

La sindrome della sub-fertilità nella vacca da latte

15 CREDITI ECM

AUTORE

Alessandro Fantini

Facoltà di Medicina Veterinaria - Università di Perugia

PRIMA PARTE

Metabolismo e fertilità nella vacca da latte

SECONDA PARTE

Nutrizione e fertilità nella vacca da latte

TERZA PARTE

**Influenza della nutrizione sulla corretta ripresa
dell'attività ovarica**

QUARTA PARTE

**Importanza di una corretta rilevazione dell'estro
e del momento adatto alla fecondazione**

QUINTA PARTE

**Principali patologie ovariche e uterine in grado
di mettere a rischio l'instaurarsi della gravidanza**

Sponsor:



RESPONSABILE SCIENTIFICO

Fausto Cremonesi

Professore Ordinario,

Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie

Università degli Studi di Milano

PERCORSO FORMATIVO:

La sindrome della sub-fertilità nella vacca da latte

TERZA PARTE

Influenza della nutrizione sulla corretta ripresa dell'attività ovarica

AUTORE: Alessandro Fantini

Facoltà di Medicina Veterinaria - Università di Perugia

RESPONSABILE SCIENTIFICO: Fausto Cremonesi

Professore Ordinario, Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie - Università degli Studi di Milano

La ripresa dell'attività ovarica dopo il parto (RAODP), ossia la sequenza di eventi fisiologici che partendo dalla maturazione del follicolo arrivano all'ovulazione, è il fattore più importante del ciclo riproduttivo, in quanto significativamente correlato all'interparto. È ormai noto che per ridurre l'interparto, evento ineludibile per la corretta espressione del potenziale produttivo di una vacca da latte, è necessario che la gravidanza si instauri il più precocemente possibile. La produzione che si perde con una nuova gravidanza, per la flessione della curva di lattazione, è di gran lunga inferiore alla produzione del primo terzo di lattazione, periodo in prossimità del picco produttivo. Molti autori, in particolare Butler e Darwash, ritengono che più numerosi sono i cicli estrali che si susseguono prima del ciclo corrispondente alla fine del periodo volontario d'attesa (PVA), più elevata è la probabilità che quest'ultimo sia fertile. Inoltre, Villa-Gody e altri autori hanno evidenziato che il progesterone prodotto e secreto dal corpo luteo aumenta con l'aumentare del numero di cicli estrali successivi al parto. Il periodo volontario d'attesa è una scelta manageriale operata dall'allevatore in funzione del fatto che, in genere, la probabilità che la bovina resti gravida aumenta progressivamente dopo il parto, ossia man mano che si allontana dal picco di lattazione e, quindi, dal *nadir* del bilancio energetico negativo (NEBAL). L'allevatore non feconda tutte le bovine che vanno in calore dopo il parto, ma solo quel-

le in estro dopo la fine del periodo volontario d'attesa, per non sprecare dosi di seme in fecondazioni sicuramente infruttuose. In genere, il PVA corrisponde a un periodo di 50-60 giorni dopo il parto, anche se, nella realtà zootecnica italiana (frisone iscritte ai controlli funzionali), l'intervallo parto-primario servizio supera gli 80 giorni. Alla luce di queste considerazioni, si può condividere il fatto che il numero di fecondazioni per gravidanza non rappresentano un indicatore di sub-fertilità, ma solo un aspetto economico della gestione dell'attività riproduttiva della vacca da latte. In generale, più l'allevatore riduce il PVA, più elevato è il numero di fecondazioni necessarie per ottenere una gravidanza. La precocità della RAODP è determinata da numerosi fattori, tutti riconducibili alla seguente equazione:

$$\text{FENOTIPO} = \text{GENOTIPO} + (\text{AMBIENTE} + \text{SANITÀ} + \text{NUTRIZIONE} + \text{MANAGEMENT})$$

$$\text{dove fenotipo} = \text{RAODP}$$

Per poter incidere positivamente su tutti gli aspetti che influenzano la rapida ripresa dell'attività ovarica, la qualità dei follicoli e la capacità del corpo luteo di sostenere almeno la fase iniziale di una nuova gravidanza, è necessario comprendere i meccanismi fisiologici più intimi della gravidanza stessa.

FISIOLOGIA

Dal punto di vista strutturale, l'ovaio presenta una zona midollare, costituita da connettivo, vasi e nervi, e una zona corticale di natura connettivale, che contiene i follicoli; questi ultimi contengono a loro volta le cellule germinali od oociti. Gli oociti, che alla nascita sono circa 800.000, si riducono progressivamente col tempo e, a quindici anni, sono circa 25.000. Nelle ovaie possiamo trovare quattro tipi di follicoli. Alla nascita, l'oocita primario è circondato da un singolo strato di cellule follicolari appiattite, che formano il follicolo primordiale e che restano in uno stato di arresto meiotico fino alla pubertà. Solo alcuni follicoli ovulano, mentre i rimanenti vanno incontro ad atresia. Dai follicoli primordiali si sviluppano i follicoli primari, costituiti da un oocita circondato da un singolo strato di cellule cuboidali (foto 1); questi ultimi evolvono in follicoli secondari, in cui l'oocita è circondato da 2 o più strati di cellule follicolari (foto 2). Lo strato esterno, che riveste l'oocita, è detto zona pellucida. Infine, si assiste alla formazione del follicolo terziario, detto anche antrale, caratterizzato da una cavità delimitata da tre strati cellulari: la teca esterna, la teca interna, la granulosa (foto 3). A livello della teca interna avviene la sintesi degli androgeni, successivamente convertiti in estrogeni da parte delle cellule della granulosa. Nella cavità follicolare si raccoglie il liquido follicolare contenente gli ormoni, soprattutto estrogeni. L'ulteriore sviluppo del follicolo terziario porta alla formazione del cosiddetto follicolo ovulatorio o di Graaf.

I primi 2 o 3 mesi del periodo che precede la ripresa dell'attività ovarica *post partum* sono caratterizzati da ondate follicolari, che si susseguono ogni 7-10 giorni. In genere, in un ciclo estrale della durata media di 21 giorni (18-24 giorni) si verificano tre ondate follicolari. La crescita di un follicolo è un evento molto lento (può richiedere anche 3-4 mesi) e comprende una fase precoce, indipendente dalla gonadotropine (FSH ed LH), e una fase dipendente da questi ormoni. Il follicolo che, con la sua attività,

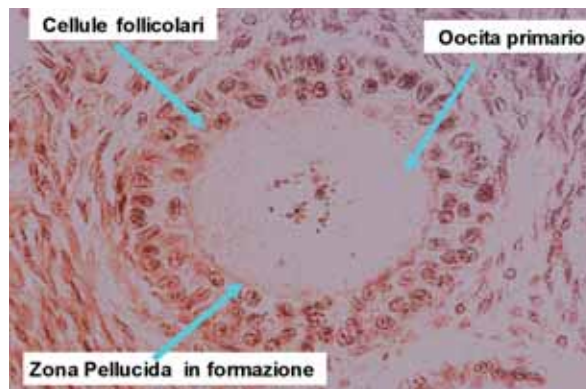


Foto 2. Follicolo secondario.

dovrebbe contraddistinguere la RAODP, si è sviluppato durante la lattazione e l'asciutta precedenti, ossia durante la difficile fase di preparazione al parto o *close-up* o prima fase della *transition cow*. Negli ultimi 22 giorni di gravidanza, quindi nella fase zootecnica definita *close-up*, si assiste alla produzione di una notevole quantità di progesterone, da parte del corpo luteo e della placenta, e di estrogeni, soprattutto placentari. Con il parto, il progesterone e gli estrogeni scendono a livello basale (2-3 giorni dopo il parto). Il numero dei recettori epatici per il GH (GHR) tende a diminuire progressivamente già nella fase di *close-up*, raggiungendo il *nadir* la prima settimana dopo il parto, per aumentare successivamente. Analogo andamento caratterizza la produzione di IGF-1, secreto dal fegato, di insulina pancreaticata e leptina (ormone secreto dal tessuto adiposo in concentrazione proporzionale alla massa adiposa). Se non intervengano processi patologici negativi o infettivi, sistemici o a carico di specifici aspetti metabolici, si può riscontrare un significativo incremento dei recettori GHR e della concentrazione ematica di insulina e IGF-1 al 10°-15° giorno di lattazione (figura 1). Nel *post partum*, il GH e i NEFA (acidi grassi non esterificati) hanno lo stesso andamento, ossia un incremento progressivo, a volte anche già negli ultimi giorni della gravidanza (NEFA). Dal punto di

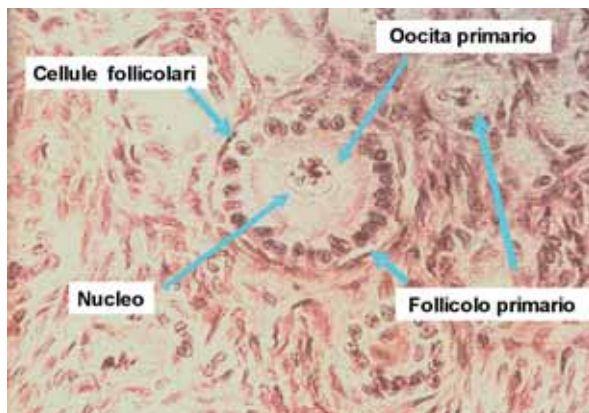


Foto 1. Follicolo primario.

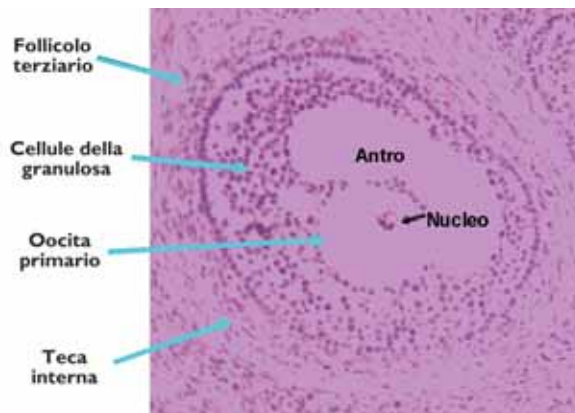


Foto 3. Sviluppo del follicolo terziario.

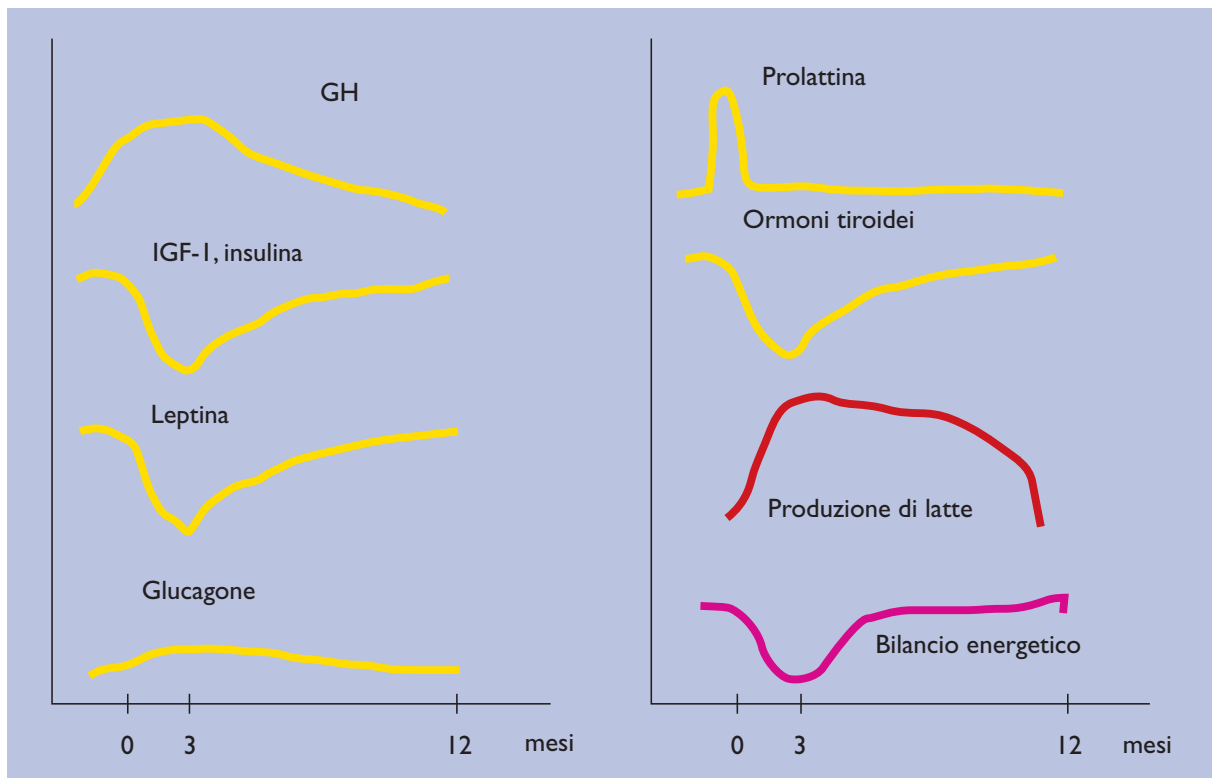


Figura 1. Variazioni dell'assetto ormonale, della produzione e del bilancio energetico durante la lattazione nella vacca da latte (12 mesi).

vista biochimico, abbiamo già evidenziato l'aumento della produzione dei NEFA, espressione di un bilancio energetico negativo inevitabile, ma gestibile. Contemporaneamente, si osserva un aumento della produzione epatica di corpi chetoni, soprattutto β -idrossibutirrato (BHBA) e trigliceridi epatici, derivanti dall'esterificazione dei NEFA nelle cellule epatiche, la cui entità può variare dal fisiologico al patologico. Dopo il parto, sia per la maggior domanda energetica della vacca sia per l'imponente sottrazione mammaria, il glucosio tende a diminuire, così come le riserve di glicogeno epatico. Se le tecniche alimentari e il *management* sono efficaci e non sopraggiungono patologie locali o sistemiche, l'aumento dell'assunzione di nutrienti impedisce a questo quadro ormonale e biochimico di evolvere in chetosi e in tutte le patologie ad essa correlate. La chetosi, sia nella sua forma clinica sia in quella subclinica, può insorgere una settimana dopo il parto o al primo mese di lattazione. I follicoli in fase di maturazione in questo periodo sono fortemente condizionati da questi eventi. L'immediato incremento nel *post partum* di FSH stimola la crescita dei follicoli che si trovano nella fase di "dipendenza dalle gonadotropine". Si può pertanto concludere che l'allungamento della durata della RAODP è essenzialmente causato non tanto dalla mancanza di ondate follicolari, ma dalla deviazione e selezione del follicolo dominante (figura 2).

Lo sviluppo del follicolo

L'incremento nella produzione di latte aumenta la domanda metabolica e ciò si ripercuote inevitabilmente sulla dinamica della crescita follicolare e sulla qualità degli oociti e, quindi, sull'intervallo dell'anaestro *post partum* e sui cicli estrali. La crescita dei follicoli è controllata sia dalle gonadotropine (FSH e LH) sia da numerosi fattori locali di crescita. Molti fattori ambientali, come la nutrizione, possono influenzare lo sviluppo dei follicoli e la qualità degli oociti fino alla sopravvivenza degli embrioni. Il ciclo di crescita follicolare può essere suddiviso nelle fasi di crescita follicolare pre-antrale e antrale. I meccanismi di regolazione della crescita follicolare nella prima fase (circa 3 mesi) non sono del tutto noti e dipendono essenzialmente dall'interazione oocita/cellule della granulosa e da fattori locali di crescita. Tra i più importanti, ricordiamo il GDF (*Growth Differentiating Factor*), il BMP (*Bone Morphogenetic Proteins*), che *in vitro* può stimolare anche la produzione di estradiolo, le attivine, le inibine, il bFGF (*basic Fibroblast Growth Factor*) e l'EGF (*Epidermal Growth Factor*). Le gonadotropine, in particolare l'FSH, possono accelerare lo sviluppo del follicolo pre-antrale. Anche l'IGF, probabilmente per via endocrina, può stimolare i follicoli in questa fase, in quanto le cellule della granulosa ne possiedono i recettori. Nella fase successiva (cre-

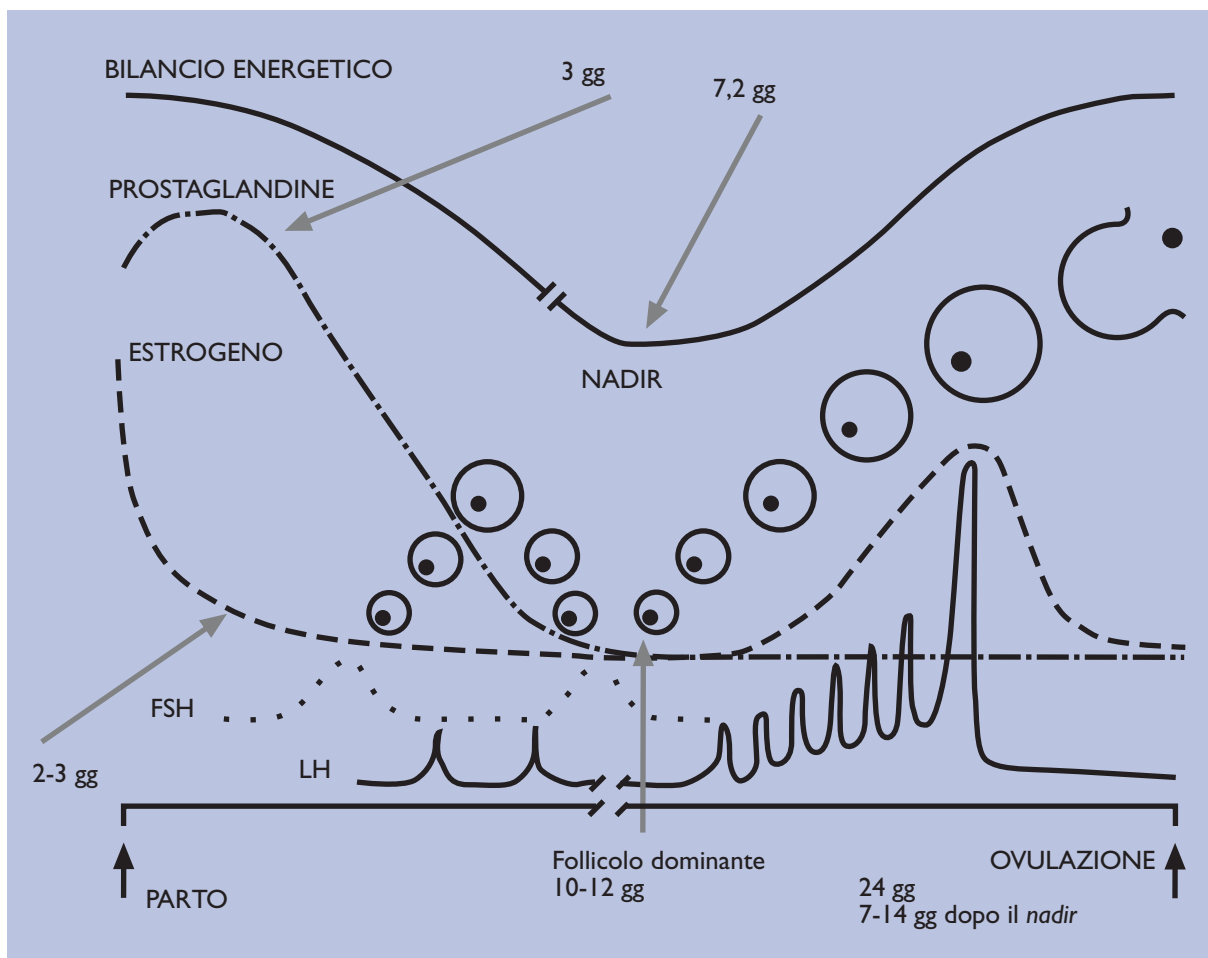


Figura 2. Ripresa ideale dell'attività ovarica dopo il parto.

scita del follicolo antrale), le gonadotropine, l'FSH e l'LH giocano un ruolo importante, anche se i fattori locali di crescita continuano ad esercitare la loro azione. In ogni ciclo estrale, si succedono due o tre ondate follicolari, sia prima della pubertà sia nella fase d'anaestros *post partum*. Ogni ondata follicolare è caratterizzata dal reclutamento di un gruppo di follicoli che continuano crescere fino a raggiungere un diametro di 6-8 mm. Nelle specie monovulari come la vacca da latte, si ha la selezione di un solo follicolo, destinato a crescere e a diventare il follicolo dominante. Al raggiungimento dei 2 mm di diametro, la crescita follicolare dipende dall'FSH e dall'LH. Ogni ondata follicolare è preceduta da un transitorio aumento dell'FSH. L'inibina-A periferica e la concentrazione di FSH influenzano il numero di ondate follicolari e sono in grado di controllare l'intervallo di inizio della successiva ondata follicolare. La crescita dei follicoli con un diametro di 5 mm (reclutamento) è caratterizzato dall'induzione dell'espressione degli enzimi P450_{sc} (*side-chain clavage*) e P450_{arom} (aromatasi) nelle cellule della granulosa e da un incremento dell'mRNA dei recettori per le gonado-

tropine e degli enzimi steroidogenetici, con conseguente aumento delle dimensioni dei follicoli. In alcuni esperimenti *in vitro*, l'FSH somministrato per 48 ore stimola gli enzimi P450_{sc} e P450_{arom}. Il BMP può alterare la steroidogenesi e la proliferazione delle cellule della granulosa. A questo stadio di sviluppo del follicolo sono stati individuati i recettori dell'IGF system.

La selezione del follicolo dominante

Il meccanismo preciso di selezione del follicolo dominante (FD) non è stato del tutto chiarito. Probabilmente è dovuto alla riduzione dell'FSH dopo un'ondata follicolare. Tutti i follicoli reclutati contribuiscono al declino dell'FSH; ovviamente, i follicoli più grandi rivestono un ruolo maggiore. L'estradiolo e l'inibina hanno un ruolo importante nella rapida deviazione del futuro follicolo dominante e dei follicoli subordinati più grandi. La selezione del follicolo dominante avviene al raggiungimento di un diametro di 8-9 mm; in questa fase, le cellule della granulosa sono provviste di recettori per l'LH (LHr), a supporto della considerazione che dopo il declino dell'FSH, l'ormone che ac-

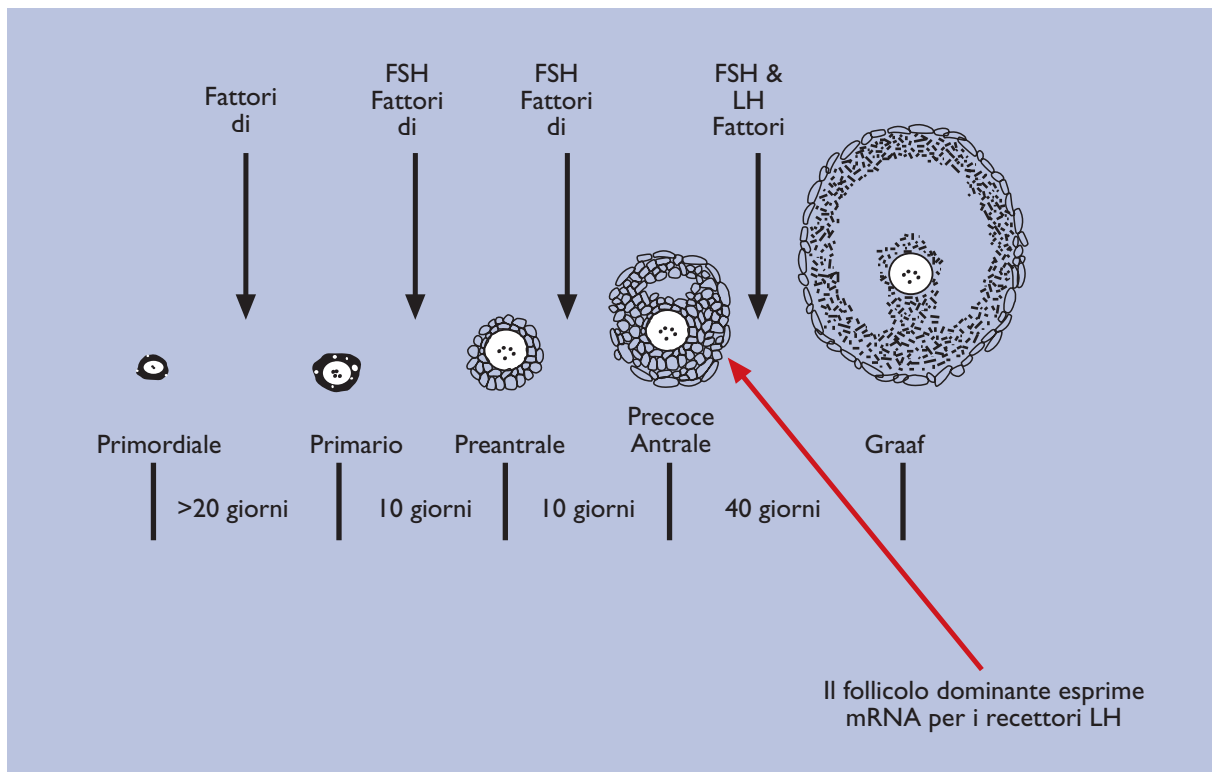


Figura 3. La follicologenesi nel bovino.

compagna il follicolo dominante all'ovulazione è l'LH. La vita dell'FD dipende dall'attività pulsatile dell'LH, mentre l'FSH, supportato dall'LH, è coinvolto nella crescita dei follicoli di diametro inferiore ai 4 mm. Un'adeguata attività pulsatile dell'LH è fondamentale per mantenere le competenze ovulatorie dei follicoli di grandi dimensioni (>9 mm), proprio quando diminuisce la secrezione di FSH. L'esposizione ad adeguate concentrazioni di FSH, per almeno 48 ore, è un punto critico per la selezione dell'FD. L'FSH induce la secrezione di estradiolo da parte delle cellule della granulosa per un aumento dell'espressione dell'mRNA del P450 aromatasi. Alcuni fattori locali, come il TGFβ, l'FGF e le citochine sono coinvolti nella crescita follicolare. Per predisporre iniziative d'intervento è fondamentale comprendere il ruolo che l'IGF-1 e l'insulina rivestono nella stimolazione da parte delle cellule della granulosa sulla produzione di estradiolo e, quindi, sulla secrezione di elevate quantità di LH. Dopo il parto, le concentrazioni degli estrogeni e del progesterone scendono a livello basale, stimolando un immediato aumento dell'FSH. Nella prima settimana, si può avere la prima ondata follicolare, caratterizzata da 3-5 follicoli di 4-6 mm, riscontrabili 10-14 giorni dopo il parto. Appena diminuisce la concentrazione ematica di FSH, avviene la selezione del follicolo destinato a diventare dominante (può avvenire anche 7-10 giorni dopo il parto). Questo processo stimola una nuo-

va ondata follicolare. In generale, il destino dei follicoli dominanti dipende dalla loro abilità/possibilità di produrre adeguate quantità d'estradiolo. Questo condiziona la produzione di sufficienti quantità di LH. La concentrazione di progesterone è il principale fattore in grado di influenzare negativamente l'attività pulsatile dell'LH. L'ampiezza della secrezione di questo ormone è condizionata anche da altri fattori. La presenza del vitello e, quindi, gli stimoli visivi e la suzione dei capezzoli, inibiscono la secrezione di LH, così come un BCS inferiore a 2,5, il NEBAL e i parti in determinate stagioni dell'anno. Esiste una correlazione tra LH e alcuni eventi patologici quantificabili come *odds ratio* (OR), vale a dire come rischio. Un'evidente diminuzione del BCS ha un OR pari a 10,9-18,7, la chetosi clinica pari a 11,3, la distocia 3 e gli scoli vaginali anomali 4,5 (figure 3 e 4).

LA NUTRIZIONE E IL MANAGEMENT

Tra i fattori che maggiormente condizionano la RAODP, la nutrizione gioca un ruolo di primo piano. È ben noto che soprattutto nel primo mese di lattazione, ma spesso anche nelle settimane successive, la bovina non riesce a soddisfare i fabbisogni nutritivi. Questo *status* metabolico viene definito "bilancio energetico negativo" (NEBAL), la cui durata ed estensione dipendono da numero-

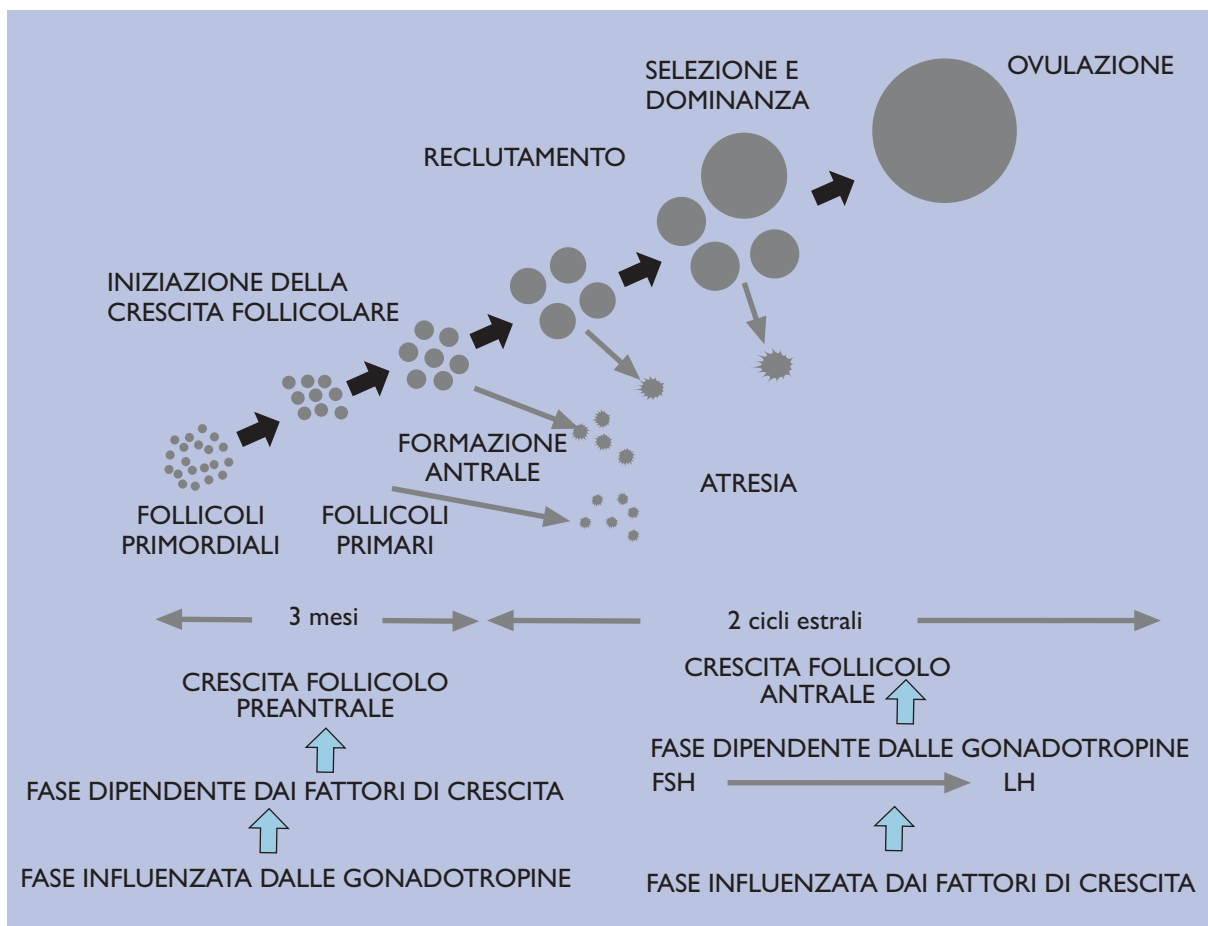


Figura 4. La crescita follicolare.

si fattori. È ovvio che le bovine ad alto potenziale genetico (HMG) corrono rischi maggiori rispetto alle bovine a basso potenziale genetico (LMG). Prima di entrare nel dettaglio, è necessario conoscere come la nutrizione può influenzare lo sviluppo dei follicoli. Le variazioni nutrizionali limitate nel tempo influenzano il reclutamento dei piccoli follicoli (1-4 mm) della fase antrale, senza influenzare la concentrazione di FSH, di per sé poco influenzabile dalla nutrizione. Tuttavia, la dieta è in grado di condizionare sensibilmente il tasso di crescita e le dimensioni del follicolo ovulatorio. Esiste anche un legame tra la dieta e lo sviluppo delle competenze dell'ovocita. È stato osservato che il GH non influenza direttamente la concentrazione di FSH, ma indirettamente, attraverso l'insulina e l'IGF-1.

Insulina

Come descritto in precedenza, dopo il parto si verifica un declino fisiologico dell'IGF-1 e dell'insulina circolanti. Molti studi dimostrano che il livello di insulina è tendenzialmente più basso negli animali ad alto potenziale genetico, in ogni stadio della lattazione. Tale declino si manifesta negli animali

più produttivi o con un vistoso picco di lattazione, magari molto anticipato. Di converso, il GH tende a innalzarsi in questo periodo. La concentrazione ematica di insulina risente molto dei bruschi cambiamenti della dieta. È importante ricordare che l'insulina consente l'utilizzazione del glucosio a livello dei tessuti, ad eccezione di alcuni, come il parenchima mammario. I fabbisogni di glucosio sono molto elevati nella bovina. Il cervello e in particolare l'ipotalamo sono molto sensibili alla glicemia, al punto di condizionare il rilascio del GnRH, con un'azione molto marcata sulla produzione di LH, ormone importante per la fase finale di maturazione del follicolo dominante e la sua ovulazione. Fisiologicamente esistono profonde variazioni diurne nella sua concentrazione. Durante il ciclo estrale si osservano significativi aumenti durante il periodo pre-ovulatorio. Questa variazione sembrerebbe essere indotta dagli estrogeni, che sono in grado di stimolare l'espressione dell'mRNA per l'insulina sia la sua secrezione dal pancreas. L'insulina è in grado di modulare il diametro del follicolo dominante e il tasso d'ovulazione. Le cellule della granulosa sono dipendenti dall'insulina. Diete approntate per stimolare la produzione di insulina stimolano

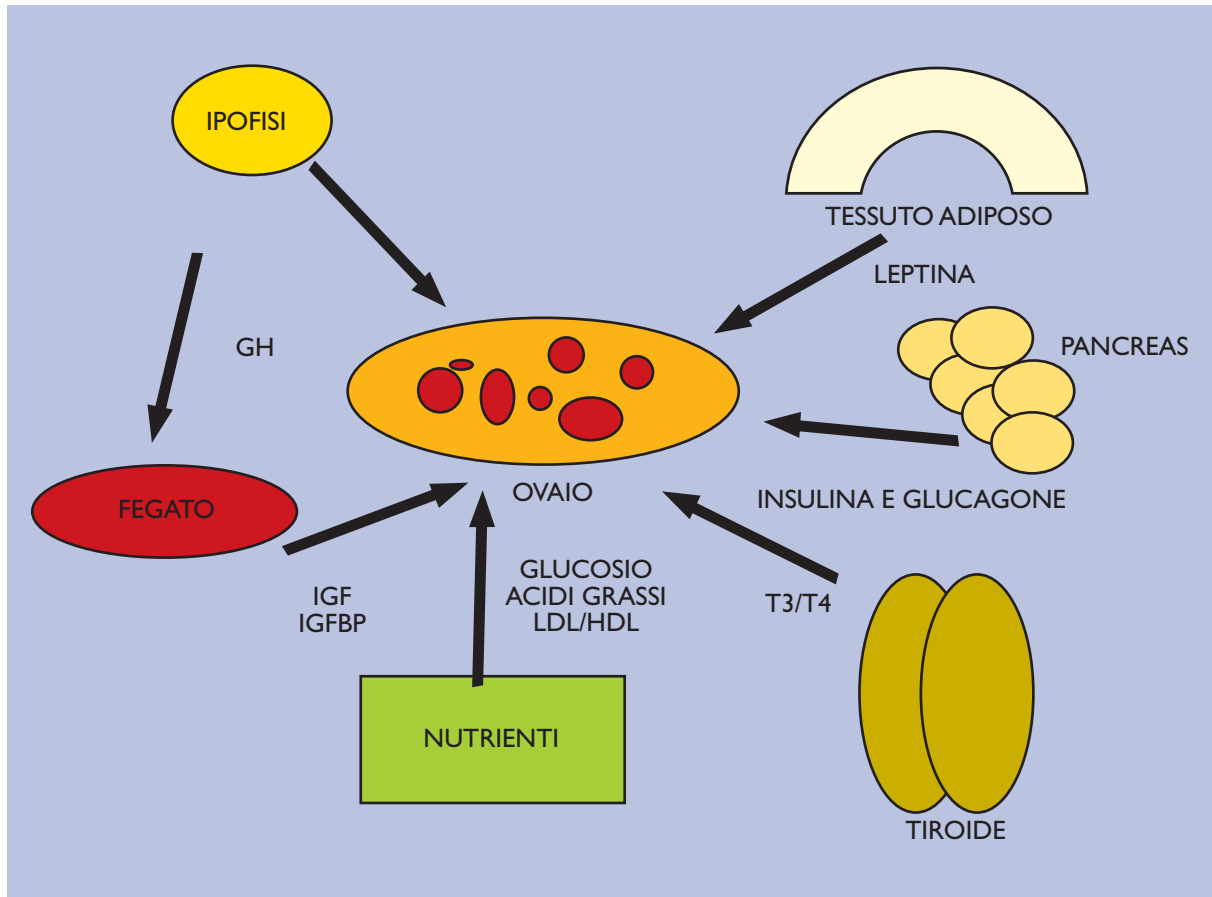


Figura 5. Influenza dei fattori metabolici sulle funzioni ovariche.

indirettamente la produzione d'estradiolo da parte delle cellule della granulosa

IGF-1

Il fegato è la fonte principale di IGF-1, la cui secrezione è condizionata sensibilmente dal GH. Anche l'insulina esercita il medesimo effetto. Come abbiamo già visto la restrizione alimentare e il *post partum* influenzano negativamente la concentrazione di IGF-1 circolante, mentre gli estrogeni, positivamente correlati all'insulina, stimolano sia il GH sia l'IGF-1. La biodisponibilità dell'IGF-1 e il suo tasso di *clearance* dal siero è in funzione dell'IGFBP (*Insulin-Like Growth Factor Binding Proteins*), a sua volta legato alla nutrizione. L'IGF system amplifica la risposta all'FSH delle cellule della granulosa dei piccoli follicoli antrali.

Leptina

La concentrazione ematica della leptina, ormone secreto dagli adipociti del tessuto adiposo, è legata allo stato di ingrassamento della vacca da latte e al livello alimentare delle bovine non in lattazione. La leptina inibisce *in vitro* la produzione d'estradiolo e l'azione dell'insulina sulla steroidogenesi (figura 5).

IL BILANCIO ENERGETICO NEGATIVO (NEBAL)

È fondamentale analizzare i fattori che possono condizionare l'inevitabile NEBAL del *post partum*. Il condizionamento può influire sull'entità e la durata e può iniziare già nelle fasi che precedono il parto. Abbiamo visto che l'armonico sviluppo del follicolo, dalla fase primaria fino all'ovulazione, è influenzato dai fattori di crescita e, successivamente, dalle gonadotropine. Il passaggio dalla fase primordiale a quella antrale richiede diverso tempo, anche alcuni mesi. È evidente che una ripresa precoce dell'attività ovarica, fortemente correlata al tasso di successo al primo calore dopo il "periodo volontario d'attesa", è influenzata da fattori nutrizionali, sanitari e manageriali, che possono presentarsi fin dall'asciutta. Dal punto di vista metabolico e ormonale, la fase d'asciutta di una bovina da latte pluripara o gli ultimi due mesi di gravidanza di una manza, sono un periodo molto delicato. Le variazioni nell'assetto ormonale e metabolico delle bovine HMG sono presenti anche in queste fasi del ciclo produttivo delle vacche da latte. Pertanto, per cercare di anticipare il più pos-

sibile la ripresa dell'attività ovarica è necessario concentrare l'attenzione sui principi nutrizionali e manageriali di questo periodo. Questa fase dura in genere 60 giorni, come riportato in numerose pubblicazioni. Dal report edito periodicamente dal *National Animal Health Monitoring System (NAHMS)* dello *United State Department of Agriculture (USDA)* e relativo a un censimento condotto sull'85% degli allevamenti statunitensi, si evince che la durata di questo periodo è effettivamente di 60 giorni. Diversi gruppi di ricerca, soprattutto statunitensi, stanno valutando la possibilità di modificare questo paradigma, per ridurre il periodo a 45 giorni. Le motivazioni fisiologiche che impongono questa interruzione volontaria della produzione di latte sono essenzialmente sanitarie, ma sempre finalizzate alla produttività della lattazione successiva. L'asciutta ha essenzialmente lo scopo di consentire alla mammella il risanamento batteriologico dai patogeni acquisiti nella lattazione precedente e consentire al fegato di alleviare il livello di lipidosi conseguito durante il NEBAL dell'inizio della lattazione precedente o nel corso di altri episodi patologici. Si sta cercando di raggiungere questi obiettivi con un regime alimentare in grado di assicurare i fabbisogni per il mantenimento e la gravidanza e, nell'ultimo periodo, la ricostruzione del parenchima mammario. I nutrizionisti più attenti non dimenticano che, in questa fase, le manze, le primipare e le secondipare hanno la necessità di crescere. Molto importante è il fatto che, soprattutto nelle ultime settimane di lattazione, se la razione lo consente, la bovina costruisce scorte di glucosio (soprattutto glicogeno epatico) e proteine labili, da utilizzare dopo il parto per la gluconeogenesi. Le bovine seguono un criterio di ripartizione dei nutrienti assunti con la dieta che vede, ovviamente, non prioritaria la fertilità della successiva lattazione. Sommando i fabbisogni di mantenimento, gestazione, crescita, ricostruzione del parenchima mammario, ricostruzione delle riserve corporee ecc., è evidente che la razione per l'asciutta nella fase centrale deve necessariamente apportare almeno un chilogrammo di proteine (ottimale 1.200 g) e non meno di 14 mcaldie di energia netta, per avere un po' di risorse in più per garantire un'armonica crescita dei follicoli. La situazione si complica nelle ultime tre settimane di gestazione, periodo classificato di *close-up* o prima fase della transizione, per una riduzione fisiologica dell'ingestione, comunque condizionata dalle tecniche d'allevamento e dalla nutrizione. A fronte di una riduzione della capacità di ingestione dovuta a fattori meccanici (ingombro addominale dell'utero gravido), a profonde modificazioni ormonali e a una maggiore suscettibilità agli stress, è necessario garantire gli apporti nutritivi giornalieri raccomandati. I follicoli pre-

sentì in questa fase si trovano, mediamente, a 30-40 giorni dall'auspicata ripresa dell'attività ovarica. Nelle ultime due settimane di gestazione, la capacità di ingestione si riduce ulteriormente e si instaurano molte delle malattie metaboliche diagnosticabili nel *post partum* o la predisposizione ad esse. Tutti questi eventi sono sicuramente in grado di influenzare negativamente la ripresa dell'attività ovarica. Gli errori prima del parto possono condizionare sensibilmente l'entità del NEBAL nel *post partum*. Con il dosaggio dei NEFA e del BHBA nel preparto, è infatti frequente osservare che un numero piuttosto elevato di bovine va incontro a dimagrimento e chetosi già prima del parto, con conseguenze nefaste sulla fertilità della lattazione successiva. Le curve di previsione dell'ingestione e della produzione nel periodo del picco di lattazione sono in discrepanza. Infatti, a fronte di un repentino aumento della produzione che culmina in un picco a 40-50 giorni, la capacità di ingestione dopo il parto aumenta molto lentamente, costringendo le bovine a ricorrere alle riserve corporee glucidiche, proteiche e lipidiche e a generare così lo status di NEBAL. In termini di riserve, in genere si esaurisce prima il glicogeno, poi le proteine labili e infine i lipidi. La bovina moderna, in particolare le HGM, considerano primaria e ineludibile la produzione di latte nel primo terzo di lattazione. Gli impedimenti nel conseguimento del picco programmato dal loro potenziale genetico sono solo d'ordine sanitario. I sistemi ormonali coinvolti nella ripresa dell'attività dopo il parto e, più in generale, nella fertilità possono essere fortemente influenzati da questa situazione. Questo quadro già critico può essere aggravato dalle patologie metaboliche acquisite nella fase di transizione, ossia tre settimane prima e tre settimane dopo il parto. Prima di affrontare le strategie utili a mitigare gli effetti negativi che il NEBAL può avere sulla ripresa dell'attività ovarica, è necessario quantificare il danno apportabile dalle singole malattie metaboliche o dallo loro azione sinergica. Nei gravi deficit energetici *post partum*, è stata osservata una riduzione del 46% dell'espressione dell'mRNA del recettore per l'insulina e una riduzione di quello per il GH. Un'attenta profilassi di queste patologie ha come primo risultato una riduzione dell'ingestione meno marcata nel *close-up* e nel puerperio e, quindi, la possibilità di apportare i nutrienti atti a mitigare l'inevitabile NEBAL del *post partum*. In diagnostica veterinaria e, più precisamente, nella diagnostica basata sulla rilevazione dei fattori di rischio legati a una non ottimale ripresa della RAODP, è necessario introdurre dei metodi oggettivi di valutazione del NEBAL. Quello più diffuso è il punteggio dello stato di nutrizione della vacca da latte, denominato *Body Condition Score (BCS)*. La scala più usata è quella proposta da Ed-

TABELLA 1. CORRELAZIONE DI PEARSON DEI PARAMETRI EMATICI E DEL LATTE CON IL BILANCIO ENERGETICO TRA LA PRIMA E LA DECIMA SETTIMANA DOPO IL PARTO

Parametro	r	P
Metaboliti ematici		
NEFA	-0,685	<0,001
Glucosio	0,465	<0,001
BHBA	-0,451	<0,001
Colesterolo	0,406	<0,001
Creatinina	-0,415	<0,001
Urea	0,259	<0,001
Albumina	0,137	<0,001
Ormoni ematici		
Tiroxina	0,418	<0,001
IGF-I	0,320	<0,001
3,5,-Triiodotironina	0,270	<0,001
Insulina	0,230	<0,001
GH	-0,217	<0,001
Leptina	-0,027	0,437
Enzimi ematici		
Lattato deidrogenasi	-0,199	<0,001
Aspartato amino transferasi	-0,154	<0,001
Glutammato deidrogenasi	-0,114	<0,001
Latte		
Rapporto grasso/lattosio	-0,589	<0,001
Grasso	-0,565	<0,001
Rapporto grasso/proteina	-0,496	<0,001
Acetone	-0,410	<0,001
Lattosio	0,363	<0,001
Proteina	-0,185	<0,001
Urea	0,103	0,002

monson nel 1989, che prevede l'assegnazione di un punteggio compreso tra 1 e 5, con valori intermedi di un quarto di punto. È preferibile condurre l'esame su animali contenuti, per poterli osservare lateralmente e posteriormente e, se necessario, per palpare alcuni punti anatomici. Si deve verificare la quantità di grasso sulla groppa e a livello di ischi e ilei, nonché il grado di copertura delle apofisi trasverse delle vertebre lombari. In una scala così ampia, è utile restringere il campo di rilevazione con punteggi da 2,50 a 4,00. Al di sopra e al di sotto di questi valori non è necessario dettagliare ulteriormente. Inoltre, si deve affinare la capacità di valutazione in funzione dei target, ossia i valori ideali di BCS per un ottimo andamento riproduttivo. Un animale magro (2,50) presenta ischi con cuscinetti adiposi solo sulle punte, gli ilei spigolosi e la depressione delle apofisi trasverse delle vertebre lombari evidente per meno della metà. Con un punteggio pari a 3,50, con-

siderato ideale per una pluripara al momento dell'asciutta e al parto (in questo periodo è sconsigliabile il dimagrimento), è possibile distinguere chiaramente il legamento sacro-iliaco, mentre quello sacro-ischiatico risulta appena percettibile.

Guardando l'animale lateralmente, se il BCS è superiore a 3,25, tra le tuberosità iliaca ed ischiatica si osserva una U aperta, mentre se è inferiore a 3,00, si osserva una V. In una bovina con punteggio pari a 4,00 (bovina grassa a rischio di cheto-lipidosi e, quindi, potenzialmente subfertile), tra le tuberosità ischiatica e iliaca passa una linea rettilinea, le apofisi trasverse sono appena visibili e gli ilei poco evidenti. Ogni punto BCS corrisponde a oltre 50 kg di peso corporeo. Si considera ideale avere pluripare al parto con BCS pari a 3,50 e primipare con 0,25 punti in più. La perdita di stato di nutrizione dopo il parto non dovrebbe essere superiore a 0,50 punti e non deve avvenire in meno di 5 settimane. Più è repentino il dimagrimento dopo il parto, maggiore è la possibilità che si verifichino chetosi e conseguenti lipidosi epatiche. Le bovine grasse al parto hanno maggior probabilità di contrarre queste malattie metaboliche e quindi di ritardare la RAODP. Esiste una correlazione tra BCS e vacche trovate non ovulatorie a 70 giorni dopo il parto. Il BCS andrebbe pertanto raccolto per tutte le bovine alla messa in asciutta e al parto, per verificare se esistono pericolose fluttuazioni dello stato di nutrizione. Un'altra valutazione può coincidere con la prima o la seconda visita ginecologica dopo il parto e quindi a 30-40 giorni, per verificare l'entità della perdita di grasso corporeo dei singoli soggetti o del gruppo. Vale anche qui la regola che, se la perdita di BCS in questi archi temporali supera il punteggio di 0,50 in più del 15% dei soggetti, esiste un problema comune nella gestione o nella nutrizione. Per valutare il NEBAL e la sua gravità, prima e dopo il parto, esistono altri strumenti. Il più efficace e preciso, anche se costoso, è la biochimica clinica. Si considerano normali valori di NEFA <0,4 mmol/l per le bovine in *close-up* e <0,7 mmol/l per le bovine in lattazione (tabella 1). Molto più empirica, ma sicuramente poco costosa, è la verifica del rapporto grasso/proteina del latte del primo controllo funzionale, cioè intorno al primo mese di lattazione. Un rapporto >1,5 è espressione di un'intensa lipomobilizzazione e quindi di NEBAL. La "prepotenza" della mammella fa sì che i NEFA in eccesso rispetto alla capacità del fegato di utilizzarli siano incorporati nel grasso del latte, innalzandone il valore oltre il 5,5%. Esiste una correlazione negativa (-0,36 e -0,74) tra rapporto grasso/proteina e bilancio energetico (tabella 2). In uno studio presentato da Hewer, si evidenzia come il cut-off della percentuale di grasso del latte a inizio lattazione è già pari al 4,8%, quello della proteina è <2,9% e quello del lattosio <4,5%.

TABELLA 2. SENSITIVITÀ E SPECIFICITÀ DI TEST DEL LATTE, BCS, CORPI CHETONICI NEL LATTE E METABOLITI EMATICI PER DIAGNOSTICARE IL BILANCIO ENERGETICO NEGATIVO

	Cut-off	N°	NEBAL Sensibilità/specificità (%)	
			Inferiore al 10%	Superiore al 25%
Grasso%	>4,8	771	39/87	28/89
Proteina%	<2,9	771	17/85	18/86
Lattosio%	<4,5	771	27/87	22/88
Rapporto grasso/proteine	>1,4	771	66/68	61/73
	>1,5	771	51/87	41/91
	>1,6	771	29/96	19/98
	>100	726	29/91	24/93
	>200	726	14/98	10/99
	Doubtful+pos	733	31/94	24/97
	Cleary pos	733	18/98	12/99
BCS	≥3,5	759	23/77	23/77
BHBA mmol/l	>1,0	376	28/93	19/96
	>1,2	376	25/97	14/98

Vacche (72) nel periodo tra la seconda e la dodicesima settimana *post partum*, misurate settimanalmente per 9-11 volte.

LE MALATTIE METABOLICHE

Chetosi

Per chetosi o acetonemia si intende un anomalo innalzamento dei corpi chetonici nei fluidi corporei e nei tessuti, vale a dire acido acetoacetico (AcAc), acetone (Ac) e β-idrossibutirrato (BHBA). La chetosi clinica può manifestarsi in allevamento con anoressia, depressione, chetonemia, chetonuria, corpi chetonici nel latte, ipoglicemia e bassa produzione. La forma subclinica può rappresentare il problema più grande perché un non intervento terapeutico può causare un aggravio del NEBAL. Si stima un'incidenza in allevamento, per la forma clinica, del 9-35%, nei primi due mesi di lattazione, e del 2-15% per quella subclinica. Negli allevamenti dove la gestione del *close-up* e del puerperio non è ottimale, il picco di incidenza può essere anticipato alle prime due settimane di lattazione. Sono state descritte tre forme di chetosi. La prima è la cosiddetta "chetosi da denutrizione", che può essere dovuta a un mancato apporto di nutrienti o a un apporto di nutrienti insufficiente per bilanciare le perdite coincidenti con il picco di lattazione (circostanza più frequente). La chetosi alimentare derivante dall'ingestione di insulati inquinati da acido butirrico, amine biogene e intossicazioni varie, è rara. Pertanto, la forma più frequente nei primi due mesi di lattazione è quella subclinica da denutrizione (relativa). In ogni caso, è possibile rilevare chetosi spontanee e transitorie durante il picco di lattazione, causate da una marcata e continua captazione di glucosio dalla mammelle accompagnata da cali di ingestione anche transitori.

Negli ultimi anni sono sempre più frequenti i casi di chetosi subclinica nel *close-up*, causate da eccessivi cali di ingestione o erronei razionamenti. Nella diagnostica della chetosi subclinica si ricorre al dosaggio del BHBA. Esistono due soglie di rischio o cut-off. Nel *close-up* si considera accettabile un valore di BHBA sierico <6 mg/dl (0,6 mmol/l) e in lattazione <10 mg/dl (1 mmol/l). Un animale in lattazione si considera in chetosi subclinica quando il BHBA è >14,4 mg/dl. Se in allevamento più del 10% degli animali manifestano un simile valore, la chetosi è una patologia d'allevamento. La causa di questa grave malattia metabolica risiede proprio nel NEBAL. A fronte di un incremento della richiesta di glucosio, che può avvenire già nella fase di transizione, la bovina ricorre alle proprie riserve corporee. Esaurendo rapidamente le scorte (glicogeno e proteine labili), che si spera siano state ricostituite in asciutta, la bovina è costretta a ricorrere alle riserve lipidiche, con conseguente immissione in circolo di acidi grassi non esterificati (NEFA). I NEFA captati dalle cellule epatiche sono indirizzati nel mitocondrio, dove potrebbero essere ossidati per produrre energia (ATP). Ricordiamo che due molecole di acetyl-coA producono 24 molecole di ATP. Ingressi imponenti di NEFA nei mitocondri o carenze di metaboliti derivanti dai carboidrati, come l'acido ossalacetico, possono impedire l'uso di tutte le molecole di acetyl-coA nel ciclo di Krebs. La combinazione di due molecole di acetyl-coA porta alla formazione di acetoacetyl-CoA e, attraverso una serie di tappe intermedie, di BHBA e AcAc; queste molecole, riversate nel sangue, sono i fattori che por-

tano alla manifestazione clinica della malattia. Per la stessa causa (intenso dimagrimento e imponente ingresso di NEFA nella cellula epatica), può saturarsi la capacità dell'enzima carnitina-aciltransferasi, che consente il trasporto dei NEFA nei mitocondri, e quindi i NEFA si accumulano nel citoplasma dell'epatocita. Questo fatto provoca, in presenza di glicerolo, l'esterificazione degli acidi grassi in trigliceridi (causa di lipidosi epatica). Quindi, la chetosi, sia clinica sia subclinica, rappresenta la malattia metabolica che più impatta sulla ripresa dell'attività ovarica della vacca da latte. La riduzione di ingestione che deriva dal calo della "vivacità comportamentale" della vacca nelle fasi di sviluppo dei follicoli, può esasperare il NEBAL. L'accumulo di trigliceridi nella cellula epatica può avere numerose cause: erronei piani alimentari o di gestione in asciutta possono causare dimagrimento e quindi innalzamento dei NEFA circolanti. È possibile osservare dimagrimenti già nel *close-up*, per la ridotta capacità di ingestione da cause fisiologiche (riduzione del volume ruminale, stress derivante dal riassetto ormonale in preparazione del parto) o alimentari (razione non concentrata od uso di alimenti o additivi poco appetibili). Dopo il parto e soprattutto nel puerperio, l'incremento di ingestione avviene molto più lentamente rispetto all'incremento produttivo, per ragioni fisiologiche o errori di gestione. Dopo il parto, alcune patologie (metriti puerperali, acidosi ruminale subclinica - spesso contratta in *close-up* per razioni troppo "esuberanti" o scarsa durata di questa fase), contribuiscono alla fisiologica riduzione dell'ingestione. In breve, tutti i fattori che concorrono a peggiorare il già fisiologico calo di ingestione, tipico della *transition cow*, sono alla base dell'aumento dei NEFA circolanti e, quindi, del rischio di chetosi e, col tempo, di lipidosi epatica.

Lipidosi epatica

I ripetuti episodi di NEBAL e, quindi, di lipomobilizzazione, aumentano il rischio di lipidosi epatica (accumulo epatico di trigliceridi). Si parla di lipidosi quando la quantità di lipidi epatici supera l'1% del totale (1-5%: lieve; 5-10%: media gravità; >10%: grave). Questa classificazione si basa su un prelievo bioptico epatico o sulle osservazioni *post mortem*. La lipidosi insorge per eccesso d'entrata di NEFA nel fegato, per saturazione dell'ingresso nel mitocondrio, ma anche per saturazione della capacità di trasferimento dei trigliceridi dal fegato al sangue (VLDL). Le lipoproteine sono le molecole che, formandosi nell'epatocita, consentono l'*export* dei trigliceridi verso il sangue. Le diete molto ricche di carboidrati, carenti di aminoacidi e le endossine possono amplificare la gravità della lipidosi. La chetosi e l'acidosi ruminale non hanno un impatto negativo diretto sulla RAODP, ma indiretto, tramite il peggioramento del NEBAL nel *close-up* e all'inizio della lattazione. L'impatto del NEBAL e di altri fatto-

ri possono causare lipidosi epatica, che sicuramente gioca un ruolo molto più evidente sulla RAODP e la fertilità. Queste patologie possono intaccare le funzioni epatiche correlate direttamente o indirettamente alla fertilità. L'insulina stimola la capacità di sintesi delle lipoproteine (VLDL). Alcune funzioni metaboliche degli epatociti, come la gluconeogenesi, la capacità di sintesi dell'urea (neutralizzazione degli effetti tossici dell'ammoniaca ruminale e metabolica) possono essere compromesse. Molto importanti sono le correlazioni tra lipidosi e sistema ormonale. Esiste una forte correlazione negativa tra questa patologia e la sintesi di IGF-1 e la *clearance* dell'insulina, così come tra lo stato di salute del fegato e la capacità di sintesi del colesterolo, molecola importante nella vacca da latte per la sintesi degli ormoni steroidei (estrogeni e progesterone). Non va dimenticato che nella vacca da latte tutto il colesterolo ematico deriva dalla capacità di sintesi epatica, tanto da essere usato come parametro di valutazione della sua funzionalità (il colesterolo non è presente nei vegetali). La lipidosi epatica è anche coinvolta negativamente con la sintesi dell'albumina. La lipidosi epatica è correlata positivamente all'attività immunitaria e ad altre patologie, come la dislocazione dell'abomaso, la chetosi, la ritenzione placentare, la metrite, la mastite, le laminiti e la *milk fever*. In tema di *performances* riproduttive, in caso di lipidosi epatica, si alterano la RAODP, la prima ovulazione, il primo calore, il tasso di gravidanza, il numero di fecondazioni per gravidanza e l'intervallo parto-concepimento.

Infezioni uterine

Le infezioni uterine possono alterare la RAODP agendo a livello di secrezione di GnRH e LH. Nelle prime tre settimane dopo il parto, l'alta concentrazione di prostaglandine derivanti dalle infezioni uterine, può prolungare l'anaestro *post partum*.

GENETICA

È noto che i parametri riproduttivi e quindi la fertilità hanno una bassa ereditabilità, per cui tutti i programmi di selezione genetica sono destinati a un lento e quasi impercettibile miglioramento di questo carattere. Nei piani di selezione delle principali razze da latte sono stati inseriti caratteri non necessariamente riproduttivi, ma sicuramente correlati all'interparto. Tra tutti gli aspetti riproduttivi, l'intervallo di inizio dell'attività luteinica dopo il parto (inCLA) è quello a più alta ereditabilità ($h^2 = 0,16-0,23$). È stato osservato che un aumento dell'inCLA dell'1,7% (0,43 giorni) comporta l'incremento di un giorno di interparto. Esistono una serie di correlazioni positive, interessanti anche ai fini selettivi, tra inCLA e interparto (0,36). Ai fini selettivi, ma solo esclusivamente zootecni-

ci e veterinari, inCLA e BCS sono correlati negativamente (0,84). Vacche geneticamente “magre” hanno un allungamento dell’inCLA. Per ogni aumento di un punto di BCS nella scala 1-9, l’inCLA diminuisce del 22,4%, percentuale che corrisponde a circa 6 giorni. Sono invece positivamente correlati l’inCLA e il grasso del latte (0,33-0,69) e il picco produttivo a 56 giorni (0,36). Per misurare l’inCLA, l’esame più efficace e più costoso è la determinazione del progesterone ematico. Un livello $>0,3$ ng/ml esprime una ripresa della ciclicità dell’ovaio. Anche se intrinsecamente ricca di soggettività, la rilevazione attraverso la palpazione trans-rettale della presenza di formazioni come follicoli o corpi lutei potrebbe fornire uno strumento utile ai genetisti per la selezione dei caratteri riproduttivi.

CONCLUSIONI

La RAODP è l’evento riproduttivo maggiormente correlato alla fertilità della vacca da latte e quindi all’interparto. Le visite ginecologiche *post partum*, eventualmente supportate ecograficamente, sono di grande importanza per la datazione di questo evento e per intervenire farmacologicamente su bovine ancora in anaestro 50 giorni dopo il parto. Se pur importante l’intervento farmacologico sulle bovine problema, esso non potrà mai prescindere gli interventi nutrizionali e manageriali di profilassi, da utilizzare già nel periodo dell’asciutta. La RAODP può fortemente condizionare la fertilità a patto che sia puntualmente rilevata e, dai referti raccolti, si possano stabilire le fasi dello sviluppo follicolare a maggior rischio.