5-10 MHz din cadrul clinicii de reproducție animale de companie din cadrul Facultății de Medicină Veterinară a USAMV Cluj-Napoca și a clinicii private de referință în reproducție pentru animalele de companie Quantas Repro Vet SRL din Cluj-Napoca.

Dozarea AMH-ului s-a realizat prin metoda ELISA, cu ajutorul kit-ului ELISA Canine Anti-Müllerian Hormone (AMH) (Shanghai Coon Koon Biotech Co., Ltd, Shanghai, China), în cadrul Institutului Științelor Vieții USAMV Cluj-Napoca, laboratorul din Disciplina de Microbiologie, conform instrucțiunilor producătorului. Pentru determinările hormonale cantitative ale AMH-lui s-a folosit ser sangvin.

Dozarea hormonală s-a realizat cu ajutorul analizorului de hormoni Biomerieux MiniVidas. Acesta este un analizor automat care folosește tehnici de imunodectie. Acest test imunoenzimatic cantitativ automat pentru determinarea nivelurilor de tiroxină liberă (fT4), tiroxină legată de proteine (T4), estradiol II, progesteron, respectiv testosteron, din ser, folosește ca principiu tehnica de detecție ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

Analiza statistică a fost efectuată utilizând două programe: IBM® SPSS Statistics versiunea 29.0 (Armonk, NY, SUA) și MedCalc® Statistical Software versiunea 22.032 (MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgia).

REZULTATELE ȘI CONCLUZIILE CERCETĂRII

Capitolul 5, intitulat “Valorile serice ale hormonului anti-Mullerian la cățelele diagnosticate cu chiști ovarieni” are ca scop evaluarea și compararea nivelurilor serice ale hormonului anti-Müllerian (AMH) între cățelele sănătoase și cele diagnosticate cu patologie chistică ovariană.

Rezultatele pentru analiza statistică a nivelelor de AMH ale grupului de control (femele fără chiști ovarieni) au indicat o medie aritmetică de 10,0842 ng/ml (95% IC pentru medie: 9,7953-10,3731, DS: 1,0686). Pentru grupul de studiu, rezultatele AMH au indicat o medie aritmetică de 10,6266 ng/ml (95% IC pentru medie: 10,3704-10,8828, DS: 1,1212). Pe baza aplicării testului t pentru eșantioane independente, s-a observat că a existat o diferență semnificativă din punct de vedere statistic ($p = 0,006$) între nivelurile de AMH din grupul de control și nivelurile de AMH din grupul de studiu. Astfel media concentrațiilor de hormon anti-Müllerian a fost mai crescută la lotul luat în

studiu, constituit din cățele diagnosticate cu patologie ovariană polichistică comparativ cu lotul martor, alcătuit doar din femele clinic sănătoase, fără patologie chistică ovariană.

Rezultatele unei alte analize statistice au indicat faptul că nu există o corelație semnificativă între vârstă și nivelurile de AMH nici în grupul de control, nici în grupul experimental. Un alt aspect demn de menționat este faptul că nu există diferențe semnificative din punct de vedere statistic între categoriile de rase care fac parte din grupul de studiu.

Pentru a contura mai bine valorile între grupurile lotului de cățele cu patologie chistică ovariană, s-a calculat intervalul de referință pentru 95% din valorile de AMH, eliminându-se valorile extreme inferioare și superioare. Astfel pentru categoria gigant intervalul de încredere pentru limita inferioară 90% a fost de 6.05 – 8.32 ng/ml, limita superioară 90% de 11.96 -14.23 ng/ml. Pentru talia mare (IC 90% inferioară de 8.07 - 9.42 ng/ml), limita superioară 90% fiind (12.26 – 13.35 ng/ml), respectiv (IC: 8.08 – 9.30 ng/ml) limita inferioară 90% (12.13 – 13.35 ng/ml) limita superioară 90% pentru talia medie. La categoria mică, în funcție de talie acest interval de 90% a fost de (IC: 8.42 – 9.63 ng/ml).

Media precum și deviația standard cele mai crescute în cadrul lotului martor în funcție de categoriile de talie s-au înregistrat la talia medie 10.43 ng/ml DS. 1.07 ng/ml (IR: 8.33–12.54 ng/ml), urmată de talia mare cu o medie de 10.03 ng/ml DS. 1.47 (IR: 7.15–12.92 ng/ml), iar pe locul trei s-au situat cățelele de talie gigant cu o medie de 9.99 ng/ml DS. 0.91 ng/ml (IR: 8.20–11.79 ng/ml). Pe ultimul loc a fost talia mică, cu o valoare medie a AMH-lui de 9.78 ng/ml, DS. 0.72 ng/ml (IR: 8.36–11.20 ng/ml).

Intervalul de referință 95% referitor la lotul martor a fost de limita inferioară 90% IC: 7.55–8.84 ng/ml și limita superioară 90% IC: 11.14–12.43 ng/ml la talia gigant; la talia mare, limita inferioară 90% IC: 5.90–8.40 ng/ml și limita superioară 90% IC: 11.67 – 14.16 ng/ml; la talia medie, limita inferioară 90% IC: 7.52–9.14 ng/ml și limita superioară 90% IC: 11.73–13.35 ng/ml, iar în ultimul rând la talia mică limita inferioară 90% IC: 7.72–9.00 ng/ml și limita superioară 90% IC: 10.56–11.85 ng/ml.

Pentru a studia dacă există diferențe semnificative din punct de vedere statistic între cele patru categorii de rase, a fost utilizată analiza de varianță unidirecțională (ANOVA). Rezultatele au indicat că $F_{stat}=1,29$ și $p = 0,29$ ($>0,05$), prin urmare nu există diferențe semnificative din punct de vedere statistic între categoriile de rase care fac parte din grupul de studiu.

Folosind coeficientul Spearman's rank în cazul lotului martor nu s-a observat o diferență semnificativă între concentrațiile serice ale estrogenilor (mediana: 10.70 ng/ml, IC pentru mediană 9.86–12.30) comparativ cu cele ale AMH-lui (mediana: 10.17 ng/ml, IC pentru mediană 9.56–10.63) ($p = 0.1947$) cu o corelație ($\rho = -0.190$). În cazul lotului luat în studiu, ca și în cazul lotului martor, diferențele dintre cei doi hormoni AMH (mediana: 10.81 ng/ml, IC pentru mediană 10.16–11.18 ng/ml) și estrogeni (mediana: 21.83 ng/ml, IC pentru mediană 14.65–25.37 ng/ml) nu au fost semnificative din punct de vedere statistic ($p = 0.8368$), $\rho = 0.0305$.

Compararea coeficienților de corelare între cele două loturi (cățele sănătoase și cățele cu formațiuni chistice) folosind Fisher z-testul, nu a arătat nici-o corelare semnificativă ($p = 0.2905$).

În urma cercetărilor efectuate se susțin următoarele concluzii: valori ale AMH-ului seric au fost mai crescute la femelele cu chiști ovarieni, față de femelele sănătoase, pe baza analizei de regresie liniară, vârsta și a valorile AMH-ului nu prezintă corelații semnificative, în ceea ce privește cățelele sănătoase din diferite categorii de rase și rezultatele dozării AMH-ului acestora, s-a observat o corelație pozitivă exclusiv în grupul de rase gigant și în grupul de rase mari; valorile relative ale hormonului anti-Müllerian (AMH) pot varia semnificativ în funcție de metoda și kitul ELISA folosit, fie că este un kit destinat uzului uman, murin sau specific canin; datorită diferențelor mici ale valorilor serice ale hormonului anti-Mullerian dintre cele două loturi, deși din punct de vedere statistic sunt relevante, acestea nu pot fi utilizate în scop de diagnostic.

Capitolul 6, intitulat "Prevalența hipotiroidismului canin la femelele cu chiști ovarieni și influența acestuia asupra valorilor AMH-ului" are ca scop este de a stabili gradul de implicare al hipotiroidismului în dezvoltarea și progresia patologiei polichistice ovariene la specia canină. Cercetarea își propune să determine dacă există o corelație semnificativă între hipotiroidism și prevalența și evoluția chisturilor ovariene la câini.

Prevalența hipotiroidismului în rândul femelelor din specia canină diagnosticate cu chisturi ovariene și la care s-a realizat dozarea hormonilor tiroidieni ($n=48$) a fost de 12% ($n=6$), în cazul a 15% ($n=7$) dintre indivizi, nivelurile hormonilor tiroidieni au fost la limita inferioară cu valori ale T4/fT4 de: 1.37 $\mu\text{g/dl}$ / 0.86 ng/ml, 1.31 $\mu\text{g/dl}$ / 0.91 ng/ml, 1.26 $\mu\text{g/dl}$ / 1.10 ng/ml, 1.23 $\mu\text{g/dl}$ / 1.02 ng/ml, 1.48 $\mu\text{g/dl}$ / 0.87 ng/ml, 1.31 $\mu\text{g/dl}$ / 0.87 ng/ml, și 1.18 $\mu\text{g/dl}$ / 0.91 ng/ml. Un procent de 73% ($n= 35$) dintre cazuri au fost diagnosticate cu eutiroidism. Având în vedere faptul că valorile markerilor tiroidieni trebuie interpretate în context clinic, am încadrat cazurile cu valori minimale drept hipotiroidism. Prin urmare, 27% ($n = 13$) dintre cazuri au fost diagnosticate cu hipotiroidism și un procent de 73% ($n = 35$) din cazuri au fost diagnosticate cu eutiroidism.

Valorile T4 pentru femelele din specia canină diagnosticate cu chisturi ovariene au fost comparate între grupurile de pacienți eutirotici ($n = 35$) și hipotiroici ($n = 13$). În grupul femelelor eutirotice, valorile T4 au variat de la 1,12 la 4,46 $\mu\text{g/dl}$ (media aritmetică: 2,4154 $\mu\text{g/dl}$, DS: 0,7459). În grupul hipotirotic, valorile T4 au variat de la 0,57 la 1,55 $\mu\text{g/dl}$ (media aritmetică: 1,1613 $\mu\text{g/dl}$, DS: 0,2952 $\mu\text{g/dl}$). Deoarece normalitatea valorilor T4 a ambelor grupuri a fost acceptată, a fost aplicat testul t pentru eșantioane independente. Rezultatele au indicat o diferență semnificativă din punct de vedere statistic ($p = 0,001$) ale valorilor T4 între grupul eutirotic și grupul hipotirotic.

Pe baza aplicării testului t pentru eșantioane independente, nu s-a observat o diferență semnificativă din punct de vedere statistic ($p=0.531$) între concentrațiile de AMH din grupul de femele cu eutiroidism și grupul de femele diagnosticate cu hipotiroidism.

În urma datelor obținute se pot formula următoarele concluzii:

Având în vedere efectele reproductive mai puțin studiate ale hipotiroidismului la speciile canine, trebuie să acordăm o atenție sporită acestei tulburări în evaluarea patologică a infertilității la femelele acestei specii; o treime dintre femelele speciei canine cu chiști ovarieni din grupul de cercetare au fost diagnosticate și cu hipotiroidism, indicând o corelație semnificativă între cele două afecțiuni, evidențiind o prevalență notabilă a hipotiroidismului; altă constatare demnă de remarcat în această cercetare este faptul că rasele de talie mijlocie și gigant sunt mai predispuse la hipotiroidism; prin urmare, există o mare probabilitate ca hipotiroidismul să fie o cauză importantă a infertilității la aceste rase; cazurile care prezintă semne clinice precum infertilitate, leziuni cutanate, tendință la obezitate etc. împreună cu valori minimale ale indicatorilor T4 și fT4, ar trebui considerate cazuri de hipotiroidism.

Capitolul 7, intitulat "Realizarea profilului hormonilor sexuali la cățelele cu patologie chistică ovariană și stabilirea relației acestora cu valorile AMH-ului." are ca scop realizarea profilului hormonal al pacienților diagnosticați cu ovare polichistice la specia canină pentru a stabili un profil hormonal detaliat al acestor pacienți. Astfel se urmărește o mai bună înțelegere a patologiei polichistice ovariene, îmbunătățind astfel managementul clinic al acestei afecțiuni.

Ca incidență, pe primul loc se situează tumorile mamare și piometrul cu o incidență de 19% (n=16), urmat de hiperplazie endometrială chistică 10% (n=8), mortalitate și resorbție embrionară într-o proporție de 9% (n=7). O incidență mai scăzută a fost la cazurile cu avort (4%), vaginită și obezitate (2%). Pe ultimul loc ca prevalență cu 1% au fost comorbidați ca: chiști seroși uterini, leucoree vaginală, respectiv un caz de diabet.

Semnele clinice cele mai frecvent întâlnite la cățelele cu patologie chistică ovariană a fost infertilitatea 18%, căldurile prelungite, într-o proporție de 9%, interestrul scurt (3%).

În urma realizării dozărilor cantitative de Testosteron II la femelele diagnosticate cu formațiuni chistice ovariene nivelele de testosteron au fost scăzute, sub valoarea de 0.05 ng/ml, excepând un singur caz, o femelă în vârstă de 9 ani din rasa Ciobănesc german cu degenerescență polichistică ovariană, unde s-a înregistrat o valoare de 0.09 ng/ml a testosteronului seric. Datorită valorilor scăzute nivelurile de testosteron nu au fost incluse în statistică.

Pe baza concentrațiilor de progesteron seric, inițial, femelele luate în studiu s-au putut clasifica în funcție de stadiul ciclului sexual, respectiv diestru și proestru. În ceea ce privește lotul martor, în cazul a 22 de cățele s-a înregistrat o valoare mai mică de 3 ng/ml, care corespunde perioadei de anestrul și, în cazul a 26 de femele, progesteronul seric s-a situat între 4.07 ng/ml și 80 ng/ml, dintr-un total de 48 de femele.

Probele folosite în cazul cățelelor diagnosticate cu patologie chistică ovariană au fost recoltate strict în perioada de diestru și anestrul, astfel diferențele majore ale valorilor progesteronului pot fi puse pe seama perioadei diferite a ciclului sexual. Astfel la 26 cazuri s-a înregistrat o valoare mai mică de 3 ng/ml, fiind specific perioadei de

anestru, în schimb în cazul a 22 de femele progesteronul seric a fost între 7.30 ng/ml și 80 ng/ml, fiind specific perioadei de diestru.

Pentru comparația valorilor progesteronului între grupul de control (mediana: 7 ng/ml) și grupul experimental (mediana: 2,96 ng/ml), nu a existat o diferență semnificativă din punct de vedere statistic ($p = 0,6735$). În ceea ce privește vârsta și talia raselor de câini, nu au fost diferențe semnificative din punct de vedere statistic al concentrațiilor.

Folosind coeficientul Spearman's rank în cazul lotului martor nu s-a observat o diferență semnificativă între concentrațiile serice ale progesteronului (media: 20,91 ng/ml, DS. 23,30 ng/ml) comparativ cu cele ale AMH-lui (media: 10,11 ng/ml, DS. 1.13 ng/ml) ($P=0.0607$) cu o corelație ($\rho = 0.273$). În cazul lotului cu patologie chistică ovariană, la fel ca și în cazul lotului martor diferențele dintre cei doi hormoni, AMH (media: 10,61 ng/ml, DS. 1.21 ng/ml) și progesteron (media: 18,33 ng/ml, DS. 24,12 ng/ml) nu a fost semnificativ din punct de vedere statistic ($P=0.9933$), $\rho=0.00125$.

Femelele din grupul de studiu au avut valori semnificativ mai mari ale estradiolului ($p < 0,0001$), cu o medie aritmetică de 21,83 pg/ml (95% IC: 14,65-25,37), comparativ cu grupul de control, care a avut o medie de 10,70 pg/ml (95% IC: 9,86-12,30).

Pentru compararea valorilor estradiolului în faza de anestru între grupul de control și grupul de studiu, s-a observat că a existat o diferență semnificativă din punct de vedere statistic. Femelele din grupul de studiu au avut o valoare semnificativ mai mare ($p = 0,0105$) a estradiolului în faza de anestru, cu o mediană de 21,19 pg/ml (95% IC: 13,44-26,09), comparativ cu grupul de control care a avut o valoare mediană de 12,95 pg/ml (95% IC: 10,46-15,72).

Rezultatele comparației valorilor estradiolului din faza de diestru între grupul de control și grupul de studiu au observat că există o diferență semnificativă statistic. Femelele din grupul de studiu au avut o valoare semnificativ mai mare ($p = 0,0105$) a estradiolului în faza de diestru, cu o mediană de 23,17 pg/ml (95% IC: 11,75-28,77), comparativ cu grupul de control, care a avut un nivel median de 9,63 pg/ml (95% IC: 9,02-10,92).

Analiza comparativă a valorilor estradiolului între femelele din grupul de control aflate în diestru și în anestru, a relevat faptul că există o diferență semnificativă din punct de vedere statistic. Femelele aflate în faza de anestru au avut o valoare a estradiolului semnificativ mai mare ($p = 0,0105$), cu o mediană de 12,95 pg/ml (95% IC: 10,46-15,72), comparativ cu femelele aflate în faza de diestru, care au avut un nivel median de 9,63 pg/ml (95% IC: 9,02-10,92).

Rezultatele analizei comparative ale valorilor estradiolului între femelele din grupul de studiu aflate în diestru și anestru au reflectat că nu a existat o diferență semnificativă din punct de vedere statistic ($p = 0,8607$). Femelele aflate în faza de anestru au avut o valoare mediană a estradiolului de 21,19 pg/ml (95% IC: 13,44-26,09), comparativ cu femelele aflate în faza de diestru care au avut un nivel median de 23,17 pg/ml (95% IC: 11,74-28,77).

În urma analizării datelor obținute se pot trasa următoarele concluzii: incidența chiștilor ovarieni la cățea crește odată cu înaintarea în vârstă și trecerea căței prin mai multe cicluri de călduri; femelele diagnosticate cu chisturi ovariene au prezentat niveluri semnificativ crescute de estrogen, atât în faza de diestru cât și în faza de anestru; prevalența afecțiunilor concurente cele mai frecvente cu patologia ovariană chistică au fost tumorile mamare și piometru cu o incidență de 19%, iar infertilitatea observându-se în 18% din cazurile luate în studiu; prezența chiștilor ovarieni nu modifică semnificativ nivelurile serice de progesteron nici în faza de diestru, nici în cea de anestru; în cazul femelelor cu chiști ovarieni, valorile AMH-ului seric rămân crescute atât în faza de diestru, cât și în cea de anestru, comparativ cu femelele sănătoase la care valorile AMH-ului scad direct proporțional cu progesteronul, de la faza de diestru la cea de anestru; progesteronul domină ciclul estral la această specie și este un marker fiabil pentru identificarea perioadei estrale la femelele din specia canină, chiar și atunci când sunt prezente formațiuni chistice; deși se observă o creștere a nivelelor serice atât a AMH cât și a estrogenilor la cățelele cu chiști ovarieni, nu s-a descris nicio relație între nivelele serice ale acestora.

BIBLIOGRAFIE SELECTATĂ

1. Arlt, Sp, S. Spankowsky, and W. Heuwieser. 2011. "Follicular Cysts and Prolonged Oestrus in a Female Dog after Administration of a Deslorelin Implant." *New Zealand Veterinary Journal* 59(2):87-91. doi: 10.1080/00480169.2011.552858.
2. Chuffa, Luiz Gustavo De Almeida, Luiz Antonio Lupi Júnior, and Alfredo Feio Da Maia Lima. 2016. "Sex Steroid Receptors and Apoptosis-Related Proteins Are Differentially Expressed in Polycystic Ovaries of Adult Dogs." *Tissue and Cell* 48(1):10-17. doi: 10.1016/j.tice.2015.12.003.
3. England, Gary C. W., Angelika von Heimendahl, and British Small Animal Veterinary Association, eds. 2010. *BSAVA Manual of Canine and Feline Reproduction and Neonatology*. 2nd ed. Quedgeley, Gloucester [England]: British Small Animal Veterinary Association.
4. Fleming, R., N. Deshpande, I. Traynor, and R. W. S. Yates. 2006. "Dynamics of FSH-Induced Follicular Growth in Subfertile Women: Relationship with Age, Insulin Resistance, Oocyte Yield and Anti-Mullerian Hormone." *Human Reproduction* 21(6):1436-41. doi: 10.1093/humrep/dei499.
5. Groza, Ioan Ștefan, Liviu Marian Bogdan, and Raul Cătană. 2006. *Ginecologie, andrologie și obstetrică veterinară: compendiu*. București: Editura Academiei Române.
6. Johnston, Shirley D., Margaret V. Root Kustritz, and Patricia N. S. Olson. 2001. *Canine and Feline Theriogenology*. Philadelphia London New York: W.B. Saunders.
7. Knauf, Y., H. Bostedt, K. Failing, S. Knauf, and A. Wehrend. 2014. "Gross Pathology and Endocrinology of Ovarian Cysts in Bitches." *Reproduction in Domestic Animals* 49(3):463-68. doi: 10.1111/rda.12311.
8. Panciera, D. L., B. J. Purswell, and K. A. Kolster. 2007. "Effect of Short-Term Hypothyroidism on Reproduction in the Bitch." *Theriogenology* 68(3):316-21. doi: 10.1016/j.theriogenology.2007.04.026.
9. Tata, Brooke, Nour El Houda Mimouni, Anne-Laure Barbotin, Samuel A. Malone, Anne Loyens, Pascal Pigny, Didier Dewailly, Sophie Catteau-Jonard, Inger Sundström-Poromaa, Terhi T. Piltonen, Federica Dal Bello, Claudio Medana, Vincent Prevot, Jerome Clasadonte, and Paolo Giacobini. 2018. "Elevated Prenatal Anti-Müllerian Hormone Reprograms the Fetus and Induces Polycystic Ovary Syndrome in Adulthood." *Nature Medicine* 24(6):834-46. doi: 10.1038/s41591-018-0035-5.
10. Tonutti, Elio, Danila Bassetti, Anna Piazza, Daniela Visentini, Monica Poletto, Franca Bassetto, Patrizio Caciagli, Danilo Villalta, Renato Tozzoli, and Nicola Bizzaro. 2004. "Diagnostic Accuracy of Elisa Methods as an Alternative Screening Test to Indirect Immunofluorescence for the Detection of Antinuclear Antibodies. Evaluation of Five Commercial Kits." *Autoimmunity* 37(2):171-76. doi: 10.1080/08916930310001657010.
11. Visser, Jenny A., Frank H. De Jong, Joop S. E. Laven, and Axel P. N. Themmen. 2006. "Anti-Müllerian Hormone: A New Marker for Ovarian Function." *Reproduction* 131(1):1-9. doi: 10.1530/rep.1.00529.