



# Fattori non infettivi che condizionano la sopravvivenza dell'embrione

La fertilità della vacca da latte è al centro dell'attenzione degli allevatori in quanto ha un impatto diretto sulla redditività. Essa può condizionare direttamente il pieno espletamento del potenziale genetico per la produzione di latte, essendo il primo fattore condizionante i giorni medi di lattazione. Inoltre, rappresenta probabilmente anche in Italia il primo fattore che determina il tasso di rimonta. Recentemente, nel descrivere la "sindrome della bassa produzione del latte di autunno" (SBPLA) abbiamo osservato che tra i suoi numerosi fattori eziologici c'è l'infertilità estiva, che causa una concentrazione di parti in autunno e quindi di asciutta in piena estate. In un corretto, quanto indispensabile, approccio olistico alla sub-fertilità della vacca da latte si è accertato che la morte embrionale rappresenta sicuramente un'area d'intervento decisiva.



La bassa fertilità è tra le cause di riforma più importanti. La morte embrionale è sicuramente uno degli aspetti più importante tra quelli coinvolti.

Non trascurabile, ma non oggetto di questo articolo, sono le **degenerazioni cistiche del follicolo dominante**, che intervengono in ben il 10-15% delle bovine. Dalle molte ricerche effettuate si è visto che nelle bovine inseminate correttamente, ossia con seme fertile e al giusto momento, il tasso di concepimento può essere del 90-95%, considerando che almeno il 5% degli gravidanze si perde per anomalie cromosomiche. Quasi l'80-90% degli embrioni viene perso nella fase di pre-impianto. Dopo la terza settimana di gravidanza il 50% delle vacche ritorna in calore, con una perdita quindi del 35% degli embrioni. La perdita degli embrioni dopo l'impianto in utero in genere non supera il 10-15%.

Per meglio descrivere il problema proponiamo alcune definizioni. La **morte embrionale** si defini-

sce **molto precoce** quando avviene entro il 7° giorno dal concepimento, **precoce** tra l'8° e il 24° giorno e **tardiva** tra il 25° e il 45° giorno. Successivamente, ossia nel periodo fetale, si parla di **aborto**.

Le morti embrionali molto precoci e precoci sono spesso la causa principale della "repeat breeder", ossia di quella bovina che su pur fecondata ritorna in calore regolarmente tra i 18 e 24 giorni e che ha un'incidenza del 10-25%.

Sempre per semplificare la descrizione si definisce **zigote** la fase successiva alla fecondazione ossia di unione dell'ovocellula con lo spermatozoo. Immediatamente inizia la suddivisione cellulare e dal successivo stadio di **morula** si passa a quello di **blastocisti**. Questa fase, che dura cinque giorni, solitamente avviene nell'ovidutto. Lo sviluppo successivo dalla morula alla bla-

stocisti avviene nell'utero. Dal 7° giorno di vita si parla di una blastocisti che subirà importanti modifiche, come il suo allungamento a causa della comparsa del trofoblasto. La blastocisti continuerà a differenziarsi nell'utero per poi impiantarsi inizialmente il 35° giorno e definitivamente il 60°, quando è si già entrati nella fase fetale.

Abbiamo più volte detto che la bovina prende la "decisione di riprodursi" solo dopo un'attenta ricognizione del metabolismo, per constatare se a breve, medio e lungo periodo ci sono le condizioni ambientali idonee per far crescere dapprima un embrione, poi un feto e infine un vitello. Questa "ricognizione" parte già dalla fase di follicolo primordiale, durante la quale numerosi fattori di crescita e le gonadotropine ipofisarie accompagnano o meno uno dei follicoli (domi-

nante) fino all'ovulazione. Oltre a ciò i follicoli possiedono recettori per il idrossibutirrato (BHBA), gli acidi grassi non esterificati (NEFA), il glucosio e l'azoto ureico. Sono cioè in grado di acquisire autonomamente **informazioni sul bilancio energetico**. A completamento di questo network ci sono le informazioni derivanti dall'IGF-1, dall'insulina e dalla leptina, e dagli ormoni steroidei. Tutti questi fattori contribuiscono a far acquisire all'ovocita e all'embrione, che da esso si svilupperà, la "**competenza**" ossia la capacità di sopravvivere e crescere fino al termine della fase fetale. È stato osservato da numerosi autori che la taglia del follicolo e la taglia dell'ovocita influenzano la crescita dell'embrione e la sua vitalità.

In termini biochimici la "competenza" si traduce nell'abilità di rilasciare calcio ionizzato, che è



il segnale intracellulare di fusione dell'ovocita con lo spermatozoo che avvia l'embriogenesi. Inoltre, per competenza s'intende l'accumulo di mRNA e proteine necessarie allo sviluppo dell'embrione dopo la fecondazione.

Un terzo aspetto che condiziona la "competenza" è l'accumulo nell'ovocita di trigliceridi, ossia la riserva energetica, e di fosfolipidi, componente essenziale per le membrane cellulari. Questi fosfolipidi sono il fattore più importante per il rilascio del calcio ionizzato dalle riserve intracellulari. La competenza degli ovociti non invece è influenzata dal livello di ammoniaca circolante.

Il bilancio energetico e l'ingestione nelle quattro settimane dopo il parto condizionano il **tasso di concepimento** dopo la fine del periodo volontario d'attesa. È noto che maggiore è in numero di cicli estrali che precedono l'inseminazione, maggiore sarà il tasso di concepimento. Esiste una correlazione tra la concentrazione di progesterone durante il ciclo immediatamente prima dell'inseminazione e il tasso di fecondazione e la sopravvivenza dell'embrione. Una maggiore concentrazione di progesterone nel ciclo estrale precedente l'ovulazione determina oltre a una maggiore taglia del follicolo dominante, una maggiore attività pulsatile dell'LH e quindi più estradiolo per una maggiore morfologia dell'endometrio. Un follicolo esposto a un bilancio energetico negativo durante la fase iniziale di crescita produce ovociti di qualità inferiore e un corpo luteo poco funzionante. Dopo la fecondazione lo zigote vive una fase di pre-impianto dapprima nell'ovidutto materno e poi nell'utero. Attraverso una serie di cicli cellulari mitotici passa allo stadio di morula al 6°-7° giorno e successivamente di blastociste arrivando nell'utero. A livello metabolico, nella fase di morula la cellula fecondata passa dall'RNA trascritto nella fase materna a quello trascritto dal "nuovo DNA".

Nel **periodo post-ovulatorio**, ossia nella fase di passaggio dalla

fase zigote a quella di morula, un appropriato ambiente dell'ovidotto e le sue secrezioni sono importanti per la sopravvivenza dell'embrione. Le secrezioni dell'ovidotto e dell'utero sono ricche di ioni, aminoacidi e glucosio. Troviamo inoltre ormoni dell'IGF-s (fattori di crescita insulinica-simili) come l'IGF-1 e 2, che agiscono direttamente sullo sviluppo embrionale e indirettamente sulle cellule ghiandolari dell'epitelio uterino. Nelle bovine in bilancio energetico negativo c'è un'alterata espressione delle proteine che trasportano l'IGF (IGFBP-1 e 2). Durante questa fase ha un impatto molto negativo l'innalzamento della temperatura corporea della madre, come avviene in caso di stress da caldo, in quanto l'embrione non produce una proteina (HSP o *proteina da shock termico*) che gli conferisce una resistenza a questa evenienza. L'estradiolo prodotto dal follicolo ovarico sovra-regola l'espressione dell'mRNA nell'ovidotto per creare un ambiente "ricco" di IGF-1. Di converso la concentrazione periferica del progesterone aumenta dal 4° giorno.

Dal 5° al 12° giorno l'embrione è già nell'utero, dove raggiunge lo **stadio di blastociste (7°-8° giorno)**. A questo punto il ruolo del progesterone prodotto dal corpo luteo diventa fondamentale. Gli estrogeni avevano stimolato l'accrescimento e la ramificazione dell'epitelio ghiandolare che aderisce al miometrio, mentre il progesterone ne stimola la ramificazione e la secrezione di una matrice composta di aminoacidi, glucosio, proteine di trasporto e fattori di crescita (istiotrofo), che sono essenziali per lo sviluppo della blastociste. Una parte considerevole di embrioni vengono persi tra l'8° e il 15° giorno a causa di un'insufficiente produzione di progesterone dal 6° e il 15° giorno.

**Tra il 12° e il 20° giorno** la blastociste cambia forma allungandosi rapidamente da meno di un centimetro del 12° giorno a oltre i 10 centimetri del 16°, per la rapida crescita del trofoblasto.

Dall'inizio di questa fase inizia la produzione embrionale dell'INF-, che raggiunge la massima secrezione tra il 14° e il 18° giorno. Questa molecola "informa" la madre della presenza di una gravidanza attraverso la stimolazione di una grande quantità di geni endometriali. Il tutto si traduce in un blocco dei recettori uterini dell'ossitocina e nell'inibizione della produzione di prostaglandine (PGF<sub>2</sub>). Pertanto da un'azione combinata di progesterone e INF- vengono bloccati i meccanismi biochimici che impedirebbero il proseguire della nuova gravidanza.

Esistono pertanto molte **cause di morte embrionale** molto precoce (0-7 giorni), precoce (8-24 giorni) e tardiva (25-45 giorni). Una importante è legata alle dimensioni del follicolo pre-ovulatorio. Vacche con un follicolo dominante più grande avranno un corpo luteo capace di produrre più progesterone. Inoltre, la qualità del follicolo dipende dalla sua vascolarizzazione, in quanto ciò condiziona la capacità di uptake delle gonadotropine ipofisarie (FSH e LH). Un follicolo di cattiva qualità potrà non arrivare all'ovulazione, ma degenerare in ciste, e ciò succede nel 10-15% dei casi. Un corpo luteo in grado di produrre un'adeguata quantità di progesterone garantirà la necessaria stimolazione della produzione uterina di nutrimento per l'embrione.

Il **corpo luteo** cresce di peso dai 0,5 g del dopo ovulazione agli oltre 5 g del 10° giorno. Il principale fattore che inizialmente condiziona la crescita del corpo luteo è l'LH ipofisaria o meglio la sua attività secretiva pulsatile, l'ampiezza delle pulsazioni e la secrezione basale. Le vacche di elevato potenziale genetico (HMG), a causa del loro elevato livello d'ingestione, hanno un maggiore flusso di sangue al fegato che intensifica l'azione di rimozione (clearance) da parte di questo organo degli estrogeni e del progesterone circolanti. La ridotta concentrazione ematica di progesterone già da sola spiega almeno il 20% delle perdite em-

brionali. Nelle bovine HMG è più elevata l'incidenza della doppia ovulazione e quindi la frequenza della gemellarità. Figlie di tori nati dopo il 1990 rispetto a quelle nate da tori presenti prima del 1980 hanno una maggiore probabilità di avere una doppia ovulazione. Nelle bovine HMG l'incidenza della doppia ovulazione può superare il 25% e causare una gemellarità che negli ultimi anni è al di sopra del 9%. L'incidenza di un embrione morto al momento della diagnosi di gravidanza è del 20%. La **gemellarità** è oggi considerata il primo fattore di morte fetale precoce nella vacca da latte.

Inoltre, come fattore eziologico di morte embrionale ci può essere un **difetto nella sintesi degli ormoni steroidei** e in particolare del progesterone. Il progesterone viene sintetizzato nelle cellule luteiniche a partire dal colesterolo sintetizzato nelle cellule epatiche e lì trasportato dalle lipoproteine (LDL e HDL). Difetti anche genetici nella "cascata" dei passaggi biochimici della sintesi del colesterolo, difetti epatici, anche dovuti alla lipidosi epatica, nella sintesi delle lipoproteine e l'azione dell'LH e delle prostaglandine possono alterare la sintesi luteinica di progesterone.

L'ultima causa di morte embrionale molto precoce è lo **stress da caldo** delle bovine.

**Conclusioni.** Per affrontare con successo la sub-fertilità della vacca da latte, che provoca danni diretti come principale causa di ridotta longevità produttiva e indiretti come maggiore fattore di rischio della "sindrome da bassa produzione di latte in autunno", è necessario un approfondimento della fisio-patologia dell'attività riproduttiva. Questo passaggio propedeutico può fornire al professionista le corrette informazioni necessarie a prendere tutti quei provvedimenti pratici in allevamento che scaturiscono non già dalla sola applicazione rigida di protocolli, ma dal percorso virtuoso anamnesi-diagnosi-terapia-prognosi, che rappresenta il "DNA" di tutte le scienze mediche. •