

Approccio pratico all'ipofertilità della scrofa: cause e soluzioni

Dinamica follicolare ed
ovulatoria: pensiero Italiano e
trasferimenti tecnologici

daniele.vigo@unimi.it

laboratorio di fisiologia veterinaria e
biotecnologie della riproduzione

Mantova 03 Marzo 2011



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO
Facoltà di Medicina Veterinaria



Polo di Lodi



**Azienda agraria G. G. Cavalchini
Borgo Adorno (AL)
Allevamento capre da latte**

Offerta formativa della Facoltà di Medicina Veterinaria

Medicina Veterinaria (5 anni)

Allevamento e benessere animale (3 anni)

Tecnologie delle Produzioni animali e Qualità dei Prodotti (3 anni)

Scienze e Tecnologie delle Produzioni Animali (Biennio
magistrale)

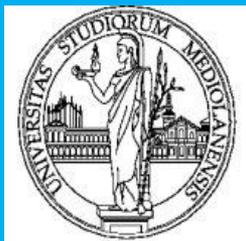
Biotecnologie Veterinarie (3 anni)

Scienze Biotecnologiche Veterinarie (Biennio magistrale)

Post Laurea

Gruppo di Ricerca

Milano



Castagna, Colombani,
Comi, Communod,
Faustini, Maffeo,
Morandotti, Munari,
Russo, Vigo

Medici Veterinari

Ballabio, Cerati,
Geroldi, Veronesi
G.M., De Rensis,
Tucci, Piscitelli



Allevatori

Arioli, Toninelli,
Mazzoleri, Zanotti



Pavia



Chimica
Farmaceutica
Chlapanidas,
Lucconi, Torre,
Villani

Imprese

Pfizer

Enti

MIUR, Regione
Lombardia,
Province MI e LO,
UOFAA

La riproduzione non è un evento che
riguarda solo l'apparato genitale
femminile

Strutture e meccanismi fisiologici coinvolti nella riproduzione

- SNC e neuroendocrinologia
- Omeostasi dell'organismo
- Endocrinologia e metabolismo
- Accrescimenti e composizione corporea
- Materiale seminale
- Lattazione

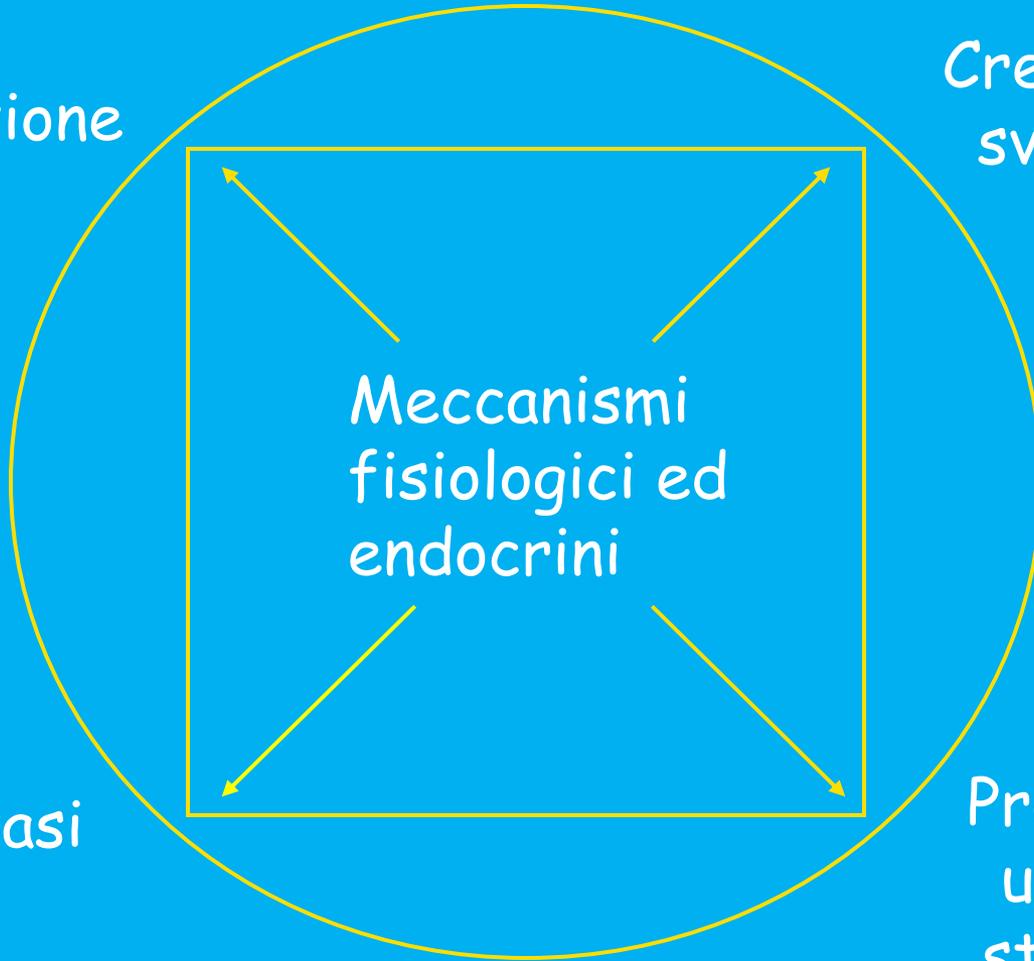
Riproduzione

Crescita e
sviluppo

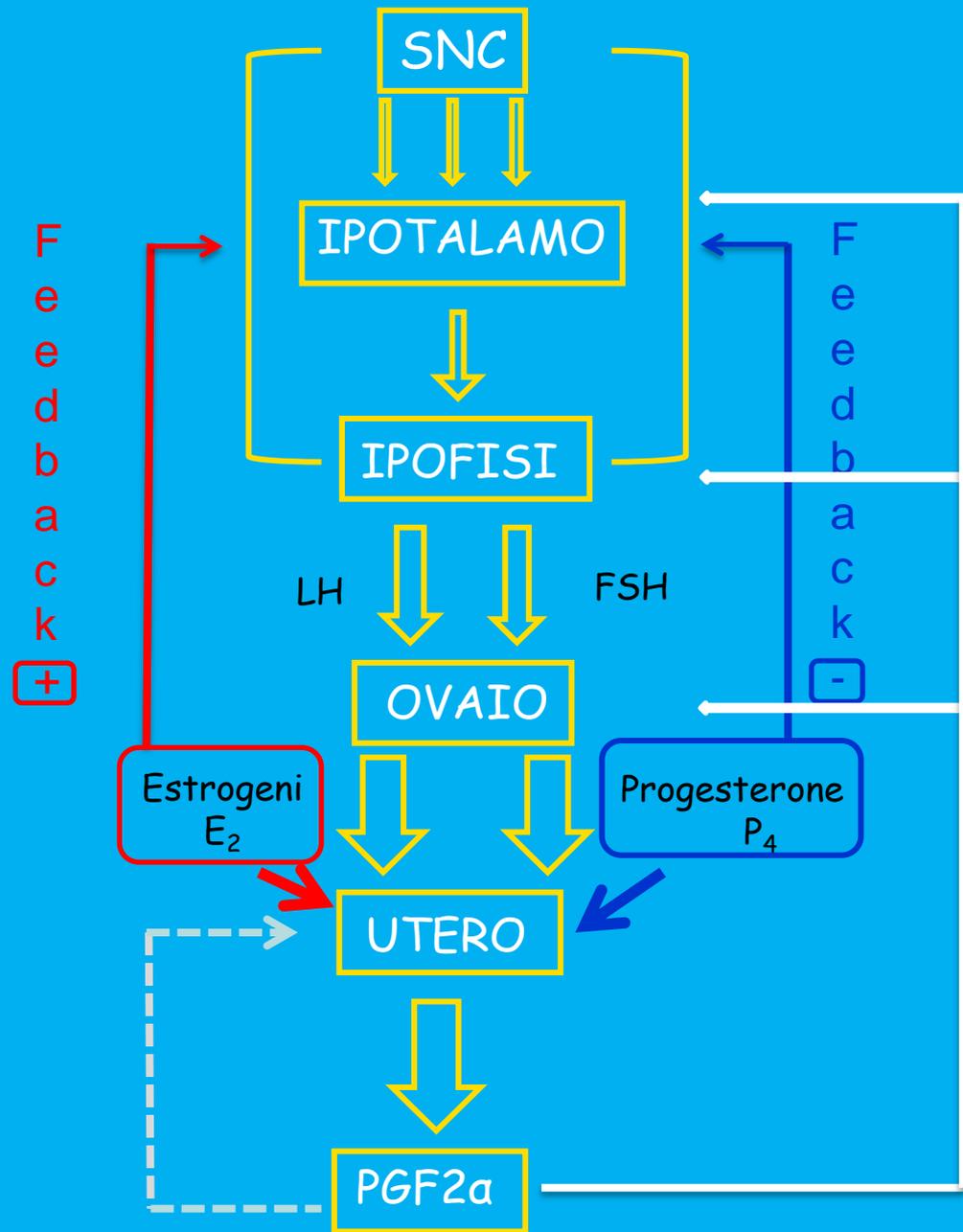
Meccanismi
fisiologici ed
endocrini

Omeostasi

Produzione,
utilizzo e
stoccaggio
dell'energia

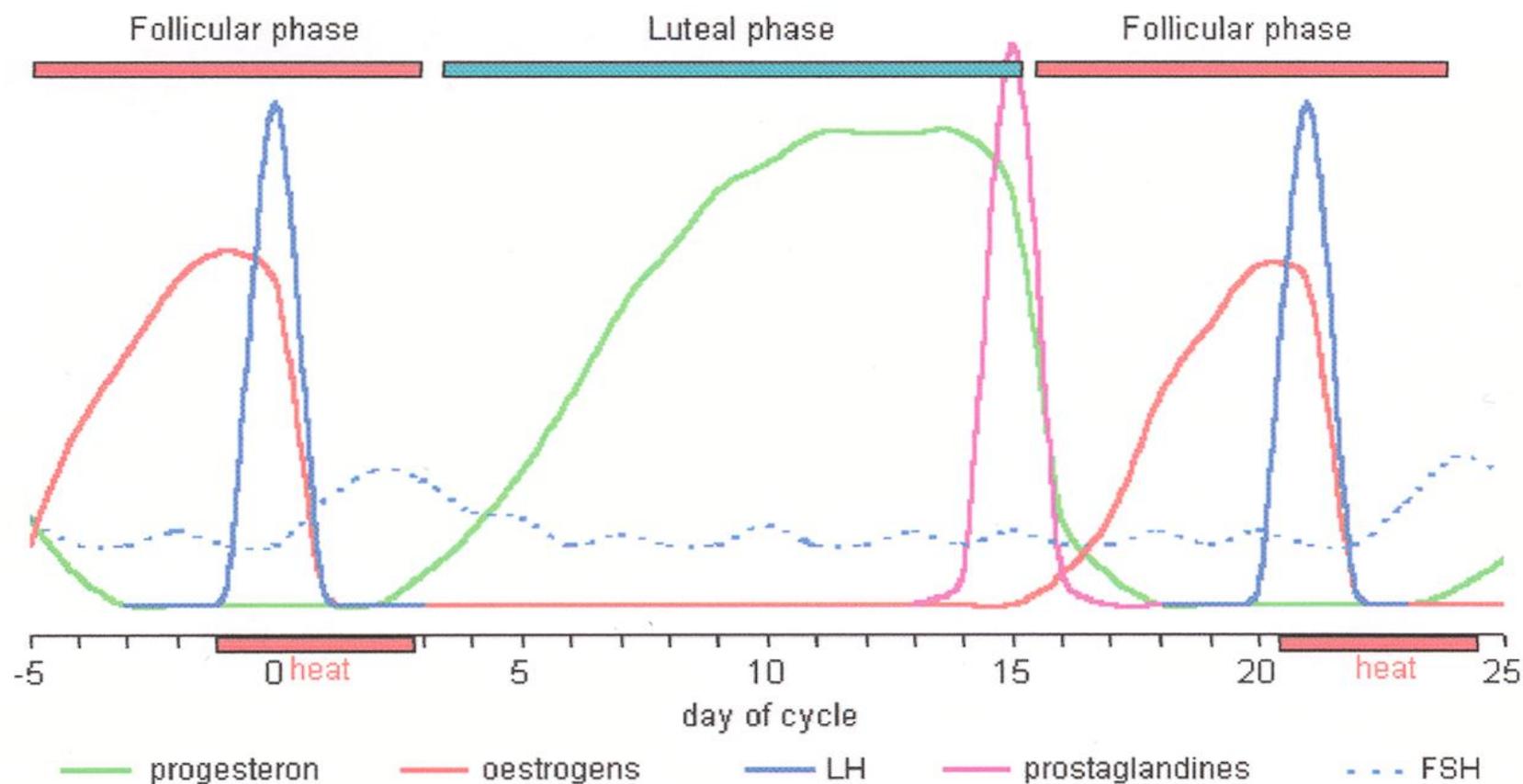


Asse riproduttivo regolazione ed principali attività endocrine



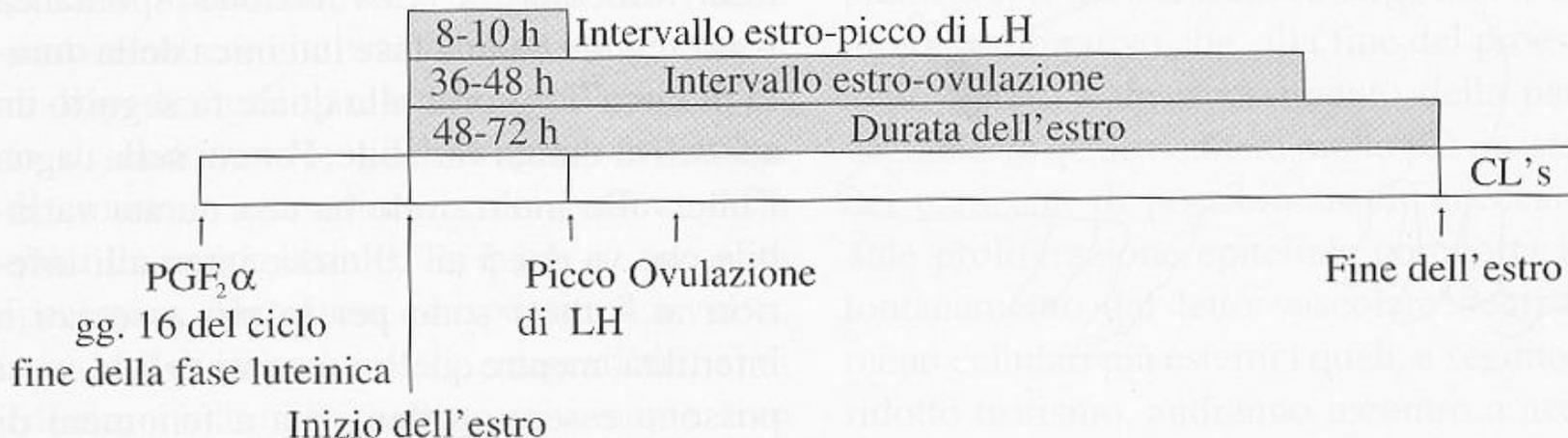
Effetti degli estrogeni sull'asse ipotalamo-ipofisi

Schematic representation of the female hormone cycle in pig



Ciclo estrale della scrofa

CARATTERISTICHE DEL CICLO ESTRALE DELLA SCROFA



Le caratteristiche del ciclo estrale della scrofa (modificato da De Rensis 2001).

Specie poliestrale annuale
Durata del ciclo: 21 gg (18-24)
Fase follicolare: 4-5 gg
Fase luteale: 16 gg

Durata dell'estro: 48 ore
Ovulazione:
38-42 ore dopo la fine dell'estro

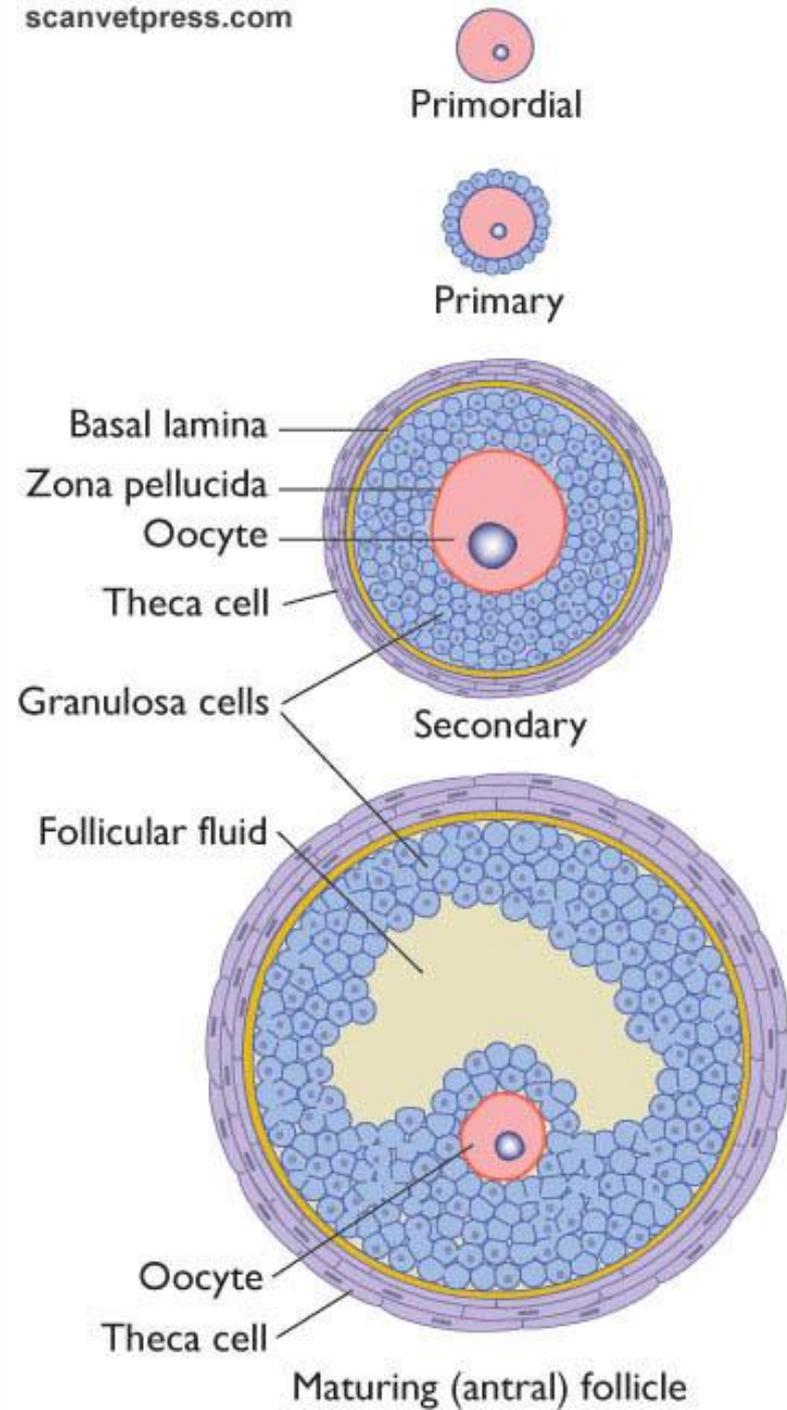
Sviluppo dei follicoli

primordiale: oogoni

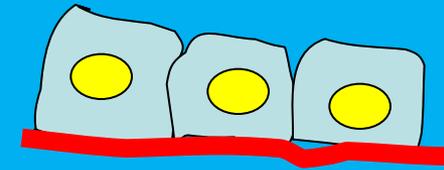
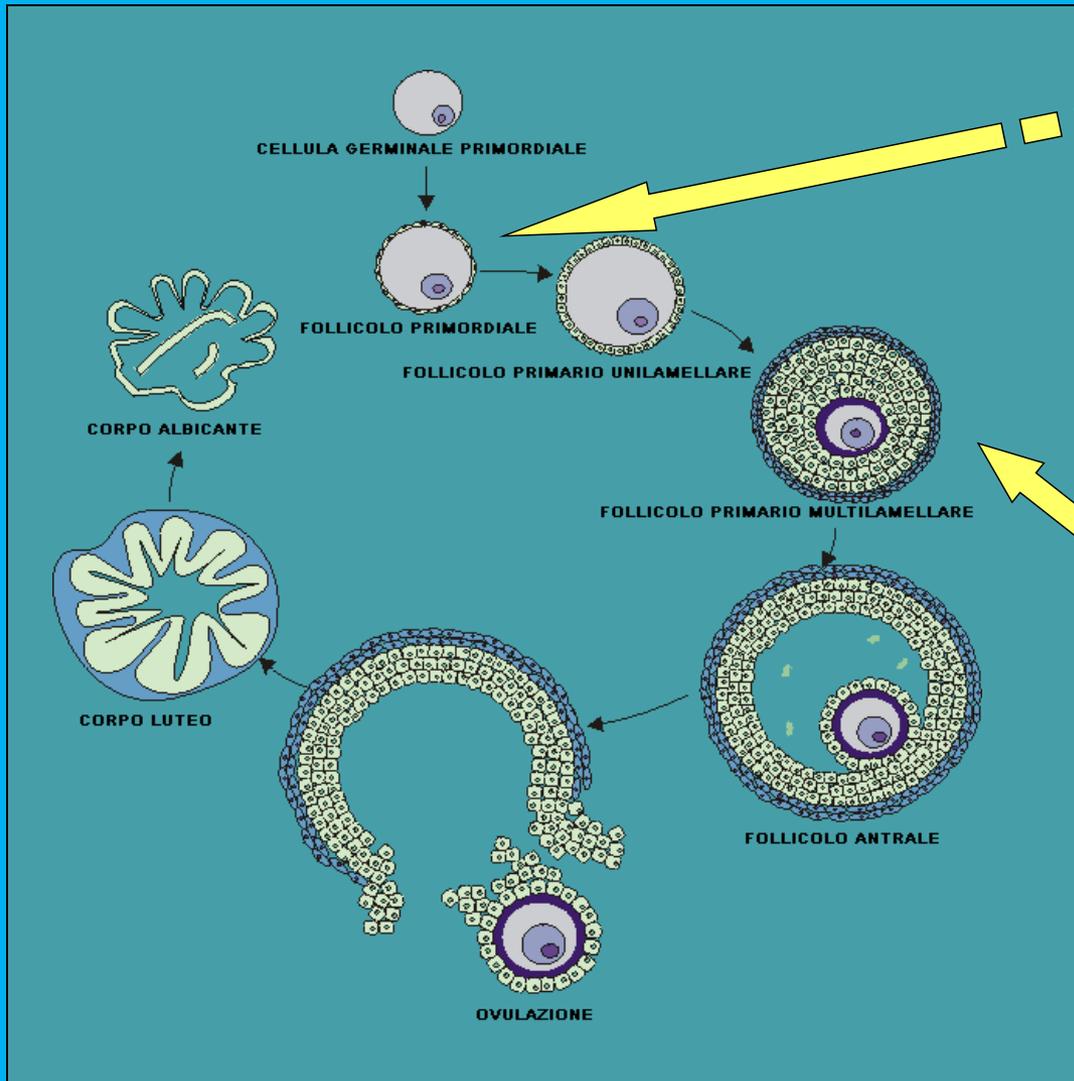
primario: oocita profase I°
divisione meiotica

secondario: proliferazione
cellule follicolari

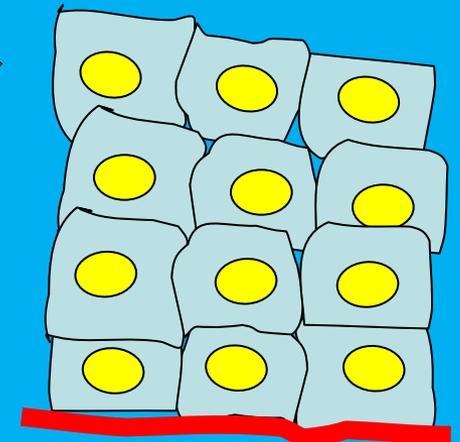
terziario: formazione fluido
follicolare



Evoluzione del follicolo di Graaf



PRIMORDIALE



PREANTRALE



Ovaio di scrofa con follicoli maturi.
Sack W, Wensing CJG, Dyce KM,
Textbook of Veterinary Anatomy, Saunders, 2002

Read more: <http://www.answers.com/topic/ovary#ixzz1EabCTISU>

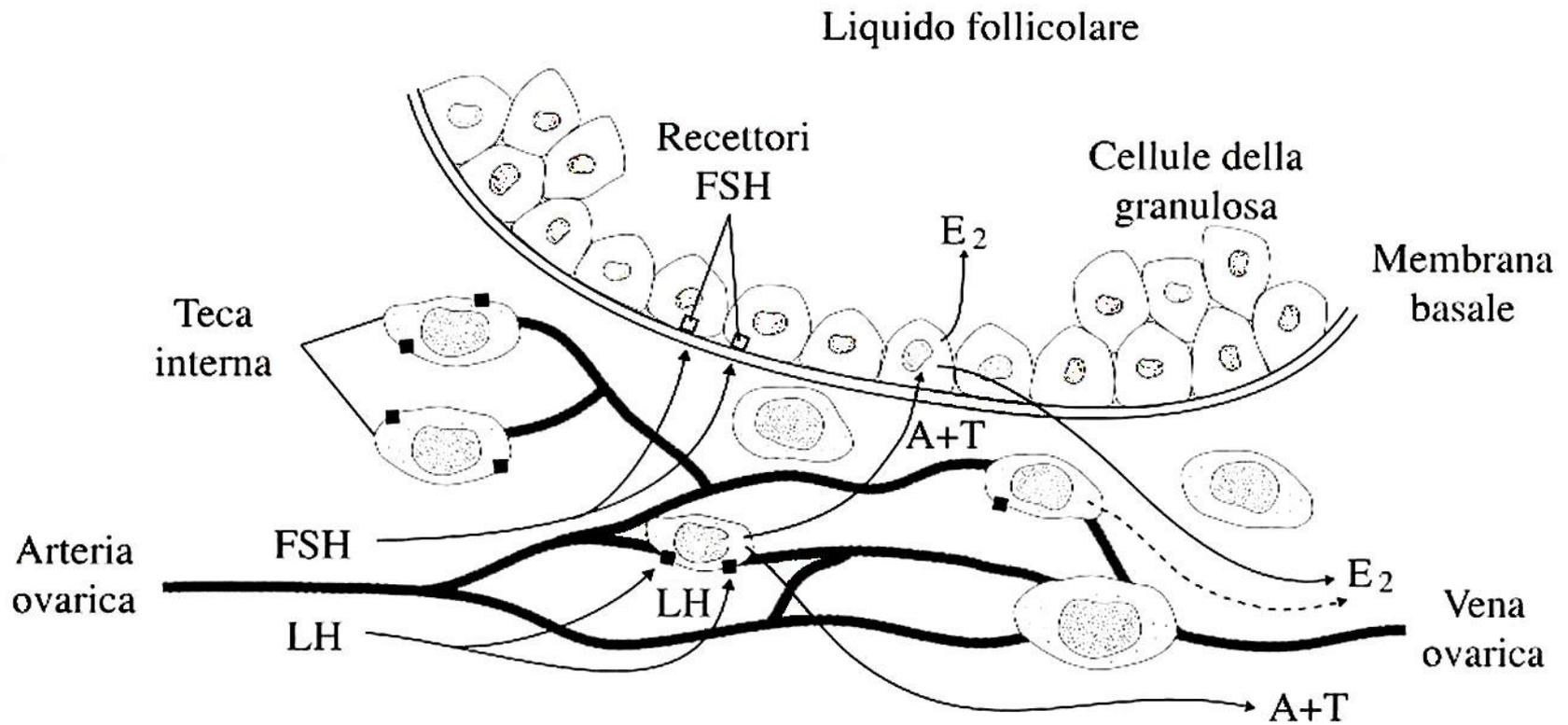


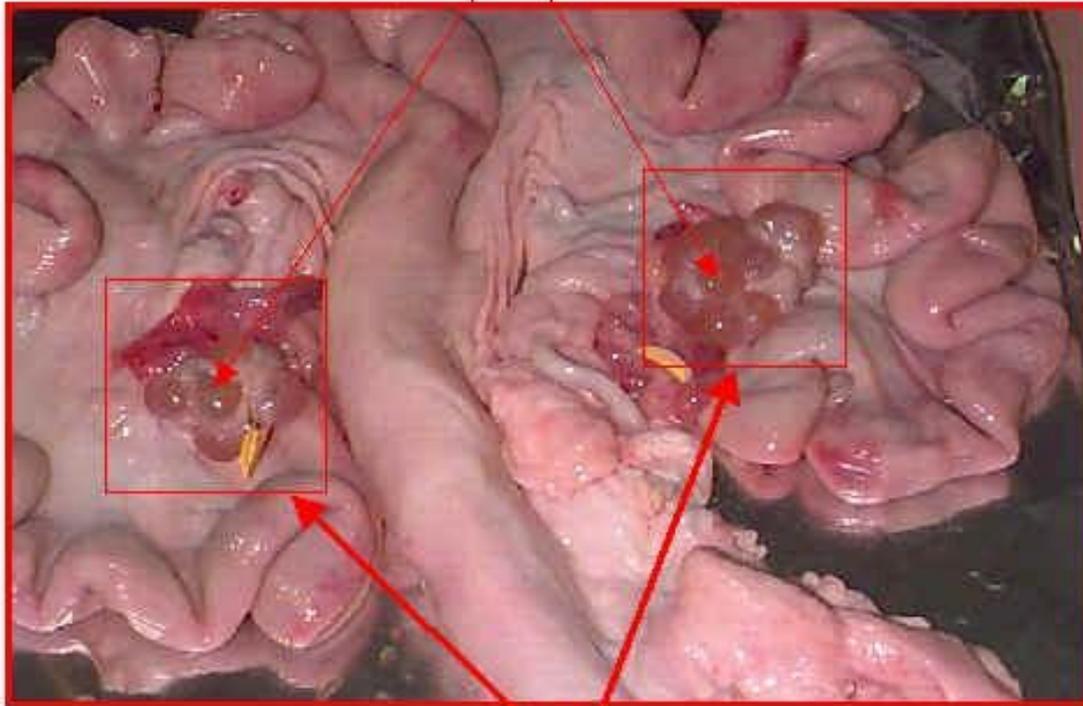
Diagramma dell'azione delle gonadotropine ipofisarie sul follicolo ovarico e la secrezione di estradiolo: teoria delle "due cellule due ormoni"

(modificato da De Rensis 2001)

Ricerche e prove tecniche applicative effettuate dal gruppo di ricerca per modulare la dinamica follicolare ed ovulatoria



Follicles



Ovaries

Ovaio 1

Ripristino dell'attività ciclica ovarica nella specie suina mediante PMSG

De Rensis et al. 1989 Selez. Vet. XXX, 1717

PMSG/ eCG -1200 UI i.m.

1. Il giorno successivo allo svezzamento
2. Scrofe in anestro da oltre 20 giorni

Risultati

Comparsa estro tra 3 e 5 giorni
Prolificità uguale a quella aziendale

Ovaio 2

Effetto della somministrazione di PMSG a diversi dosaggi in scrofe nel periodo estivo

Vigo et al. 1997 Studio della efficienza riproduttiva degli animali di interesse zootecnico - Bergamo 9° Meeting Nazionale - 51

Comparsa estro	Controllo	600 PMSG	800 PMSG
0-5 gg	52 (59,1%)	71 (75,5%)	78 (83,9%)
6-10 gg	20 (22,7%)	12 (12,8%)	9 (9,7%)
>10 gg	16 (18,2%)	11 (11,7%)	6 (6,4)
Totale	88	94	93
Svezzam./ Coperture	12,14 ±14,15 ^a	10,60±12,66	9,38±11,33 ^a
Gravidanza -	14 (16,9%)	10 (11,1%)	16 (18,2%)
Gravidanza +	69 (83,1%)	80 (88,9%)	72 (81,8%)
Nati	11,00±3,39 ^a	11,50±3,23 ^b	9,81±3,29 ^{ab}

Ovaio 3 (in lattazione)

Valutazione di alcuni parametri riproduttivi in scrofe in lattazione dopo stimolazione ovarica

Vigo et al. 1994 - SisVet XLVIII 373

	Gruppo A (8)	Gruppo B (15)	Gruppo C (5)
PMSG	12 gg	12 gg	12 gg
Anti PROLAT.	----	250mcg	500 mcg
HCG	15° gg	16° gg	16° gg
I.S.	24-36 h post	24-36 h post	24-36 h post
Parti	3	5	2
Nati	8,3	11,6	7,5

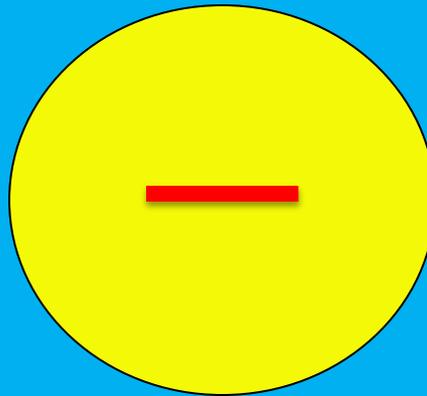
Ovaio 4

PGF_{2α} / i.m. una o più somministrazioni
anche a giorni alterni

1. Scrofette in anestro -
2. Scrofe in anestro -
3. Scrofe in lattazione -
4. Scrofette in svezzamento -
5. Scrofe in svezzamento -
6. Scrofette al parto ±
7. Scrofe al parto +++

Utero

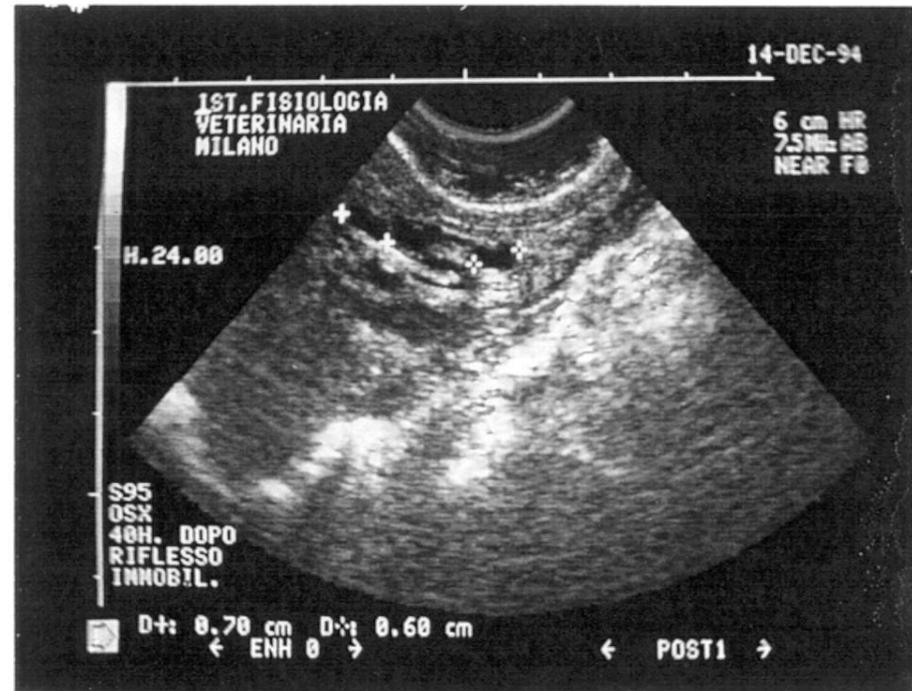
$PGF_{2\alpha}$ / i.m. una o più somministrazioni



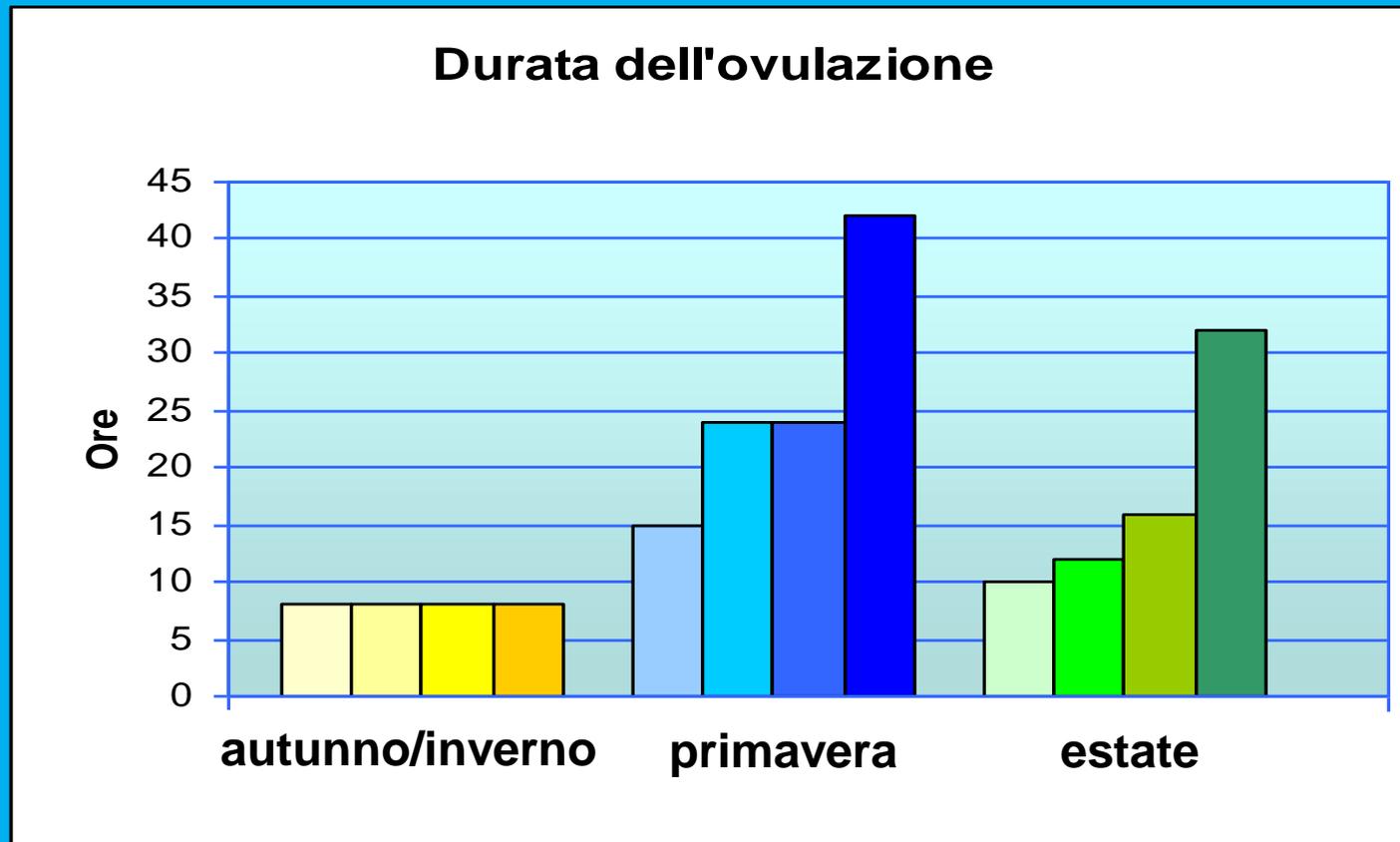
Dinamica follicolare

Le prime esperienze di ecografia trans rettale nella scrofa furono effettuate nel 1991

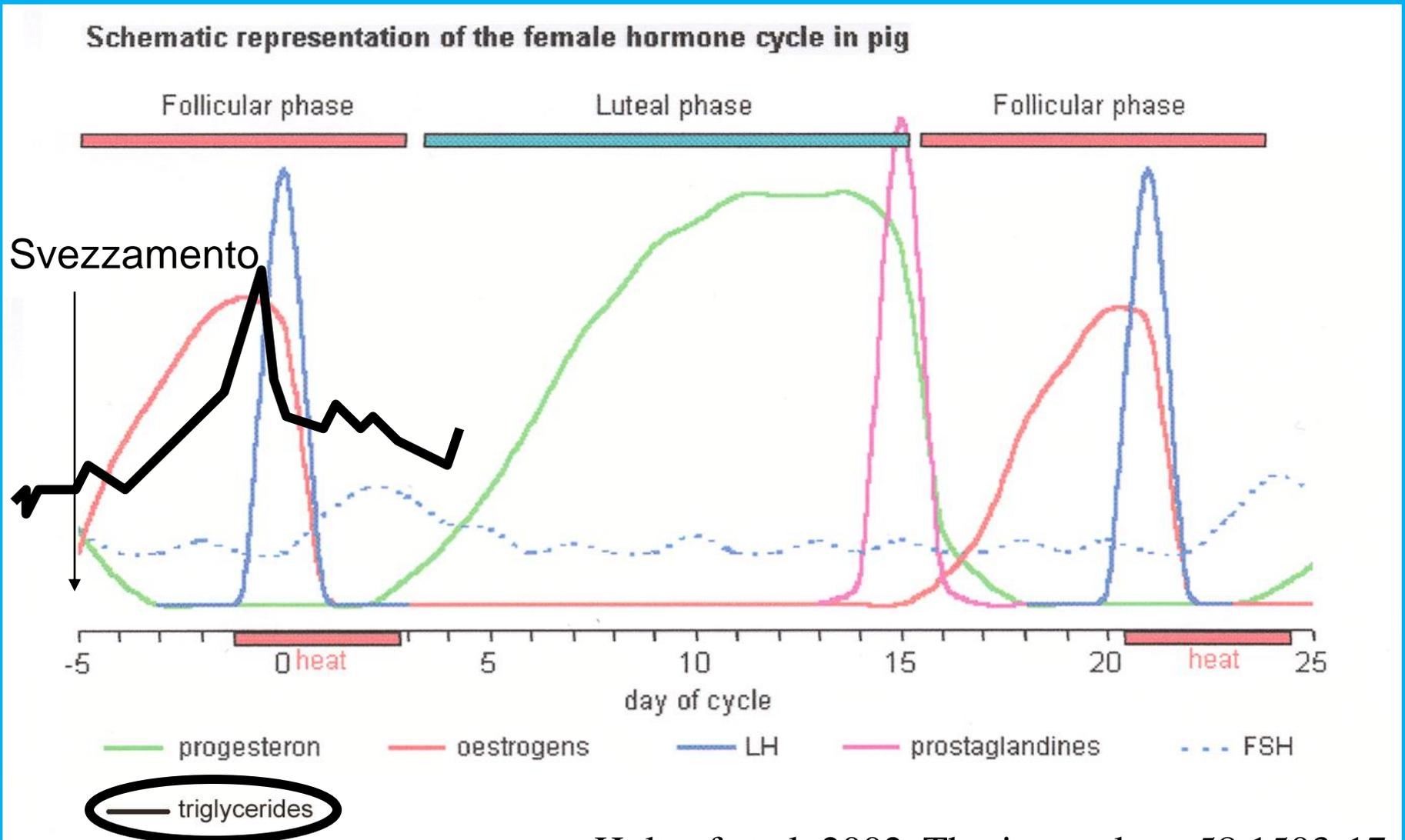
Vigo, et al.1992 Atti SIPAS, Selezione Veterinaria, XXXIII, 8, 873-876.



"Ovulation time" una difficile diagnosi routinaria in allevamento



Trigliceridi ed ovulazione





- Rilievo istantaneo dell'assetto ormonale
- Rilievo istantaneo dell'assetto metabolico
- Rilievo istantaneo dell'assetto di campo elettrico

In associazione

Rilievi clinici

Stimolazione del verro

Ecografia trans-addominale
trans-rettale
trans-vaginale

Utero

Bioteχνologie specifiche per
l'utero e materiale seminale

OTTIMIZZAZIONE I.S. NELLA SCROFA:
approccio difficoltoso

Ovulazione

```
graph TD; A[Ovulazione] --> B[Prolungata nel tempo]; A --> C[Lunghezza variabile: Inizio estro-ovulazione 48-80h (Belstra et al., 2004)]; B --> D[Necessità di un Reservoir di spermatozoi]; C --> D;
```

Prolungata nel tempo

Lunghezza variabile:
Inizio estro-ovulazione
48-80h (Belstra et al., 2004)

**Necessità di un
Reservoir di spermatozoi**

**OTTIMIZZAZIONE I.S. NELLA SCROFA:
approccio difficoltoso**

Danno agli spermatozoi per



**Congelamento
(shock da freddo)
↑ fragilità di membrana**

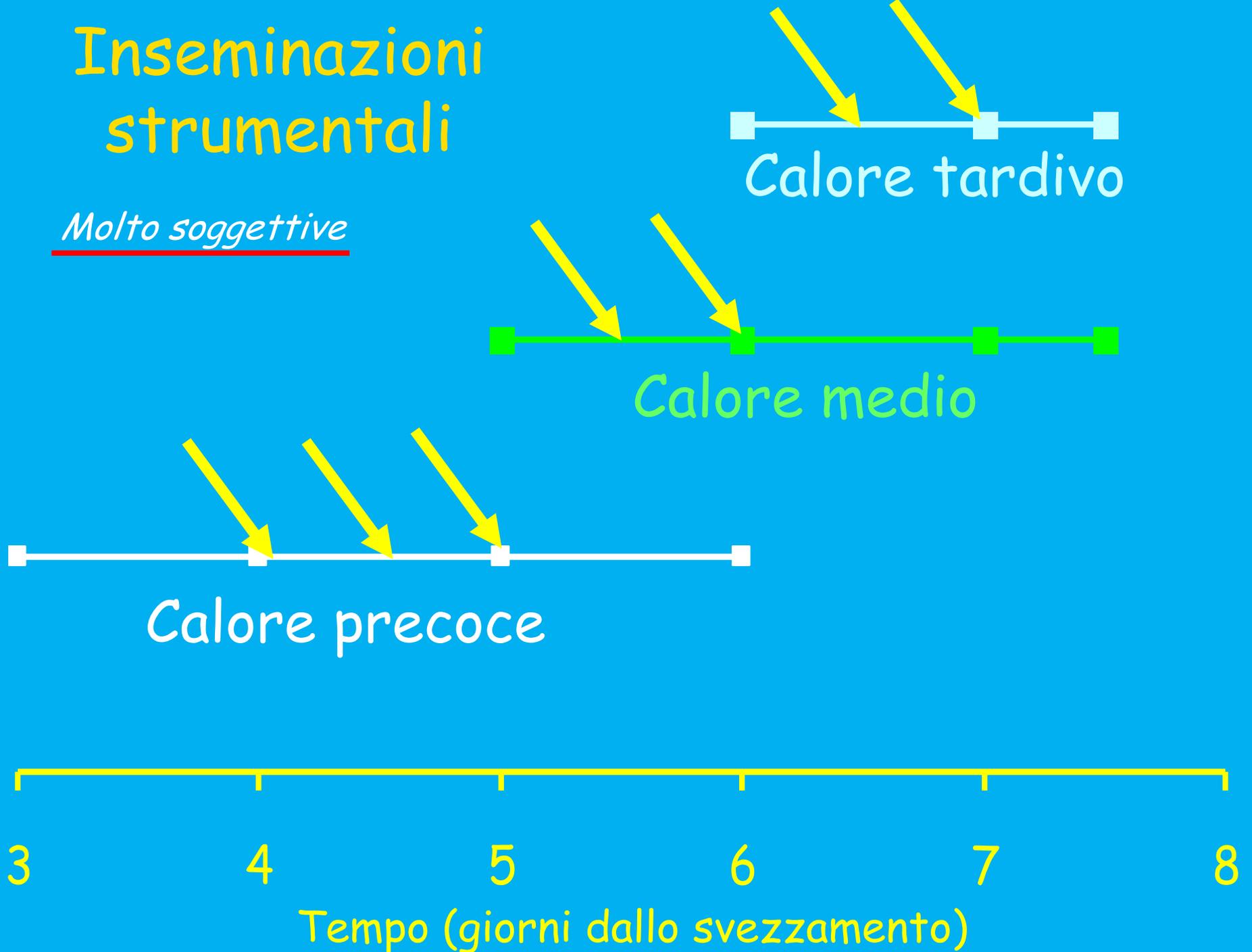
**Diluizione
(shock da diluizione)
↓ proteine protezione
↓ antiossidanti**



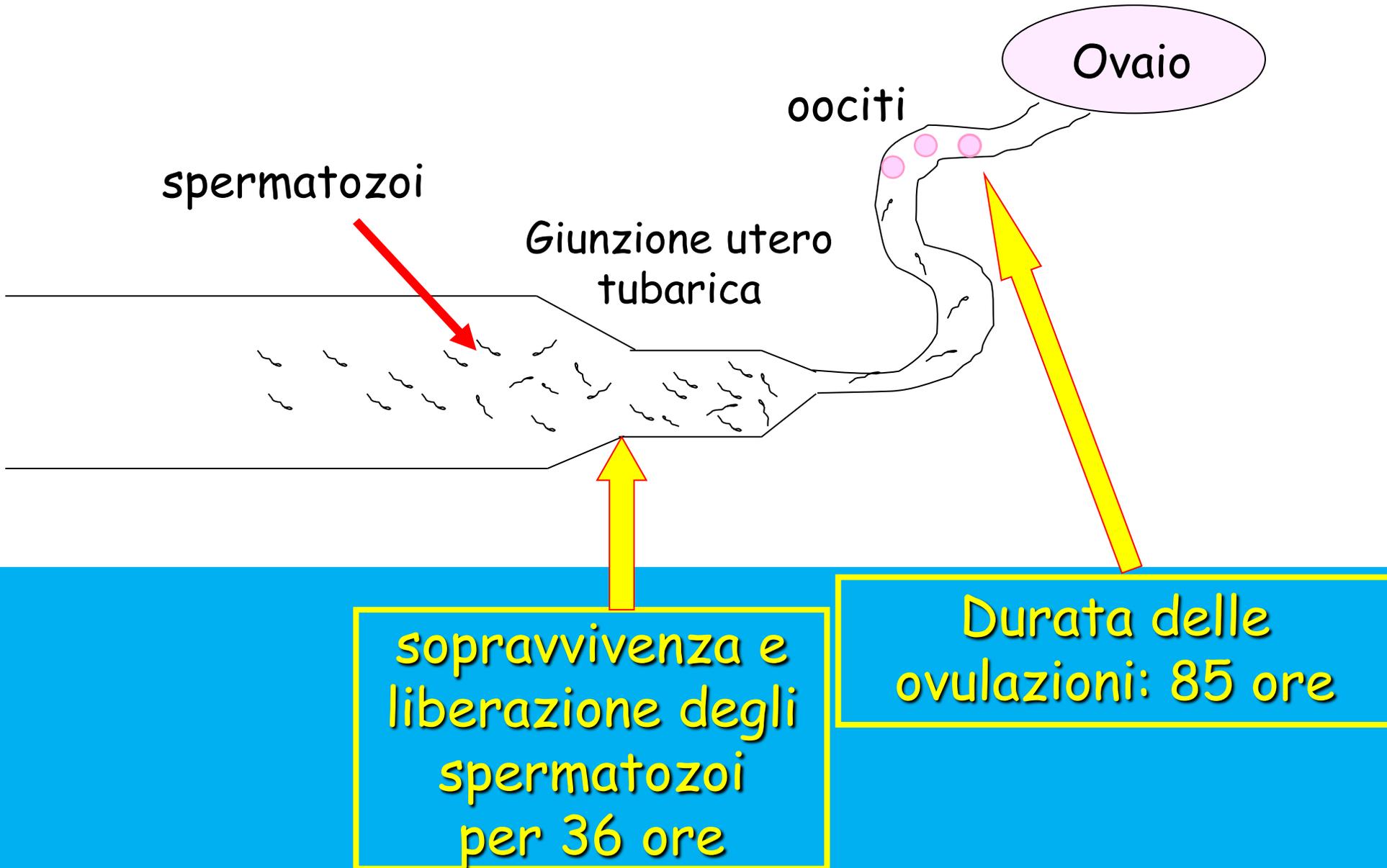
Ridotta sopravvivenza spermatozoi

Inseminazioni strumentali

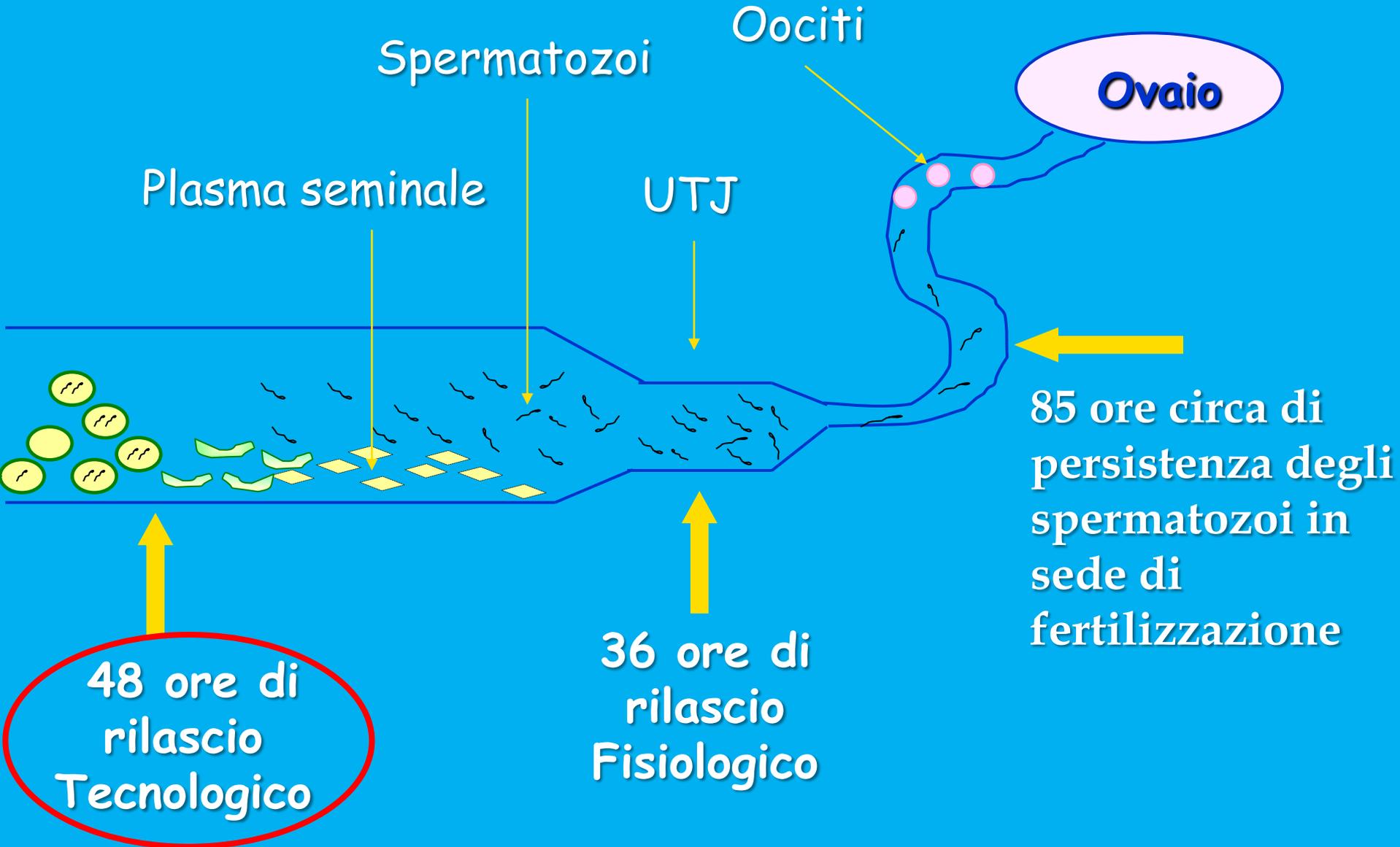
Molto soggettive



Fecondazione naturale e I.S. convenzionale



Finalità delle biotecnologie e nanotecnologie

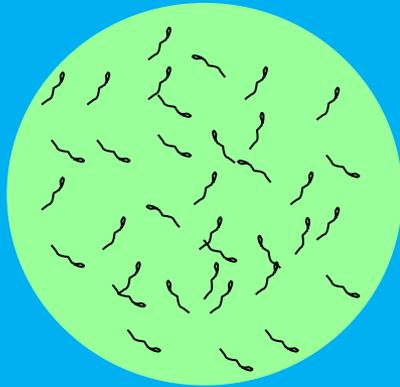


Nell'innovazione c'è sempre il rischio di essere secondi

Nebel et al. (1985) hanno ottenuto buoni risultati di fertilità con l'incapsulazione del seme bovino in alginato di calcio (rilascio controllato)



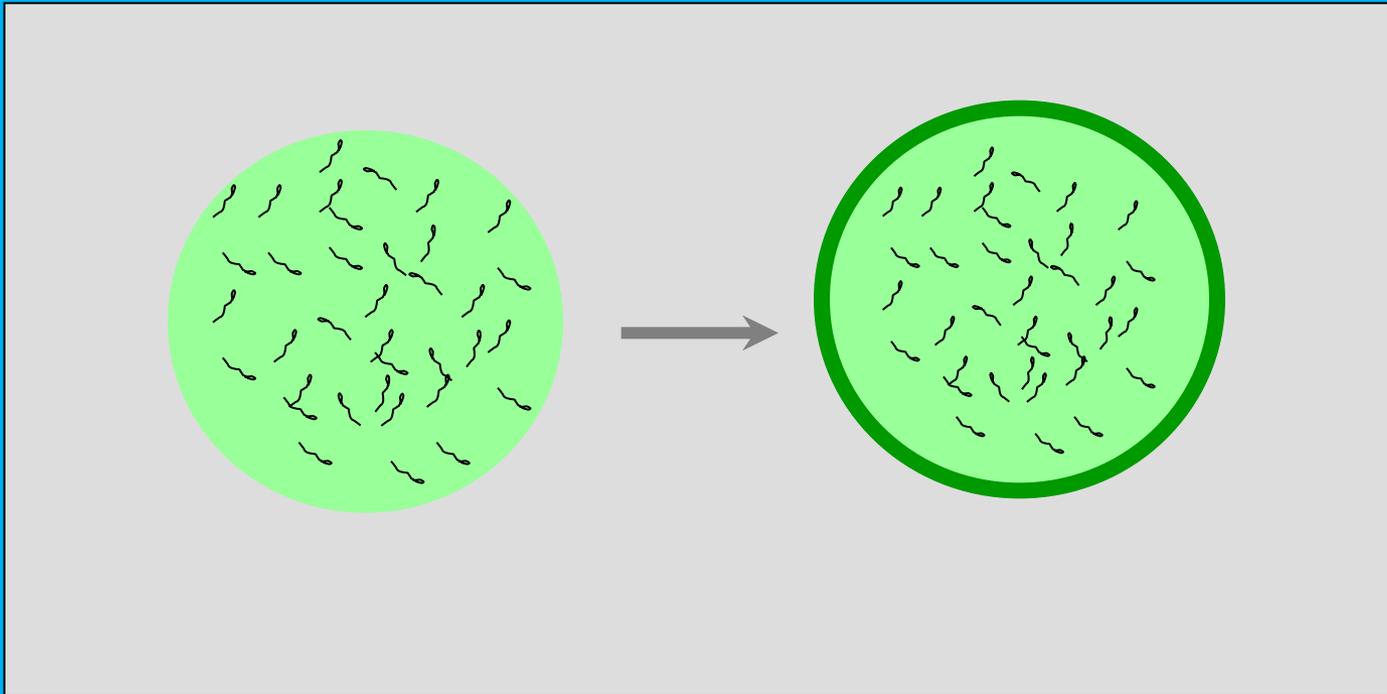
Spermatozoi diluiti
in extender
+
Alginato di sodio



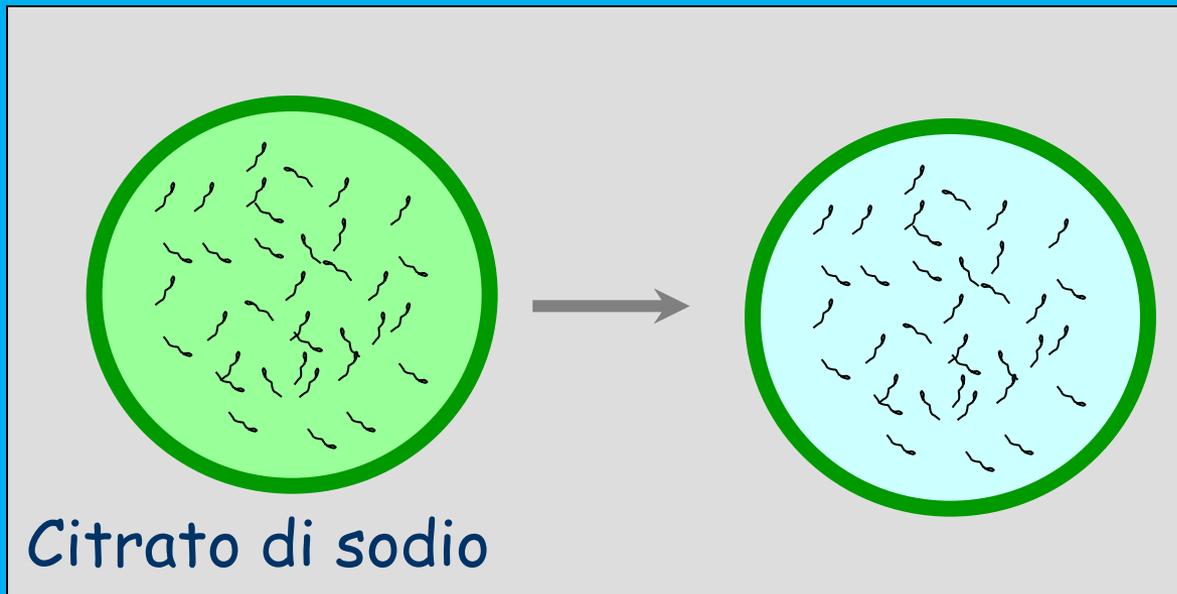
**Spermatozoi
immobilizzati in
matrice solida**



Reticolazione con poliammine



Dissoluzione della matrice solida

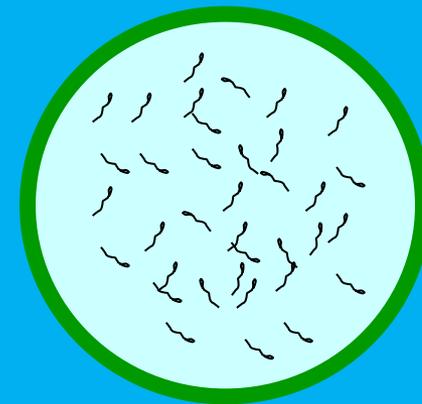
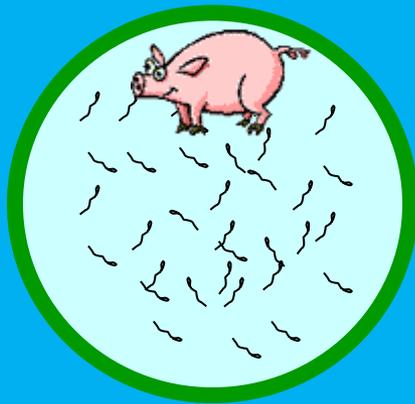


F.A.

Tecnologia non utilizzabile per la specie suina

Tempo zero

16 ore



Spermatozoi vitali

Spermatozoi morti

Cosa fare?

Abbandonare il
progetto RCSS

Creare una nuova
tecnologia per la
specie suina

Biotechnologia italiana nata in Lombardia
Procedura operativa "one step"

ejaculato
+
 BaCl_2

○ FAST \Rightarrow Ba^{2+} 5 mM
○ SLOW \Rightarrow Ba^{2+} 10 mM



Brevetto italiano MI 972652 (27/11/1998)
European Patent EP0922451 (16/6/99)

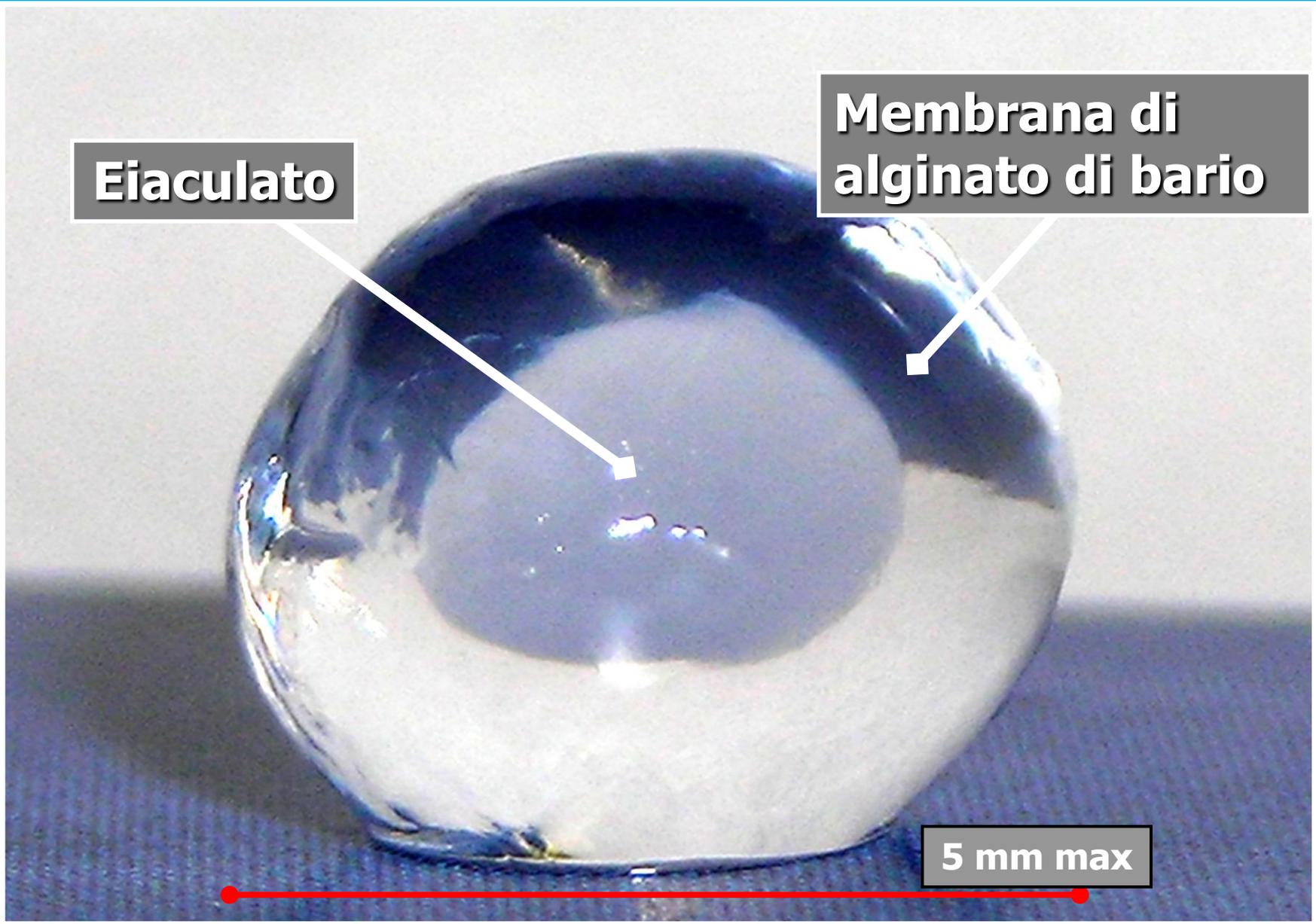
S.T.P. Pharma Sciences 1998,8,233
Biomaterials 2000, 21,1493-8

Vigo et al. (2009) Theriogenology 72: 439-444.

Eiaculato

Membrana di alginato di bario

5 mm max



Test di fertilizzazione *in vivo*

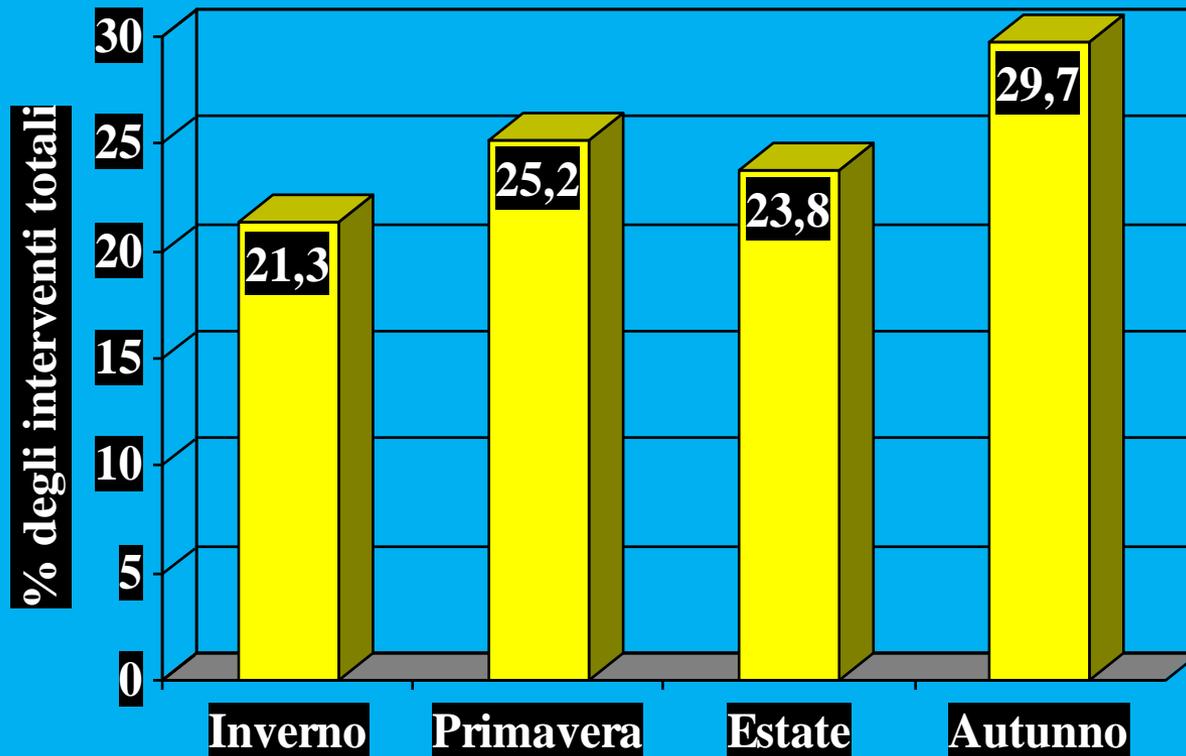
CONTROLLO

1710 scrofe - Inseminazione
convenzionale con seme
refrigerato
2/3 interventi con $2.5 \cdot 10^9$
spz/inseminazione

Totale scrofe: 3493

CAPSULE (RCSS)

1783 scrofe - Singolo
intervento inseminativo con
capsule a rilascio
controllato (**inferiore** a $3 \cdot 10^9$
spz/inseminazione)



Le scrofe sono state monitorate per:

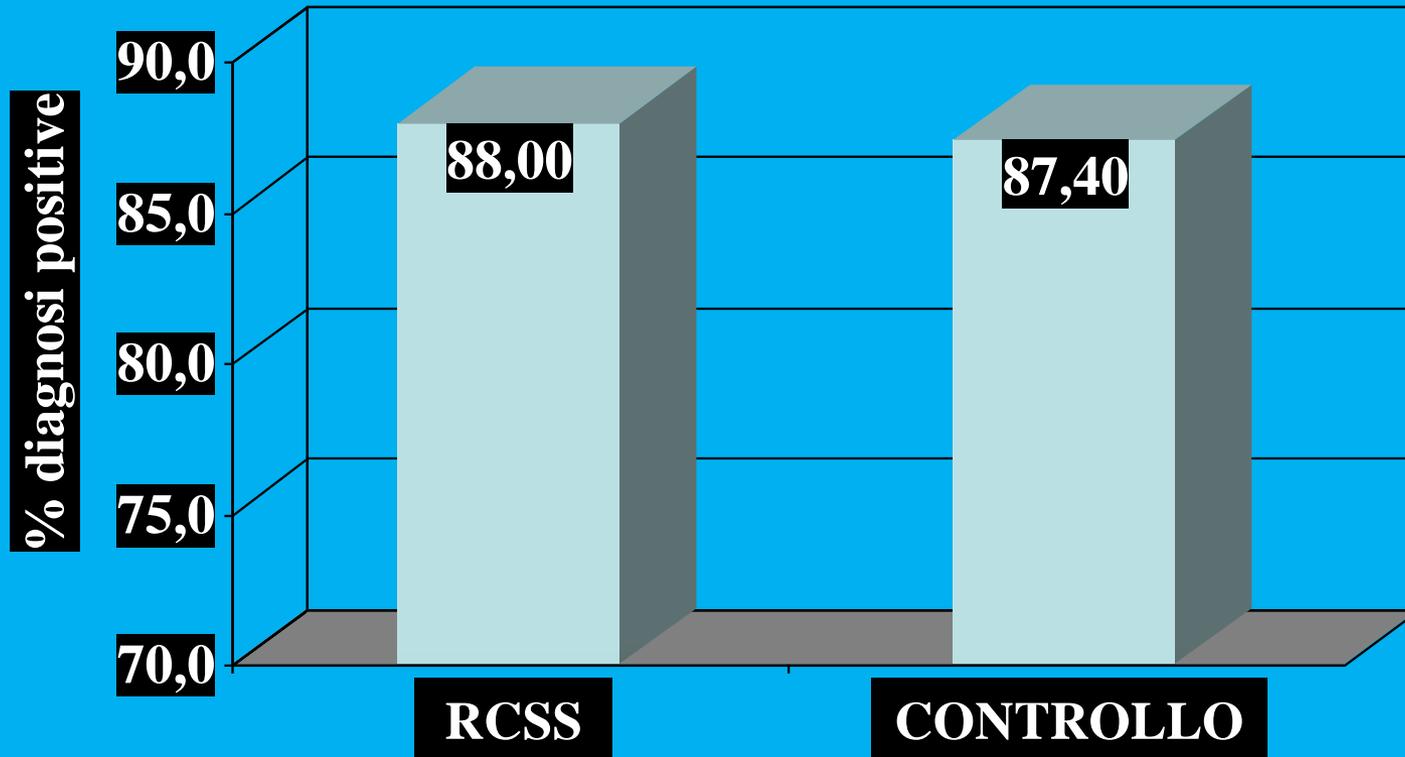
Gravidanza (ecografia, 28gg post inseminazione)

Percentuale di parti

Totale suinetti nati

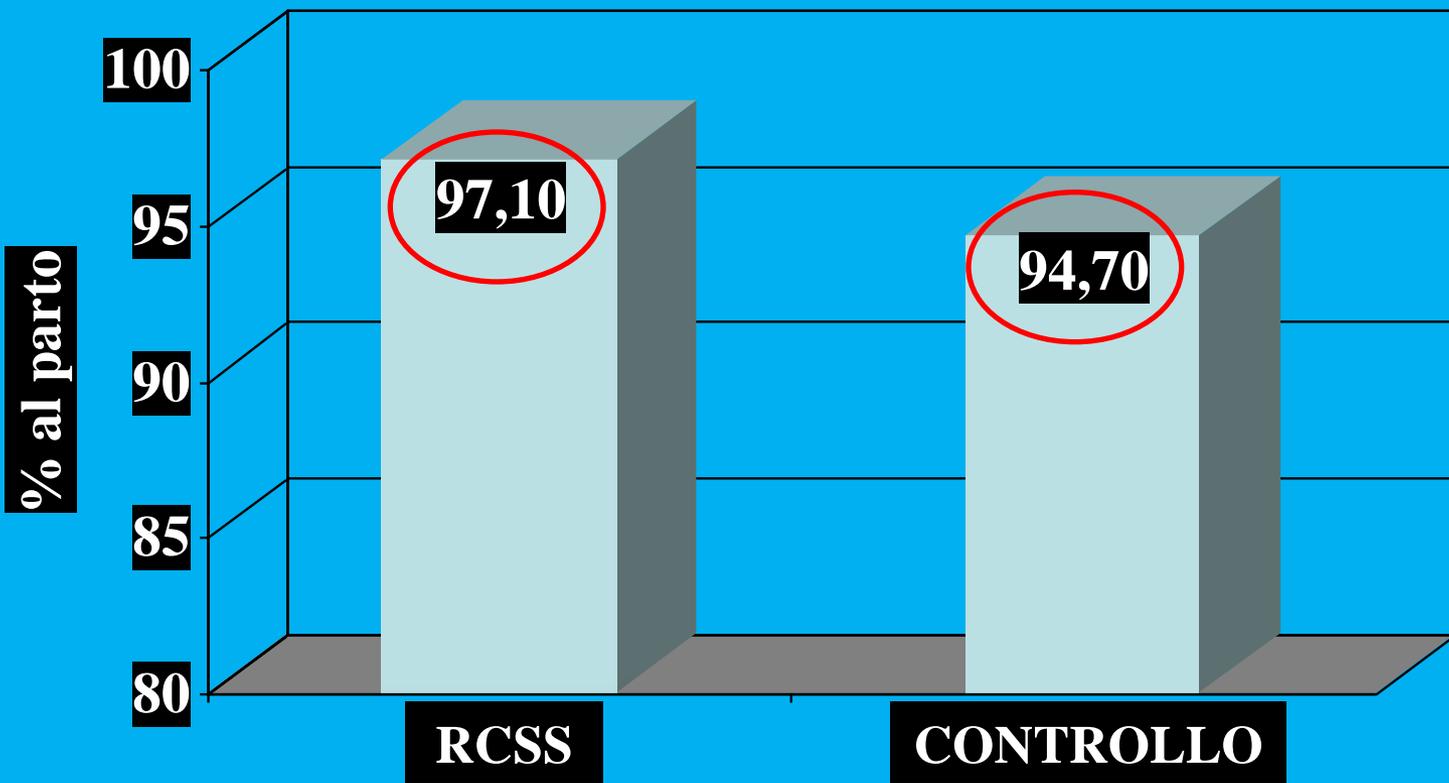
Suinetti nati vivi

Diagnosi di gravidanza positive



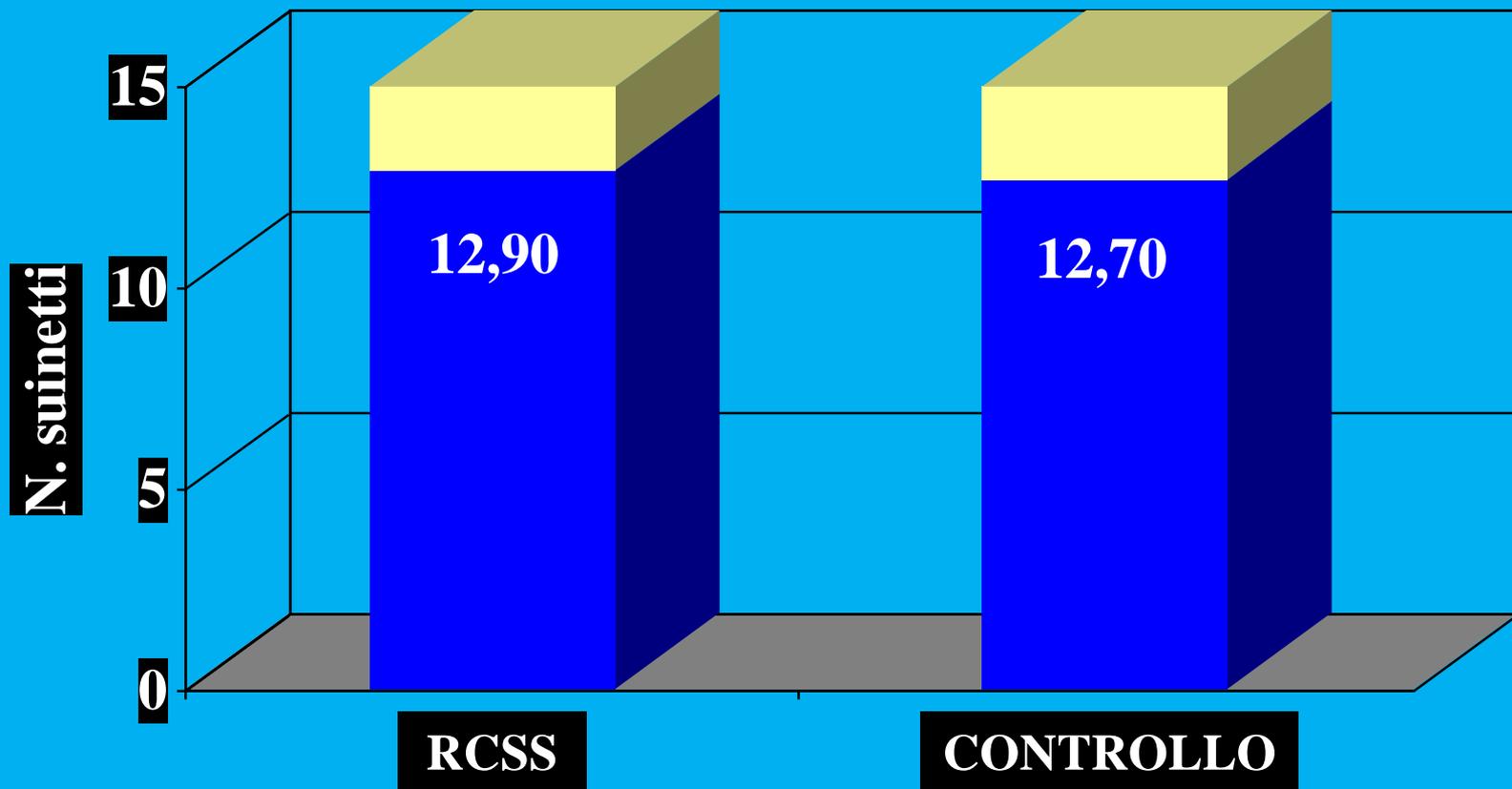
Chi-quadrato, $P=0,61$, n.s.

% parti



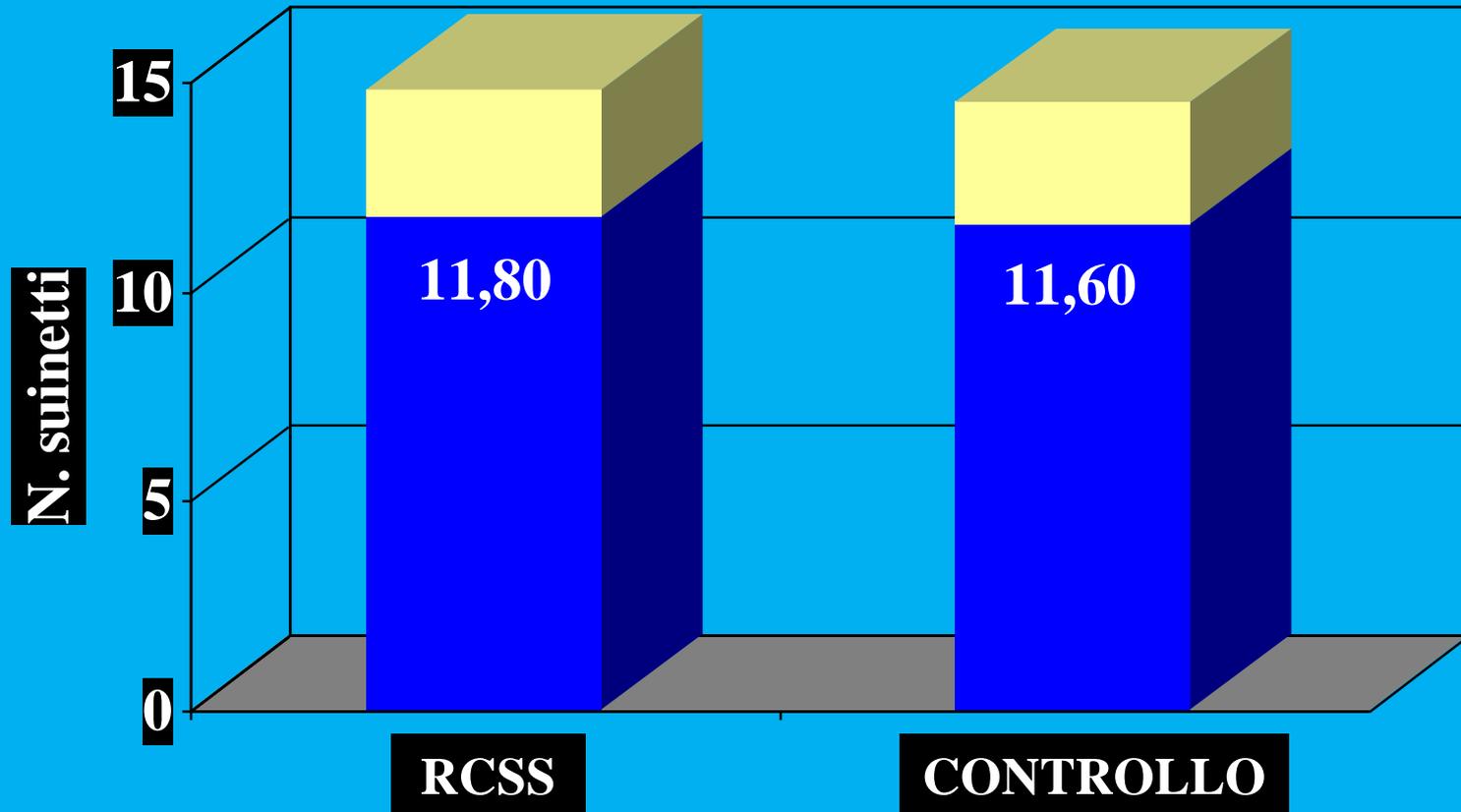
Chi-quadrato, $P=0,003$

Suinetti nati totali (media+d.s.)



t-test dati indipendenti, $P=0,16$

Suinetti nati vivi (media+d.s.)



t-test dati indipendenti, $P=0.09$

Percentuale di gravidanze

1 RCSS

2-3 IS

Portata al parto

1 RCSS

2-3 IS

Prolificità

1 RCSS

2-3 IS

Conclusioni

La dinamica follicolare ed ovulatoria nella scrofa è complessa

Per pianificare un controllo utile in allevamento occorre tener conto:

- Metabolismo
- Accrescimento
- Assetto endocrino
- Omeostasi
- Lattazione
- Magro/Grasso
- Materiale seminale
- Molecole biologicamente attive endogene ed esogene
- Verro
- Ecografia
- Operatori tecnici
- Capacità dell'imprenditore

Conclusioni 2

La dinamica follicolare ed ovulatoria nella scrofa è complessa

Le biotecnologie e le nanotecnologie (rilascio controllato del seme suino, rilascio controllato di molecole biologicamente attive: os, i.m., intra-vaginale, transdermico) sono un ausilio attuabile

Le corrette informazioni di Fisiologia della riproduzione suina sono elementi strategici nel trasferimento tecnologico e biotecnologico, note soltanto a chi ha dedicato un'attenzione uguale e imparziale alle opposte ragioni studiandole nel modo più analitico ed accurato possibile

Il tutto per scongiurare

IL CIGNO NERO... (quello mai candidato all'Oscar)

Evento caratterizzato da:

- Altissimo impatto economico
- Basso probabilità
- Bassissima prevedibilità

I suini mai nati non possono essere venduti.....