

**ALIMENTAZIONE E RIPRODUZIONE**

# Fattori nutrizionali e metabolici coinvolti nella morte embrionale

Alessandro Fantini

*Fantini Professional Advice (FPA srl), Anguillara S. (Roma)*

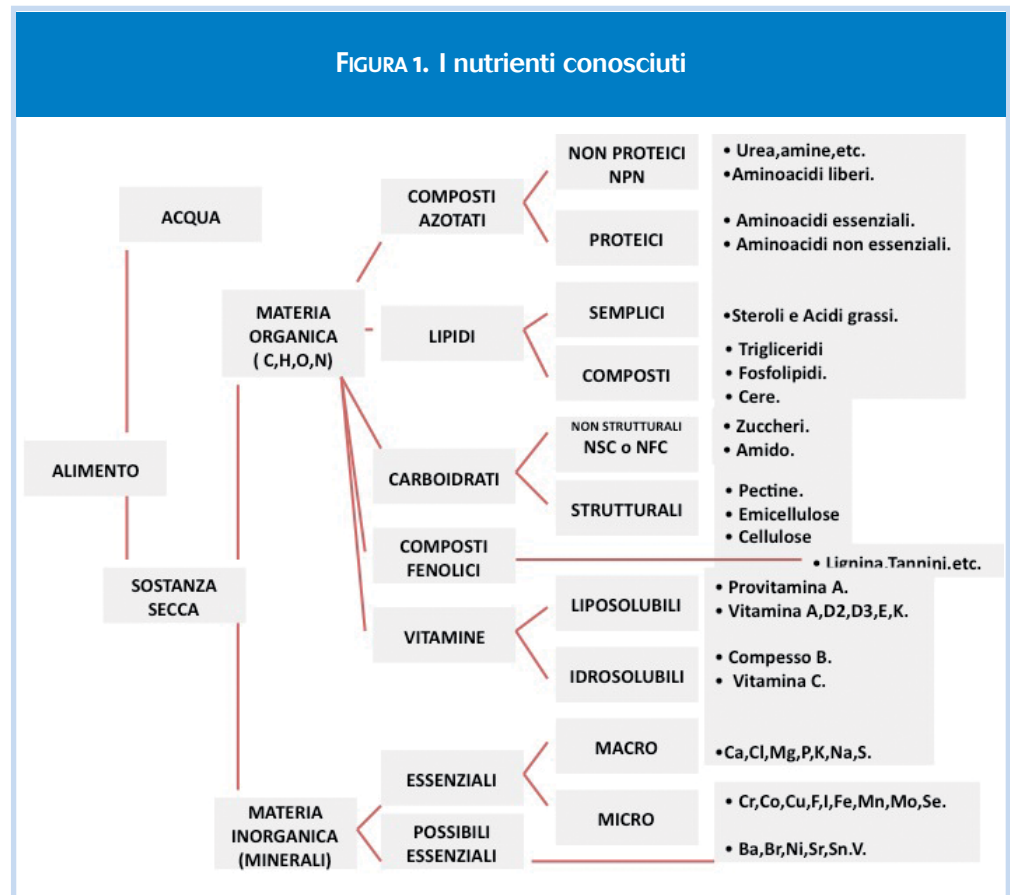
**L**a riproduzione, ossia la capacità di generare una prole, è l'evento biologico più "premiato" dalla selezione naturale e pertanto è la priorità metabolica più importante per gli organismi viventi. Tuttavia essa rappresenta un impegno importante perché sottrae risorse nutritive alla madre e la mette a rischio di sopravvivenza. La riproduzione è una "cascata" di eventi più o meno concatenata che va dallo sviluppo dei follicoli, dalla fase primordiale all'ovulazione, fino alla nascita del vitello. In ognuna di queste fasi la madre ha il "dovere metabolico" di verificare lo stato dell'ambiente e la disponibilità di risorse nutritive per decidere se e come modulare le azioni che si concludono con la nascita della prole. D'altronde la "filosofia" della biologia evolutiva porta ad attribuire un ruolo importante alla nutrizione della madre sia dal momento del concepimento, sia in previsione del momento in cui il vitello nascerà, e quindi fino al suo svezzamento. Attraverso il cibo e l'acqua di abbeverata la bovina si approvvigiona di una gamma di nutrienti molto articolata (figura 1).

Ognuno di essi ha un ruolo definito in ogni processo metabolico che va dal mantenimento, alla crescita, alla produzione, al ripristino delle riserve corporee, all'immunità e alla riproduzione. Nelle cellule dell'organismo esistono recettori in grado di "sentire" e utilizzare queste molecole sia direttamente e sia tramite il sistema ormonale, sia esso endocrino che paracrino che autocrino. Parlare del ruolo della nutrizione sulla sopravvivenza e lo sviluppo degli embrioni utilizzando gli "artefizi matematici" che si utilizzano per elaborare le diete per le vacche da latte da poche in-

formazioni. Il nutriente più controverso è l'energia. L'energia netta latte (Enl) è una stima di quale sia il valore energetico di un alimento o di una razione e serve maggiormente a semplificare i calcoli più che a prevedere quale sarà l'ATP disponibile per i processi metabolici. Lo stesso si può dire per la proteina totale in luogo dei fabbisogni dei singoli amminoacidi e dei lipidi per gli acidi grassi, siano essi saturi che insaturi. Inoltre attraverso il cibo e l'acqua la bovina ingerisce sostanze tossiche di per se o che lo diventano per loro eccessiva concentrazione. Per meglio comprendere il "peso" della nutrizione sulla probabilità di buona riuscita della gravidanza è "didatticamente" necessario dividere il ruolo della nutrizione sulla qualità del follicolo e dell'ovocita da quello sull'embrione prima del suo attecchimento e sia sulla fase successiva.

## La nutrizione e la qualità del follicolo e dell'ovocita

È noto che un ovocita che proviene da un follicolo dominante, ossia quello che in condizioni normali da luogo all'ovulazione, per poter da luogo a un embrione in grado di crescere fino al parto deve essere di elevata qualità e deve avere avuto una crescita armonica in un contesto di corti follicolari in grado di sostenerlo. Discontinuità nel suo percorso di crescita fin dalla fase primordiale daranno dapprima ovociti e poi embrioni che possono degenerare fin dopo lo sviluppo della placenta. Addirittura, e ampiamente dimostrato, carenze nutritive specifiche possono imprimere alle cellule del follicolo e sicuramente dell'ovocita delle modificazioni epigenetiche tali da poter essere trasmesse ►►



alla discendenza. L'epigenetica è quella branca della genetica molecolare che studia come fattori ambientali possono modulare l'espressione dei geni attraverso la metilazione del DNA e l'acetilazione degli istoni e come questo possa trasmettersi alle generazioni future. In pratica, oltre ad esistere una selezione basata sulle mutazioni del DNA, a vantaggio di soggetti più "adatti", esiste un "prendere atto" delle condizioni ambientali, tra cui quelle nutrizionali, per migliorare l'adattamento all'ambiente della prole. Sappiamo che il follicolo che ospita l'ovocita che verrà fecondato per poi svilupparsi dapprima in blastocisti e poi in embrione ha una fase di sviluppo molto lunga della durata di circa quattro mesi.

## Fattori di crescita

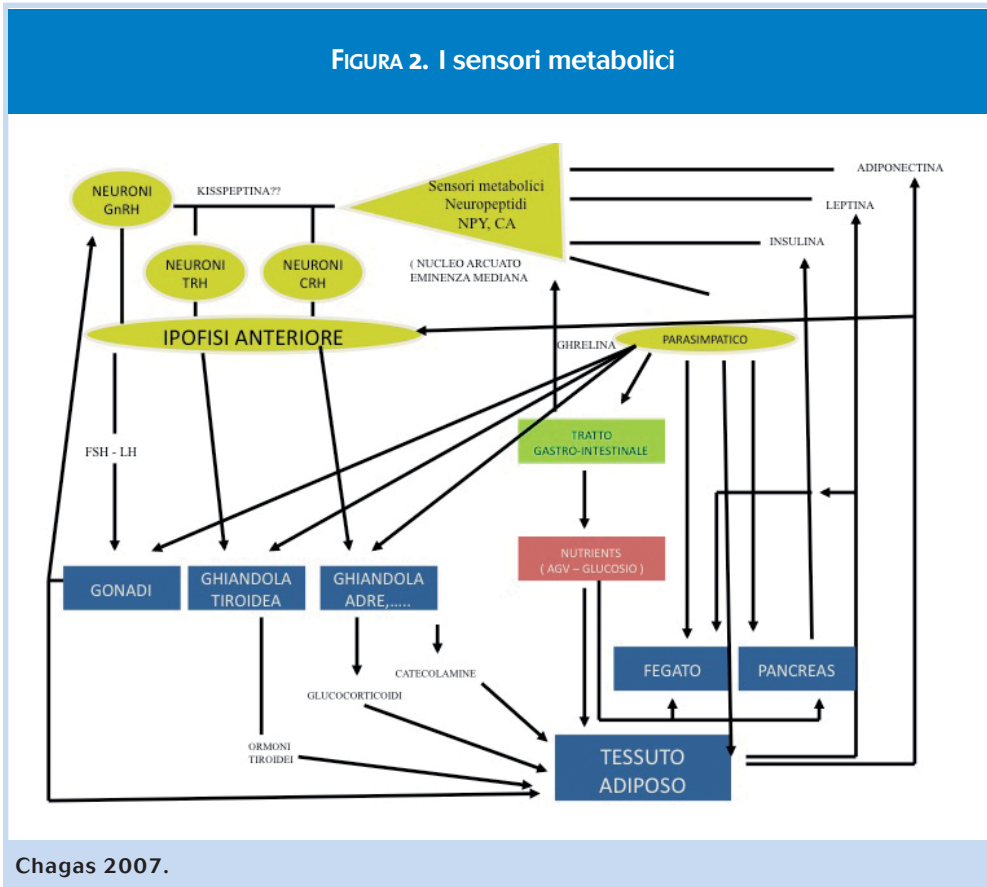
Durante questo periodo la sua crescita è modulata da importanti fattori di crescita. I due principali sono l'IGF-1 e le gonadotropine. Il primo è un ormone che appartiene al più generale complesso ormonale IGF-S prodotto principalmente dal fegato. L'IGF-1 è considerato oggi il più potente e specifico fattori di crescita fol-

licolare (figura 3-6). Discontinuità sia nella produzione epatica che quella follicolare di IGF-1 possono compromettere irreversibilmente la qualità dei follicoli e dell'ovocita e anche la capacità del corpo luteo, che si sviluppa dal quel follicolo di secernere progesterone e dell'ovocita di differenziarsi fino a embrione e quindi feto. Da ricerche svolte sulla specie umana si è visto che embrioni concepiti in situazioni di gravi carenze nutritive abbiano dato persone che in età adulta hanno avuto una maggiore probabilità di sviluppare patologie gravi come il diabete e le malattie cardio-vascolari. ad alterare la sintesi di IGF-1 abbiamo il bilancio energetico negativo tipico delle ultime settimane di gravidanza e dei primi mesi di lattazione che agiscono direttamente sulla produzione di IGF-1 che indirettamente sul GH, che rappresenta il primo fattore endocrino di stimolazione alla sua sintesi. Specificatamente le carenze di aminoacidi, sia essenziali che non essenziali, interferiscono negativamente sulla produzione dell'IGF-1 e sulle proteine che lo trasportano in circolo (IGFBP). Inoltre esiste anche al livello follicolare una produzione di IGF-1 ad azione autocrina e para-

crina modulata dalla nutrizione. Il secondo fattore ormonale che condiziona lo sviluppo e la qualità dei follicoli e degli ovociti è rappresentato dalle gonadotropine ossia l'FSH e l'LH prodotte dall'ipofisi conseguentemente all'azione modulatrice del GnRH ipotalamico. La produzione ipotalamica di GnRH è fortemente condizionata da segnali metabolici provenienti dal tessuto adiposo come la leptina, dall'insulina, dalla ghrelina e da nutrienti specifici. Le gonadotropine vengono secrete con un andamento pulsatile. I sensori metabolici possono condizionare questo tipo di secrezione nell'ampiezza e nella frequenza (figura 2). Un'alterata attività pulsatile dell'LH può causare l'anaestro, la degenerazione cistica del follicolo oppure un corpo luteo non in grado di produrre una sufficiente quantità di progesterone in grado di accompagnare la blastocisti fino allo stadio di embrione e di placentazione. Il follicolo stesso ha recettori per alcuni nutrienti e alcuni metaboliti. È noto che il follicolo " sente", e ne viene condizionato, alcuni metaboliti secondari al bilancio energetico come il BHBA, il glucosio, e i NEFA. Nella condizione in cui l'ovocita e il cor-

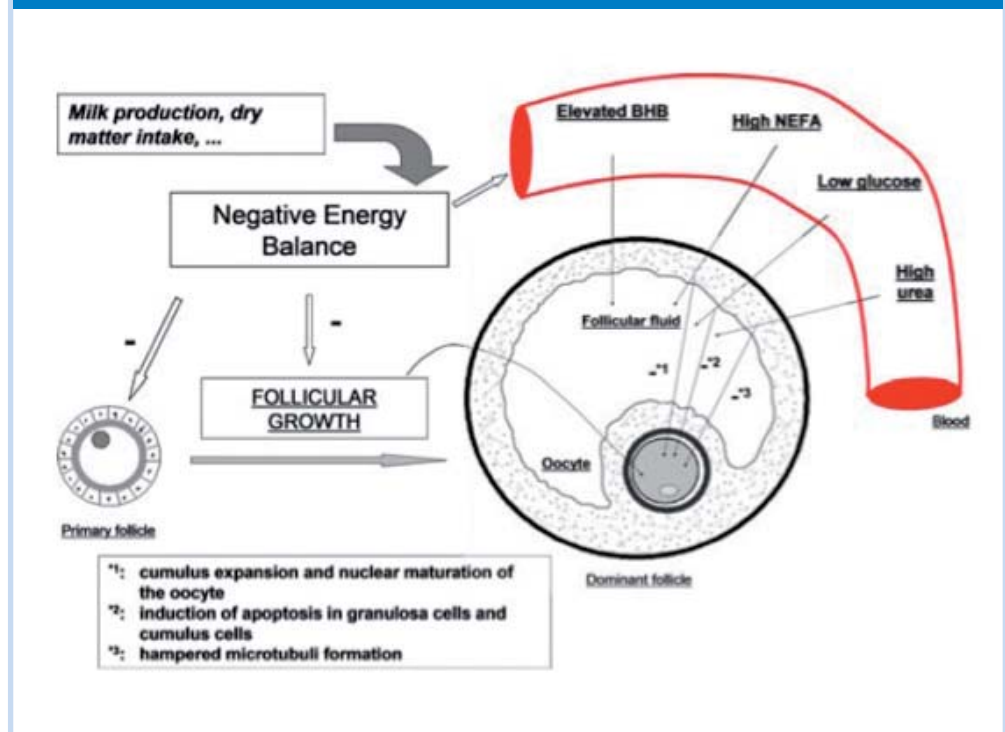
po luteo che si sviluppino correttamente e il primo venga fecondato ci sono altri fattori nutrizionali e metabolici che possono condizionare la qualità della blastociste e poi dell'embrione e la loro capacità di sopravvivenza. Una condizione che aumenta il rischio di morte embrionale più o meno precoce è la "ritardata crescita intrauterina" (IUGR) dell'embrione. La crescita, intesa come aumento della taglia e del numero delle cellule e lo sviluppo, come cambiamento della struttura e della funzione delle cellule e dei tessuti, è un complesso di eventi biologici influenzati dalla genetica, dall'epigenetica, dalla maturità materna e da altri fattori. Queste variabili influenzano le dimensioni e la funzionalità della placenta e quindi il trasferimento di nutrienti e ossigeno dalla madre al feto e comunque l'intero metabolismo. L'ambiente uterino e la disponibilità dei nutrienti trasferiti condiziona la taglia del feto alla nascita e comunque la "traiettoria" di crescita fetale. Tra i due maggiori fattori coinvolti nell'eziologia della IUGR troviamo l'insufficiente capacità uterina e l'inadeguata nutrizione materna. A confermare l'importanza dell'ambiente uterino nel con-

FIGURA 2. I sensori metabolici



Chagas 2007.

**FIGURA 3. Meccanismi metabolici che legano il NEBAL con la qualità degli ovociti nelle bovine ad alta produzione**

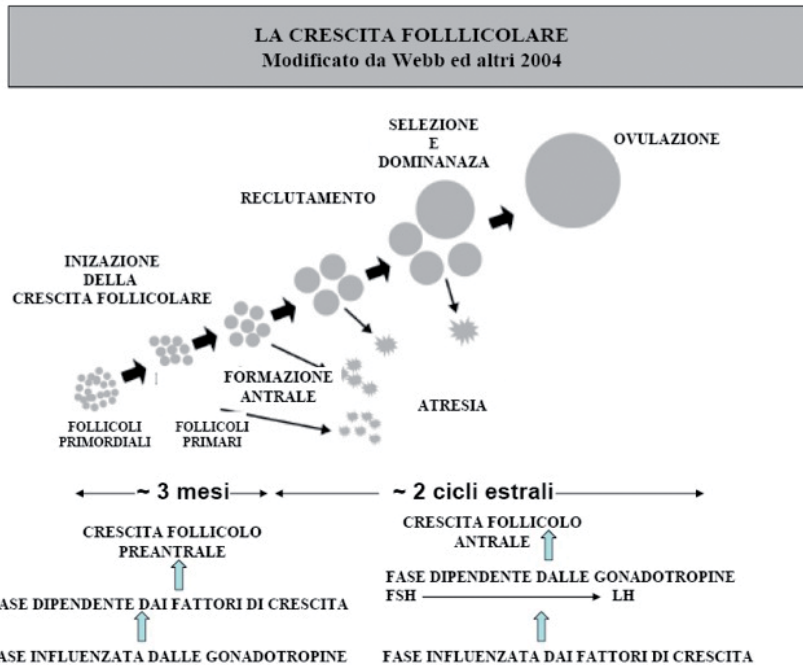


Leroy e Opsomer, 2008.

dizionare la taglia del feto c'è l'osservazione che un embrione proveniente da una madre geneticamente piccola una volta trasferito in una dotata di un utero di grande capacità esso avrà un tasso di crescita maggiore. Questo effetto si può verificare anche quando vengono fecondate manze troppo piccole perché o troppo giovani o perché mal sviluppate. Nella pratica d'allevamento è facile individuare le vitelle figlie delle primipare proprio per la loro taglia ridotta. Stesso effetto è comunemente riscontrato nelle gravidanze multiple. L'inadeguata nutrizione materna è l'area più studiata in quanto in grado di offrire un margine maggiore d'intervento. Le esigenze produttive degli allevamenti obbligano l'allevatore a rifecondare le bovine subito dopo la ripresa della piena funzionalità dell'utero ossia dai 50 giorni dopo il parto in poi. Le bovine hanno generalmente il picco produttivo dai 40 ai 60 giorni dopo il parto e nel periodo che precede e segue la loro massima produzione possono trovarsi nel nadir del bilancio energetico e proteico negativo. Le bovine che "prendono la decisione di riprodursi" in questo periodo che può essere anche molto prolungato non

saranno in grado di assicurare al feto una nutrizione adeguata. Durante le ultime settimane di gravidanza gradualmente si sviluppa uno stato d'insulino-resistenza che impedisce ai tessuti di ossidare completamente gli acidi grassi liberati da tessuto corporeo sotto la stimolazione dell'insulina. Paradossalmente, e molto similmente a quanto avviene per la ghiandola mammaria, l'insulino-resistenza aumenterebbe teoricamente la disponibilità di glucosio e aminoacidi che la madre può trasferire al feto. Siccome l'insulino-resistenza stimola la sintesi proteica muscolare e inibisce il catabolismo proteico muscolare troveremo che l'insulino-resistenza aumenta il tasso netto di proteolisi generale corporea e di metilarginasi. Questa molecola inibisce la sintesi endoteliale di ossido nitrico (NO) che è il maggiore regolatore del flusso ematico uterino. Pertanto le forme gravi d'insulino-resistenza compromettono l'afflusso di nutrienti e ossigeno alla placenta durante le ultime fasi della gravidanza. Questo effetto è stato osservato in molte specie animali. Effetti negativi sulla taglia del feto si sono osservati anche nel caso di sovralimentazione nelle ultime settimane di

FIGURA 4. La crescita follicolare

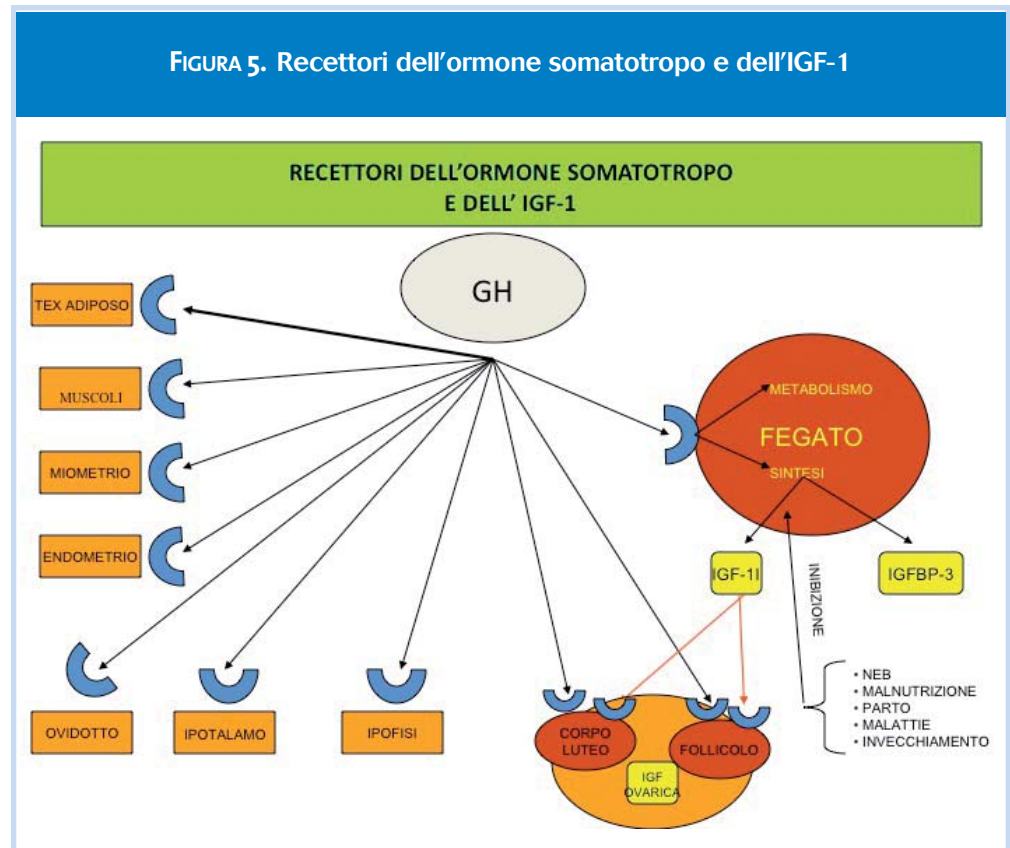


Modificato da Webb *et al.*, 2004

gravidanza. Ci sarebbe però a questo punto da domandarsi che vantaggio si può ottenere da avere vitelli che alla nascita hanno un peso superiore quando sicuramente potrebbe aumentare il rischio di parti difficili e quindi di distocie. I vitelli con IUGR presentano un tasso di mortalità perinatale più elevato con aumento dell'incidenza di malattie neurologiche, respiratorie, intestinali e circolatorie durante il periodo neonatale. Sono, inoltre, più suscettibili a ipotermia. A oggi non ci sono informazioni o analisi epidemiologiche per quantificare l'incidenza di mortalità neonatale a causa della IUGR. Studi sulle conseguenze a lungo termine della IUGR sui bovini sono molto scarsi. Negli ovini si avranno minori masse muscolari e maggiore tessuto connettivo. Si osserva una riduzione dell'efficienza alimentare e una maggiore incidenza anche in età adulta di disturbi del metabolismo dell'insulina, dello stress ossidativo e di disfunzioni mitocondriali. Sono inoltre documentati effetti di probabile natura epigenetica di fertilità di vitelle con IUGR. Ma quali sono i fattori metabolici che maggiormente sono responsabili della IUGR? Il più importante è relativo alle altera-

zioni della crescita della placenta. La crescita e la funzionalità di questo organo è massima se la vascolarizzazione (angiogenesi) e il flusso di sangue, e quindi dei nutrienti in esso contenuti, avviene regolarmente in tutte le fasi della gravidanza, anche negli ultimi mesi di gestazione. La ricerca ha evidenziato l'importanza dell'ossido nitrico (NO) e delle poliammine nella crescita sia della placenta che del feto. L'NO anche detto monossido d'azoto od ossido d'azoto è un gas incolore. È un importante neurotrasmettitore con effetto vasodilatatore. Nei sistemi biologici viene prodotto a partire dall'arginina e ossigeno per l'azione dell'enzima monossido nitrico sintetasi (NOS). L'NO viene sintetizzato nell'endotelio. L'ossido nitrico agisce sulla muscolatura liscia dei vasi sanguigni provocando vasodilatazione con il conseguente aumento di flusso ematico nell'area dove esercita la sua azione. Le poliammine placentari regolano il DNA e la sintesi proteica e quindi la proliferazione cellulare e la sua differenziazione. Sia le poliammine che l'NO vengono sintetizzate dall'arginina. È stato più volte dimostrato che un'abbondanza di arginina nei fluidi fetali è associata con una

FIGURA 5. Recettori dell'ormone somatotro e dell'IGF-1



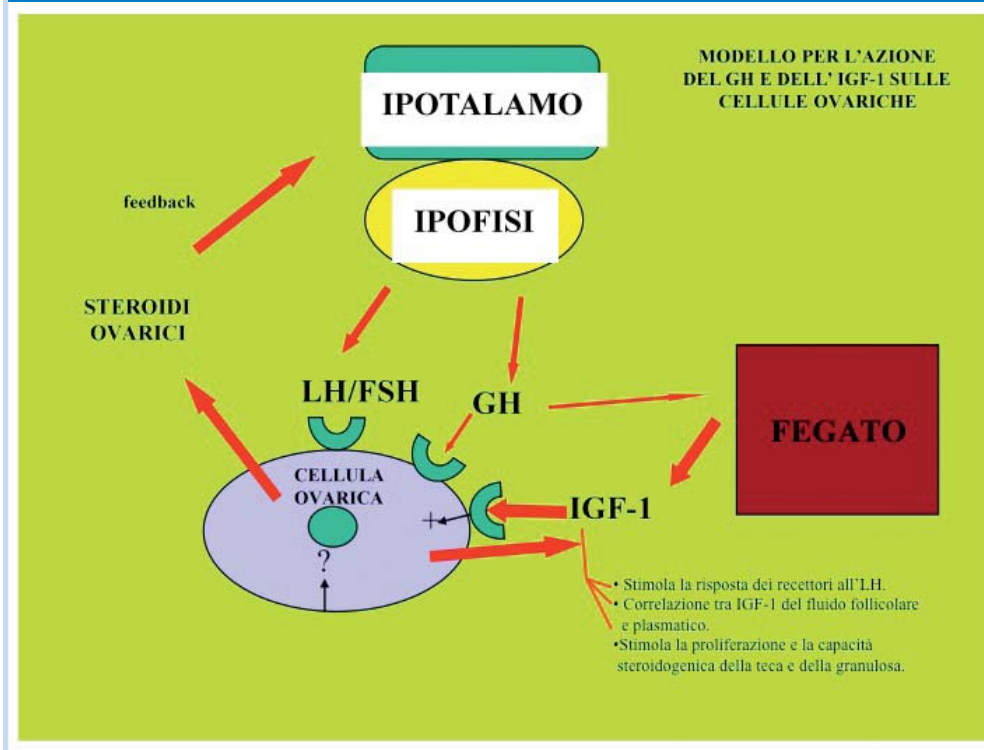
maggior presenza di NO e poliammine placentari. Diete carenti di proteine riducono la disponibilità di arginina e ornitina nel plasma materno e fetale e nel fluido amniotico. Nelle pecore una riduzione del 50% dei fabbisogni NRC dal 28° e il 78° giorno di gestazione riduce la concentrazione di arginina e poliammine placentari sia nel feto che nella madre. È necessario comunque ricordare che un adeguato tasso di crescita fetale riduce la possibilità di modificazioni epigenetiche del DNA. Le possibili aree d'intervento per ridurre l'incidenza della IUGR sono le terapie ormonali, la dieta, gli antiossidanti e la possibilità di manipolare la sequenza arginina-NO-poliammine. Tra i trattamenti ormonali considerabili per garantire un'adeguata crescita fetale troviamo il progesterone. Durante la sottanutrizione la concentrazione di questo ormone appare più bassa anche se non sembra sia in grado d'influenzare il peso dei feti alla nascita. Diverso invece è l'effetto del GH che è in grado di alterare la ripartizione dei nutrienti materni in favore della crescita placentale e del peso alla nascita. Il GH può aumentare la disponibilità d'arginina stimolando la sintesi nell'intestino materno e fetale di citrullina,

aminoacido precursore dell'arginina, e inibire la degradazione epatica degli aminoacidi delle femmine gravide. Nella vacca da latte durante la fase avanzata della gravidanza vengono prodotte molte molecole ossidanti (ROS) come l'anione superossido, il perossido d'idrogeno, i radicali idrossilici, ecc. Lo stress ossidativo derivante causa una ridotta produzione di NO che oltre ad avere i noti effetti sul feto può contribuire al peggioramento di una insulino-resistenza già normalmente presente in questo periodo. La sovralimentazione, frequente in tarda gravidanza, può causare un incremento nella produzione di ROS per cui l'attenzione nella concentrazione di vitamine e oligoelementi ad azione antiossidante può avere un ruolo favorevole nella prevenzione del IUGR. In generale la corretta nutrizione è in grado di fornire alla bovina sia gli aminoacidi che l'energia necessari ai processi metabolici.

### Il ruolo delle endotossine

Non marginale è il ruolo che hanno le endotossine sulla fertilità in generale e in particolare sulla differenziazione dell'ovocita fecondato. Prodotte dalla morte dei

FIGURA 6. Azione del GH e dell'IGF-1 sulle cellule ovariche



gram-negativi sia patogeni come i coliformi o non patogeni come buona parte della microflora ruminale agiscono direttamente e indirettamente inibendo le gonadotropine ipofisarie, modulando, attraverso l'insulino-resistenza, la distribuzione del glucosio nei tessuti e inibendo la differenziazione dell'ovocellula in blastociste. Una condizione di acidosi ruminale anche a decorso sub-clinico può causare elevata mortalità ruminale di batteri Gram-negativi con la conseguente liberazione di lipopolisaccaridi (LPS).

## Il progesterone

Un discorso a se stante è relativo alla possibilità di modulare la produzione di progesterone da parte del corpo luteo. Gli ormoni steroidei si chiamano così perché di natura lipidica. Sia il progesterone che gli estrogeni hanno come precursori il colesterolo. Nei ruminanti tutto il colesterolo presente nell'organismo viene sintetizzato essenzialmente a livello del fegato. A differenza dei monogastrici che lo possono ingerire con la dieta attraverso gli alimenti di origine animale nei ruminanti ciò non è possibile in quanto il colesterolo non è presente negli alimenti vegetali e i gras-

si animali sono vietati come conseguenza delle limitazioni imposte dalle misure di controllo della BSE. Pertanto nella vacca da latte per garantire un sufficiente disponibilità di colesterolo per la sintesi del progesterone è necessario garantire un'adeguata assunzione giornaliera di acidi grassi saturi a lunga catena e che il fegato sia perfettamente funzionante e con una bassa infiltrazione di trigliceridi. Gli acidi grassi polinsaturi come l'acido linolenico (C18:3), l'EPA (C20:5) e il DHA (C22:5), tutti appartenenti al gruppo degli omega-3, hanno un'importante azione anti-prostaglandinica e stimolante dei recettori dell'insulina (*insulin sensitizers*).

## Conclusioni

La nutrizione è coinvolta sensibilmente nella sindrome della morte embrionale della bovina da latte. Al di là dell'uso "terapeutico" e "profilattico" di alcuni nutrienti, argomento tipico di nutrizione clinica, vale il concetto di somministrare alle bovine da latte nella fase d'ingravidamento e quelle successive delle razioni alimentari equilibrate e non finalizzate alla sola esclusiva ricerca delle produzioni estreme in genere negative per la fertilità. ■