

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PARMA
DIPARTIMENTO DI SCIENZE MEDICO VETERINARIE
SEZIONE DI ENDOCRINOLOGIA E FARMACOLOGIA VETERINARIA

Dottorato di ricerca in: Scienze Medico Veterinarie

Ciclo: XXVII

**IL CONTROLLO DELL'ATTIVITÀ OVARICA NELLA SCROFETTA E L'EFFETTO
DELLA SOMMINISTRAZIONE DEL PROGESTERONE E DELLE PROSTAGLANDINE
SULLA SINCRONIZZAZIONE DELL'ESTRO**

**THE CONTROL OF OVARIAN ACTIVITY IN GILT AND THE EFFECT OF
PROGESTERON AND PROSTAGLANDIN ADMINISTRATION ON OESTRUS
SYNCHRONIZATION**

Coordintore

Chiar.mo Prof. Franco Brindani

Tutor:

Chiar.mo Prof. Fabio De Rensis

Dottorando: Dott. Claudio Mazzoni

....a Simona e Giulia.....

Indice generale

Introduzione.....	9
-------------------	---

PARTE GENERALE

Capitolo 1

I meccanismi neuroendocrini che controllano l'attività ovarica della scrofetta.....	13
1. Il ciclo estrale nella scrofetta ed il suo controllo neuroendocrino.....	13
2. Il corpo luteo e il ruolo delle Prostaglandine F2alfa nella luteolisi.....	15
3. L'LH (ormone luteinizzante)	17
4. Dinamiche follicolari.....	17
5. L'ovulazione ed il momento ottimale per l'inseminazione.....	19
La luteolisi e l PGF2alfa nel suino.....	23
1. I recettori delle PGF2alfa.....	23
2. La PGF2alfa durante il ciclo estrale del suino.....	24
3. Il parto.....	26
- Il meccanismo neuroendocrino del controllo del parto.....	26
- Fase preparatoria al parto.....	28
- Fase dell'espulsione dei feti.....	29
- Fase dell'espulsione delle membrane fetali.....	29
4. La PGF2alfa e l'induzione del parto.....	29
- Sede di inoculo e dosaggio delle prostaglandine.....	32
5. Il trattamento con PGF2alfa subito dopo il parto.....	33
6. La somministrazione della PGF2alfa al momento dell'inseminazione.....	34

Capitolo 2

Metodiche di induzione e sincronizzazione dell'estro nelle scrofette.....	37
1. "L'effetto verro"	40
2. Uso delle gonadotropine sulle scrofette prepuberi.....	41
3. Uso del progestinico.....	44

PARTE SPERIMENTALE

Capitolo 3

Esperimento 1:	51
<i>Effetto luteolitico della somministrazione di un agonista delle PGF2alfa in scrofette puberi durante diverse fasi del ciclo estrale</i>	

Esperimento 2:	57
<i>Cateterizzazione non invasiva della vena auricolare per prelievi frequenti nella specie suina</i>	
Esperimento 3:	65
<i>Effetto della soppressione dell'estro con Alliltrembolone per un periodo breve (10 o 12 gg) o standard (14 o 18 gg) sulla sincronizzazione dell'estro e sulla fertilità nelle scrofette puberi</i>	
Esperimento 4:	71
<i>Effetto della stagionalità sulla distribuzione dei ritorni in estro regolari ed irregolari nella scrofa</i>	

Capitolo 4

Conclusioni	79
--------------------------	----

<i>Bibliografia</i>	83
---------------------------	----

**IL CONTROLLO DELL'ATTIVITÀ OVARICA NELLA
SCROFETTA E L'EFFETTO DELLA
SOMMINISTRAZIONE DEL PROGESTERONE E
DELLE PROSTAGLANDINE SULLA
SINCRONIZZAZIONE DELL'ESTRO**

Introduzione

L'allevamento suino da riproduzione non si sottrae alla più classica delle leggi di mercato dove in un contesto ormai continentale/mondiale di bassi prezzi di vendita della carne, si prospetta un futuro solo per gli allevatori/imprenditori che riusciranno a tenere basso il proprio costo di produzione.

I fattori in grado di influenzare l'efficienza riproduttiva nell'allevamento del suino sono molti ma i principali vanno ricercati nella messa in parto, o Pregnancy Rate (PR) (numero di scrofe che partoriscono/numero di scrofe inseminate), il numero di suinetti nati vivi per parto ed i giorni improduttivi (NPDs). Questi ultimi, sono quelli accumulati dalle scrofe che non si trovano nelle seguenti fasi: gravidanza, lattazione oppure nei giorni dell'intervallo svezzamento-estro. Inoltre gli NPDs comprendono l'intervallo tra l'ingresso della scrofetta nel "gruppo delle scrofette da inseminare" e il suo primo estro.

Ogni anno circa dal 35 al 50% delle scrofe presenti in allevamento è rimpiazzato dalle scrofette. Questa percentuale, definita "tasso di rimonta", incide notevolmente sui costi di gestione dell'azienda poiché, oltre all'investimento dovuto al mantenimento del futuro riproduttore, o all'eventuale acquisto, interferisce sulla produttività aziendale. Infatti, non bisogna dimenticare che le scrofette presentano frequentemente nidiate di taglia inferiore rispetto a quelle delle scrofe pluripare, ma soprattutto presentano intervalli svezzamento/copertura più lunghi.

È pertanto diventato estremamente importante nell'azienda suinicola moderna, avere una disponibilità di scrofette sempre pronte per essere inserite in riproduzione, anche, e soprattutto, nelle stagioni più critiche dell'anno. Quindi il corretto management dell'estro della scrofetta è alla base per il raggiungimento di quest'obiettivo ma, sempre più spesso, anche a causa deisistemi di allevamento quali le bande, la sua induzione e soprattutto, la sua sincronizzazione pianificata, diventano davvero indispensabili. Questi aspetti premetteranno inoltre una migliore gestione del materiale seminale, qualora acquistato, delle inseminazioni e un miglior management dei parti futuri, in modo che siano concentrati in pochi giorni.

Diversi sono i sistemi d'induzione e sincronizzazione degli estri applicati ai giovani riproduttori. Per le scrofette prepuberi è possibile utilizzare "l'effetto verro" o le gonadotropine (PG600 od analoghi). Per le scrofette puberi il sistema più efficiente consiste nella somministrazione di un progestinico per via orale (15 mg o 20 mg di alliltrembolone) associato o meno al trattamento con gonadotropine (PG600) somministrate 24 ore dopo il progestinico.

Per quanto concerne le prostaglandine, mentre in altre specie domestiche, quali la bovina, cavalla pecora e capra sono ampiamente utilizzate nella sincronizzazione degli estri, nella specie suina questo non è ancora possibile per motivi che saranno descritti dettagliatamente nel proseguo della tesi (Capitolo 2).

Lo scopo della presente tesi è stato quello di studiare la possibilità di utilizzare le prostaglandine per la sincronizzazione degli estri e quindi di valutare l'efficacia dell'utilizzo di protocolli di sincronizzazione degli estri basati sull'utilizzo del progesterone e prostaglandine sulla sincronizzazione, fertilità e prolificità della scroffetta.

Parte Generale

CAPITOLO 1

I meccanismi neuroendocrini che controllano l'attività ovarica della scrofa

Per comprendere appieno il funzionamento dei protocolli di sincronizzazione degli estri è necessario avere ben presente quali siano i meccanismi neuroendocrini che regolano l'attività ovarica della scrofa. In questo capitolo della tesi saranno descritti quelli principali che regolano lo sviluppo follicolare anche alla luce delle più recenti conoscenze che sono state acquisite grazie all'indagine ecografica.

1) Il ciclo estrale nella scrofa ed il suo controllo neuroendocrino.

Il suino domestico è considerato un animale poliestrale, in quanto solitamente presenta cicli durante tutto l'anno, della durata media di 21 ± 2 giorni. (Asdell, 1964). Nella scrofa tale ciclo può essere distinto in due fasi: quella luteinica, della durata di circa 16 giorni, quella follicolare di circa 5 giorni (figura 1).

Queste due fasi sono regolate da diversi fattori, ma tutto ha inizio con la secrezione ipotalamica

di GnRH che controlla il rilascio delle gonadotropine ipofisarie LH (l'ormone luteinizzante) e FSH (l'ormone follicolo-stimolante).

La fase luteinica inizia subito dopo l'ovulazione ed è caratterizzata dalla presenza dei corpi lutei (CLs) che producono progesterone. Il progesterone inibisce la secrezione di GnRH e quindi il rilascio di LH ed FSH. In questo modo non si sviluppano i follicoli preovulatori, l'animale non ovula e non manifesta l'estro. Nell'animale non gravido, approssimativamente attorno al giorno 12° della fase luteinica, viene secreta, da parte dell'utero, la

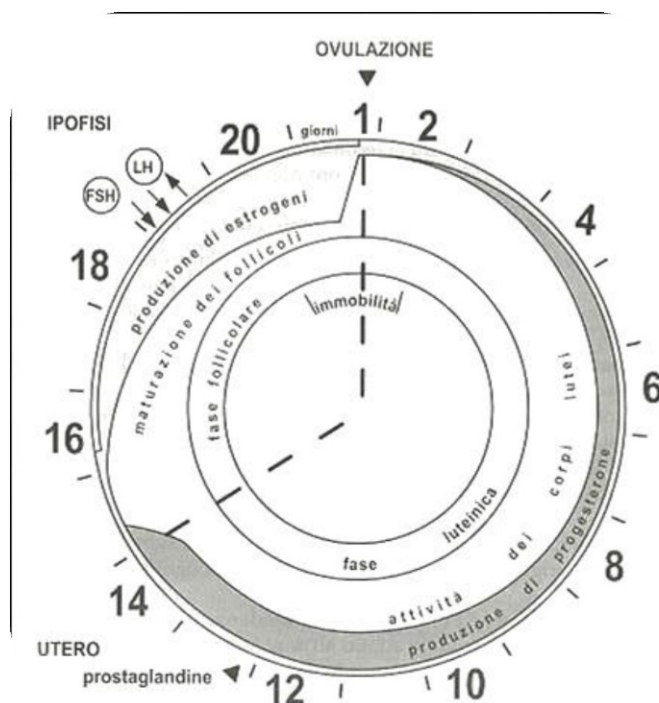


Figura 1: Le fasi del ciclo estrale della scrofa

prostaglandina F₂ (PGF_{2α}), che determina la regressione (luteolisi) dei corpi lutei e la conseguente fine della produzione di progesterone. A questo punto inizia la fase follicolare. Infatti, dal momento in cui viene meno il blocco della secrezione ipotalamica di GnRH, operato dal progesterone, riprende la secrezione delle gonadotropine ipofisarie, soprattutto LH, che determina un ulteriore sviluppo follicolare con un aumento dei livelli ematici di estrogeni e quindi estro ed ovulazione (Kirkwood, 1999a).

L'ovulazione è determinata da un picco di LH (la cui concentrazione in circolo passa da 1 ng/mL a 8 ng/mL) (Hansel et al., 1973). L'ovulazione avviene verso la fine dell'estro, a circa 2/3 dall'inizio.

Durante l'estro si ha un cambiamento nel comportamento della scrofetta: l'appetito è ridotto, la vulva diventa iperemica ed edematosa, e spesso si osserva la fuoriuscita di un secreto mucoso trasparente/opalescente. La manifestazione principale dell'estro è il riflesso d'immobilità. In questo periodo la scrofetta accetta di essere "cavalcata" dalle compagne di box e, se stimolata dall'operatore sul dorso, resta completamente immobile, tiene la testa estesa in avanti, il dorso leggermente incurvato, gli arti ben piantati a terra con e le orecchie sollevate (Faravelli, 2004; Knox, 2001)

Il periodo di recettività sessuale della scrofetta varia da 1 a 4 giorni (Eliasson, 1989). Per quanto riguarda l'ovulazione, questa avviene all'incirca verso la quarantesima ora dall'inizio (83%) dell'estro (Niswender et al., 1970) se questo dura due giorni. Se invece dura più di due giorni, l'ovulazione avverrà attorno al 75% della sua durata (Niswender et al., 1970).

Weitze e Waberski (1996) hanno evidenziato come il momento dell'ovulazione nella scrofetta possa avvenire in un range temporale variabile dalle 23 alle 48 ore dopo l'inizio dell'estro, mentre Mertinat-Bottè et al. (1995) hanno indicato una variabilità compresa tra le 26 e 50 ore.

Il numero di oociti rilasciati durante l'ovulazione può andare da 10 a 24 per ovaio, in relazione all'età, all'ordine di parto, allo stato di nutrizione e alla genetica. Tipicamente, il tasso di ovulazione alla pubertà è più basso rispetto a quello degli estri successivi. In seguito all'ovulazione, i corpi lutei si formano e diventano pienamente funzionali nell'arco di 6-8 giorni (Warnick et al., 1950).

Il tempo necessario affinché tutti gli oociti siano rilasciati durante l'ovulazione va da 1 a 6 ore (Soede e Kemp, 1993). La stimolazione con il verro durante il periodo dell'estro è in grado di concentrare il processo di ovulazione (Signoret et al. 1972). Inoltre, gli animali sottoposti a monta naturale tendono a ovulare alcune ore prima rispetto a quelli sottoposti a inseminazione artificiale. Infine sono presenti nel plasma seminale diversi fattori, non ancora del tutto identificati, che stimolano l'ovulazione stessa (Signoret et al., 1972; Weitze e Waberski, 1996).

Dopo l'ovulazione, le cellule della granulosa e della teca, che tappezzano la parete del follicolo andato in contro a rottura, si moltiplicano rapidamente e sotto l'effetto dell'LH vanno incontro a luteinizzazione. Tale processo determina notevoli cambiamenti morfologici delle cellule della teca e della granulosa del follicolo che si trasformano in cellule luteiniche che secernono progesterone. Il processo di luteinizzazione continua per 6-8 giorni con le cellule luteiniche che raggiungono un diametro di 8-11 mm. I livelli ematici di progesterone all'inizio dell'estro sono bassi (< 2ng/ml), ma raggiungono il picco (>32ng/ml) tra l'8° e il 12° giorno del ciclo estrale (Hansel et al., 1973) per poi calare, se l'animale non è gravido, verso il 15°-16° giorno per opera delle PGF2alfa rilasciate dall'utero.

2) Il corpo luteo e il ruolo delle prostaglandine F2 alfa nella luteolisi.

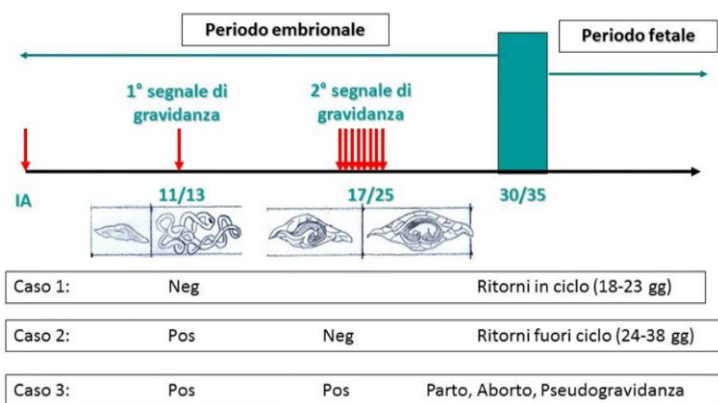
Dal momento in cui il picco di LH ha determinato l'ovulazione e la conseguente formazione del corpo luteo (CL), la sua funzionalità nella specie suina, si mantiene senza il supporto delle gonadotropine ipofisarie. Negli anni 60', Anderson et al., (1967), avevano sottoposto un gruppo di scrofe a ipofisectomia al primo giorno del ciclo estrale e osservarono che il corpo luteo rimane attivo per 15 giorni. Questi, e altri studi (Gleeson, 1974), hanno indicato che il corpo luteo della scrofa si sviluppa autonomamente senza bisogno del supporto delle gonadotropine ipofisarie fino al 10° giorno dalla sua formazione. Nelle scrofe non gravide, la regressione del CL e l'interruzione delle funzioni luteiniche si riflettono nella rapida caduta dei livelli plasmatici di progesterone (P₄) nell'arco di 1-2 giorni dall'inizio della regressione del CL (Dziuk, 1991)

I livelli ematici del progesterone nella scrofetta tra l'8° e il 12° giorno del ciclo, raggiungono un picco di 32 ng/ml con una variabilità compresa tra 25 e 35 ng/ml e permangono su questi valori fino al 14° o 15° giorno del ciclo stesso. A questo punto i livelli di progesterone iniziano a diminuire a causa dell'azione luteolitica delle prostaglandine uterine, fino ridursi al di sotto di 1ng/ml durante la fase follicolare del ciclo (Gleeson, 1974).

Diverso è quello che accade in caso di gravidanza dove l'attività ipofisaria secernente dell'LH di tipo a bassa frequenza e ampia altezza, diventa indispensabile per il mantenimento del CL gravidico e quindi è fondamentale per il mantenimento della gravidanza stessa. Questo perché nella specie suina i corpi lutei sono l'unica fonte di secrezione del progesterone. Pertanto, qualsiasi evento in grado di interferire con la secrezione ipofisaria di LH, sarà in grado di variare anche la concentrazione ematica di progesterone esponendo più facilmente i CLs alla lisi, compromettendo così l'andamento della gravidanza (Kirkwood et al., 2002; Martineau et al., 2003)

Anche gli embrioni partecipano attivamente al mantenimento della gravidanza sviluppando un importante scambio di segnali ormonali, finalizzati a “comunicare” alla madre la loro presenza all’interno dell’utero. Questo scambio è alla base di quelli che sono definiti i “segnali di gravidanza” che si instaurano sin dai primi giorni dopo il concepimento e che consistono in una secrezione di estrogeni da parte degli embrioni stessi. Infatti, tra l’11° ed il 13° giorno di gravidanza, l’embrione (blastocisti) fluttuante all’interno del corno uterino, comincia ad allungarsi formando, insieme agli invogli fetali, quei caratteristici filamenti, che possono arrivare fino ad metro di lunghezza (Levis, 2001). Durante questa fase sono prodotti degli estrogeni che rappresentano il “primo segnale di gravidanza”. Il secondo segnale, anch’esso a base di estrogeni, sopraggiunge tra il 17° ed il 25° giorno di gestazione, in concomitanza con lo sviluppo della placenta fetale e ad attecchimento già iniziato (13°-14° giorno). Per entrambi i segnali di gravidanza vale la regola della dose dipendenza, cioè sono necessari almeno 4 o 5 embrioni per generare un flusso di estrogeni tale da confermare la gravidanza (Martineau, 2003; Ashworth, 2006).

I «segnali di gravidanza»



Martineau, GP. 2003 (modificato)

Figura 2: Manifestazioni estrali in rapporto all'emissione dei segnali di gravidanza

In figura 2 sono schematizzate le interazioni tra i segnali di gravidanza inviati dagli embrioni ed il loro effetto sull’attività ovarica. Il meccanismo con cui gli estrogeni di origine embrionale agiscono sul mantenimento della gravidanza si basa soprattutto nel “ridirezionare” le PGF2alfa in modo tale che non siano più secrete nei capillari sottomucosi, ma all’interno del lume uterino, perdendo così la loro funzione luteolitica (Senger, 1997). Inoltre l’utero produce naturalmente delle prostaglandine, le PGE₂, che hanno attività luteotrofica. Il ruolo degli estrogeni di origine fetale è anche quello di bloccare l’enzima coinvolto nella trasformazione da PGE₂ in PGF₂α impedendo quindi la luteolisi e permettendo così il mantenimento della gravidanza (Kirkwood et al., 2003).

A riprova dell’importante ruolo svolto dagli estrogeni nel mantenimento della gravidanza, la loro somministrazione sperimentale per via orale o parenterale nella scrofetta all’inizio della fase

luteinica è il grado di impedire la luteolisi e quindi prolunga la sopravvivenza del corpo luteo di alcune settimane (Dziuk, 1991) inducendo così una pseudo gravidanza.

3) L'LH (ormone luteinizzante)

Per quanto riguarda i livelli ematici di LH, questi iniziano ad aumentare nelle prime ore dell'estro, raggiungono il picco di 8ng/mL poco prima dell'ovulazione, ritornando ai livelli basali di 1-2 ng/mL attorno alle 40 ore dopo l'ovulazione (Brinkley, 1981). Per quanto riguarda la frequenza e l'ampiezza della secrezione di LH, questa varia durante le diverse fasi del ciclo estrale. Nella fase luteinica la secrezione di LH è a bassa frequenza, con pulsè ogni 30-40 min., e alta ampiezza. Durante la fase follicolare la secrezione di LH è ad alta frequenza, con pulsè ogni 10-15 min., e bassa ampiezza. Verso la fine della fase follicolare la frequenza del rilascio di LH aumenta fino a determinare il picco pre-ovulatorio che raggiunge valori anche superiori di 20 volte ai valori medi di secrezione di LH e che dura dalle 6 alle 8 ore. Il picco di LH è innescato dall'aumento della concentrazione di estrogeni, secreti dai follicoli preovulatori (Soede et al., 1998). Gli estrogeni determinano il picco di LH agendo sul sistema nervoso centrale attraverso la stimolazione della secrezione di GnRH (Kraeling e Barb, 1990).

4) Dinamiche follicolari

Durante la fase luteinica del ciclo estrale della scrofa, nelle ovaie sono presenti dai 40 ai 50 follicoli antrali, ognuno dei quali misura approssimativamente dai 3 ai 6 mm di diametro. Di questi circa il 50% va incontro ad atresia. La popolazione follicolare si mantiene su un equilibrio fisiologico tra la proliferazione follicolare e la morte cellulare programmata (apoptosis). Immediatamente dopo l'ovulazione si verifica un rapido incremento del numero di follicoli fino al 20° giorno del ciclo estrale per poi rimanere costante (Guthrie et al., 1995).

Alcuni studi (Ryan et al., 1994, Ratky et al., 1995) non hanno osservato crescita dei follicoli, nella

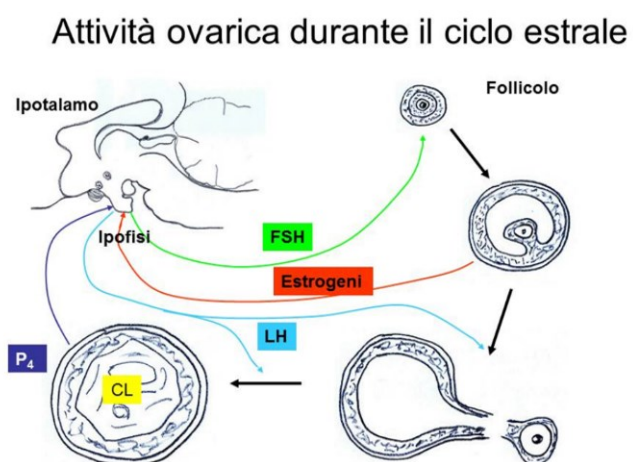


Figura 3: Interazioni ormonali in rapporto all'attività ovarica durante il ciclo estrale nel suino.

fase luteinica, né per dimensione e né per numero. Durante questo periodo, solo i follicoli, di dimensioni uguali o superiori ai 3 mm si sono sviluppati fino ad arrivare all'ovulazione, mentre quelli di dimensioni più piccole, sono incorsi nell'atresia. Per cui questi studi non hanno rilevato la formazione di ondate follicolari durante il ciclo nella specie suina, come invece avviene in altre specie come quella umana, bovina, ovina, caprina ed equina. Viceversa, altri autori, Guthrie and Cooper (1995), hanno osservato una continua crescita e regressione dei follicoli, anche durante la fase luteinica, suggerendo quindi che, anche nella specie suina, ci siano le ondate follicolari, anche se meno evidenti e più brevi rispetto ad altre specie domestiche come nella bovina. In questo studio è stato anche descritto che i follicoli ovulatori sono selezionati fra il 14° ed il 16° giorno del ciclo estrale. Nella fase follicolare, i follicoli destinati all'ovulazione, passano dai 3-5 mm di diametro del 15° giorno, a circa 7-11 mm al momento dell'ovulazione.

Per quanto riguarda l'altra gonadotropina ipofisaria, l'FSH, questo ormone ha soprattutto la funzione di selezionare i follicoli che si sviluppano nelle varie fasi del ciclo estrale e, insieme all'LH, di promuoverne e mantenerne la crescita follicolare (Senger, 1997).

Analogamente alle altre specie domestiche, anche nella specie suina i follicoli secernono un altro ormone, l'inibina che ha un'azione a feedback negativo a livello di ipofisi, determinando una riduzione della secrezione di FSH. Comunque, questo effetto inibitorio dell'inibina sull'FSH, non porta alla formazione di un follicolo dominante, come nella specie umana, equina, bovina, in quanto la bioattività dell'FSH nel suino è molto maggiore rispetto a quella dell'FSH di altre specie. Per cui, nel suino si mantiene lo sviluppo di molti follicoli, facendo sì che questa sia una specie politocica.

Dial e Britt (1986) hanno descritto come il periodo immediatamente post-ovulatorio, che ha come risultato un'improvvisa riduzione dei livelli in circolo di estrogeni, permette uno spiccato incremento nella secrezione di FSH che continua per 2 o 3 giorni dopo l'estro. Inoltre gli autori hanno indicato che l'aumentato rilascio di FSH avviene in risposta alla scomparsa dell'inibina di origine follicolare, che ha un effetto a feedback negativo sul rilascio di FSH stesso.

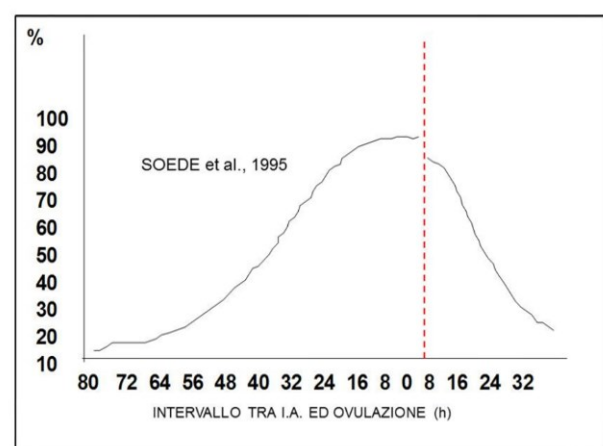


Figura 4: Tasso di fertilizzazione in rapporto all'intervallo tra i.a. ed ovulazione

Grazie all'utilizzo di apparecchiature ecografiche sempre più efficienti (Lucy, 1999), negli ultimi anni è stato determinato in maniera accurata, sia la dinamica dello sviluppo follicolare delle scrofe quanto la durata ed il momento dell'ovulazione nelle scrofe dopo lo svezzamento. Quest'ultimo dato, soprattutto in rapporto alla durata dell'estro, ha permesso di dare informazioni molto preziose su quale sia il momento ottimale per effettuare l'inseminazione (Soede e Kemp, 1999).

5) L'ovulazione ed il momento ottimale per l'inseminazione.

Per effettuare l'inseminazione artificiale al momento più adatto bisogna determinare correttamente il momento dell'ovulazione. Questa fase non è di semplice determinazione, poiché variabile in funzione della durata dell'estro stesso (Mburu et al., 1995; Kemp e Soede, 1996; Soede et al., 1995; Nissen et al., 1997; Almeida, 2000; Bertacchini e Campani, 2001a).

Nello studio di Soede et al. (1995), gli autori hanno investigato l'effetto del momento dell'ovulazione e dell'inseminazione sul successivo tasso di gravidanza (Figura 4). Su 151 scrofe è stata effettuata la ricerca dell'estro ogni 8 h a partire da 62 h dopo lo svezzamento. È stata poi eseguita un'ecografia trans rettale ogni 4 ore a partire da 16 ore dopo l'inizio dell'estro, per stabilire il momento esatto dell'ovulazione. Le scrofe sono state sacrificate da 106 a 136 ore dopo l'ovulazione per determinarne il tasso di ovulazione, il numero di embrioni e quello degli oociti. I risultati di questo studio sono riassunti in tabella 1.

Tempo dell'inseminazione	Percentuale di fertilità	Numero soggetti
> 48h	35%	1
48 - 40h	51 ± 36%	6
40 - 32h	54 ± 36%	14
32 - 24h	79 ± 32%	19
24 - 16h	94 ± 11%	24
16 - 8h	92 ± 21%	24
8 - 0h	95 ± 22%	21
0 a -8h	75 ± 38%	26
-8 a -16h	74 ± 43%	15
e> -16h	0%	1

Tabella 1: Il tasso di fertilità per ogni intervallo di 8 ore dall'inseminazione all'ovulazione

Questi dati indicano che per ottenere le migliori prestazioni sulla sfera riproduttiva occorre inseminare le scrofe all'interno delle 24 ore che precedevano l'ovulazione. Inoltre questo studio ha

indicato che per le scrofe che ovulano tra i 3 e i 7 giorni dopo lo svezzamento, la durata dell'estro è di 50 ± 13 ore e l'ovulazione avviene verso la fine dell'estro, a circa $2/3$ dall'inizio dell'estro (35 ± 8 ore).

In un successivo studio, gli stessi autori (Kemp e Soede, 1996) hanno descritto che esiste una correlazione tra il momento dell'ovulazione e la durata dell'estro: per le scrofe in estro al 3, 4, 5 e 6 giorno dopo lo svezzamento, l'intervallo tra l'inizio dell'estro e l'ovulazione è stato rispettivamente di 41 ± 1 ; 37 ± 1 ; 34 ± 1 e di 24 ± 4 ore. Tali risultati indicano che nelle scrofe con un intervallo svezzamento-estro prolungato, è più difficile che l'inseminazione sia fatta correttamente rispetto al momento dell'ovulazione. Questo può avere un effetto negativo sulla consistenza della nidata e sul tasso di gravidanza. Questi dati, inoltre, indicano che il momento dell'ovulazione può essere stimato indirettamente partendo dalla durata dell'intervallo svezzamento-estro, dato che ad intervalli più lunghi di quest'ultimo, corrisponde una durata dell'estro più breve (Figura 5).

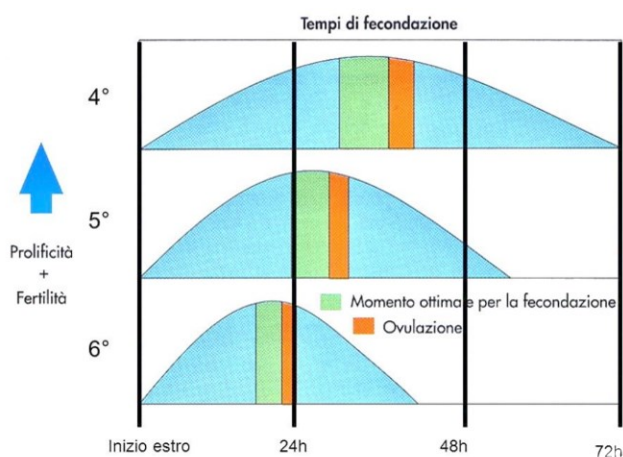


Figura 5. Fase dell'ovulazione in rapporto alla durata dell'estro (Bertacchini e Campani 2001a)

Nissen et al. (1997) hanno condotto uno studio simile per valutare l'effetto del momento di inseminazione rispetto al momento dell'ovulazione sul numero di parti e sulla consistenza della nidata nelle scrofe. In questo studio l'intervallo medio tra lo svezzamento e l'inizio dell'estro è stato di 92 ± 3 ore e la durata dell'estro di 60 ± 14 ore. L'ovulazione è avvenuta a circa il 71% della durata dell'estro. Tale

percentuale si è ridotta in maniera significativa con l'aumentare della durata dell'estro. Le scrofe inseminate tra le 24 ore prima e le 4 ore dopo l'ovulazione hanno avuto un più alto numero di embrioni (20.3).

Quando l'inseminazione è stata eseguita tra le 28 ore prima e le 4 ore dopo l'ovulazione, rispetto alle inseminazioni eseguite più di 28 ore prima o a oltre 4 ore dopo dall'ovulazione, ci sono state più scrofe gravide (16,3% vs 62,5%) e un numero totale di suinetti nati per scrofa più alto (13,7 vs 9,0). Questi risultati, insieme a quelli di Kemp e Soede (1996), indicano che il momento ottimale dell'inseminazione è tra 28 ore prima e le 4 ore dopo l'ovulazione. Il momento migliore in assoluto sarebbe tra le 10 e le 6 ore prima dell'ovulazione.

In uno studio analogo, ma specificatamente rivolto alla scrofetta, Almeida et al. (2000) hanno valutato i tempi dell'ovulazione in rapporto alla durata dell'estro. A partire dal 19° giorno del terzo ciclo estrale, 92 scrofette sono state messe a contatto con il verro ogni 6 ore per la rilevazione dell'estro. Trascorse 24 ore dopo l'inizio dell'estro, è stata eseguita un'ecografia ogni 6 ore al fine di determinare il momento dell'ovulazione. La durata dell'estro è stata di 52.6 ore (range: 30 – 72 ore) e l'ovulazione si è verificata 44 ore (range: 30 – 60 ore) dopo l'inizio dell'estro. Pertanto nella scrofetta, a differenza di quanto in precedenza visto da Soede et al., (1995) per la scrofa, l'ovulazione si ha all'incirca all'85% della durata dell'estro. Come nella scrofa, anche nella scrofetta, il momento dell'ovulazione è correlato positivamente con la durata dello stesso, in altre parole, quando la durata dell'estro si allunga, si sposta in avanti anche il momento dell'ovulazione.

In conclusione, il momento ottimale per l'inseminazione dipende dalla frequenza e dall'accuratezza del rilevamento dell'estro, specialmente il relazione al momento della sua insorgenza. Nella maggior parte degli allevamenti l'estro è ricercato ogni 12, ma più frequentemente ogni 24. Perciò, soprattutto quando la ricerca dell'estro è effettuata ogni 24 ore, il momento della sua insorgenza non può essere sufficientemente preciso e pertanto non consente di effettuare l'inseminazione al momento più adatto. Non è così da escludere che in questi casi ci possa essere un tasso di fertilità ridotto. A tale riguardo e con il fine di ridurre al minimo il rischio per una ridotta fertilità, alcuni autori (Almeida et al., 2000) hanno suggerito che, quando la ricerca dell'estro è effettuata a intervalli di 12 ore, la prima inseminazione dovrebbe essere eseguita 24h dopo l'inizio dell'estro e la seconda 12h più tardi. Mentre per le scrofette che manifestano ancora il riflesso di immobilità 12h dopo la seconda inseminazione potrebbe essere giustificata l'esecuzione di una terza inseminazione.

La luteolisi e le PGF2alfa nel suino

La prima prostaglandina disponibile è stata prodotta nel 1979 (Lutalyse o Dinoprost) e, da quel momento in poi, sono state messi a punto numerosi analoghi. La principale differenza nei prodotti in commercio è che alcune PGF2alfa hanno una struttura chimica uguale alle PGF2alfa (EMEA, 1997) naturali di derivazione uterina, mentre altre sono degli agonisti, come il cloprostenolo sodico (EMEA, 1997). La molecola Cloprostenolo presenta due isomeri (D ed L cloprostenolo) e una miscela racemica, DL-cloprostenolo (Kral et al., 1989). La maggior parte dei prodotti commerciali contiene la miscela racemica ottenuta per un processo di sintesi chimica (EMEA, 1997). Sia il DL-cloprostenolo che il D-cloprostenolo puro sono utilizzati nei prodotti medico veterinari; tuttavia solo l'isomero D del cloprostenolo si lega ai recettori per la PGF2alfa sul corpo luteo bovino e sulle cellule del miometrio, ed esplica azione luteolitica (Re et al., 2008). Il D-cloprostenolo è all'incirca 10 volte più potente rispetto al DL-cloprostenolo (Re et al., 1994) e pertanto, quando viene utilizzato, il D-cloprostenolo è efficace a un dosaggio più basso.

Confrontato con il Dinoprost, il Cloprostenolo ha una maggiore affinità per i recettori delle PGF2alfa (Kimball et al., 1976) e un'emivita in circolo più lunga, 3 ore contro pochi minuti del Dinoprost (EMEA, 1997), in quanto nella molecola di Cloprostenolo l'anello di cloruro di benzile è stato sostituito in posizione 17 della struttura dell'acido grasso della PGF2alfa.

La clearance delle PGF2alfa si realizza attraverso il passaggio a livello polmonare e i residui non si accumulano nel sangue a seguito della ripetizione della somministrazione giornaliera (EMEA, 1997). I potenziali effetti secondari negativi della somministrazione di PGF2alfa consistono in un leggero aumento della frequenza delle defecazioni e della frequenza respiratoria, in tremori, irrequietezza e sintomi generali di malessere come agitazione, masticazione e digrignazione dei denti. La severità può essere molto variabile da animale ad animale, ma nella maggior parte dei casi tali effetti secondari si placano nell'arco di 1 o 2 ore dopo la fine del trattamento (Connor et al., 1976).

1) I recettori delle PGF2alfa

L'azione della PGF2alfa è mediata primariamente, ma non esclusivamente, da recettori sulla membrana plasmatica denominati recettori FP (FPr).

Nel suino, la PGF2alfa induce luteolisi attraverso un meccanismo sistemico e locale. L'isterectomia unilaterale determina una regressione dei CLs di entrambi i lati, indicando che le PGF2alfa uterine hanno un effetto sistemico (Anderson et al., 1961). Comunque, se sono rimossi i tre quarti del corno uterino, regrediscono solo i CLs ipsilaterali al tessuto uterino rimanente, indicando anche un effetto locale della PGF2alfa (Horton et al., 1976). In entrambi i casi, la PGF2alfa uterina ha determinato la luteolisi (Moeljono et al., 1977).

Nel suino i corpi lutei hanno i recettori per le PGF2alfa sulle cellule luteiniche già nelle prime fasi del ciclo estrale e quindi prima ancora che avvenga la luteolisi (Gadsby et al., 1990, 1993). Inoltre questi recettori sono in grado di legarsi alle PGF2alfa ma non di indurre la luteolisi completa se non dal 12° giorno del ciclo stesso. Quindi, di per sé, l'assenza di capacità luteolitica delle PGF2alfa prima del 12° giorno del ciclo estrale nel suino, non è dovuta all'assenza di recettori per la PGF2alfa sulle cellule luteiniche (Gadsby et al., 1990, 1993) ma probabilmente non si attivano i meccanismi intracellulari che causano la luteolisi (De Rensis et al., 2012).

Per cui al momento non è possibile indurre la luteolisi con una singola somministrazione di prostaglandine, prima del 12° giorno del ciclo estrale (Diehl et al., 1974; Guthrie et al., 1976).

Sarebbe però importante comprendere meglio come avviene l'attivazione dei recettori delle PGF2alfa sulle cellule luteiniche per poter sviluppare un metodo in grado di determinare la luteolisi anche prima del 12° giorno del ciclo estrale.

2) La PGF2alfa durante il ciclo estrale del suino

Il ciclo estrale è controllato dall'azione di molti ormoni, comprese le PGF2alfa, che sono note per la loro capacità di determinare la regressione dei CLs. Nel suino, la luteolisi spontanea avviene al giorno 15-16 del ciclo estrale ed è determinata dall'azione delle prostaglandine rilasciate dall'utero. Alla luteolisi fa seguito la rapida riduzione della secrezione di progesterone (Bacci et al., 1996; Moeljono et al., 1977).

La PGF2alfa nel sangue è rapidamente metabolizzata in una molecola inattiva biologicamente stabile ad opera della 25-idrossiprostaglandina deidrogenasi NAD-dipendente (15-PGDH) (Tai et al., 2002). Per cui la misurazione del metabolita delle PGF2alfa, la PGFM nel sangue periferico, è un metodo efficace per stimare la secrezione uterina di PGF2alfa nel suino (Guthrie et al., 1981).

Mediante la determinazione del profilo ematico delle PGFM è stato possibile descrivere che la secrezione delle PGF2alfa da parte dell'utero (McCracken et al., 1970; 1972; Inskip et al., 1980) è di tipo pulsatile (Tai et al., 2002; Guthrie et al., 1981; McCracken et al., 1970; McCracken et al., 1972). Ci sono delle differenze da specie a specie. Nella specie bovina, è stato osservato che il

processo di luteolisi si articola in due fasi distinte con la secrezione di pulsè di PGF2alfa che si verificano circa ogni 12 ore (Thorburn et al., 1973; Nancarrow et al., 1973; Peterson et al., 1975; Kindahl et al., 1976), mentre nelle pecore c'è un graduale aumento dell'ampiezza dell'ondata di secrezione pulsatile (Schramm et al., 1983). Nel suino vi sono pochi dati in merito, tuttavia è riportato che la secrezione endogena di PGF2alfa si verifica con pulsè ad intervalli di 6-8 ore (Kindahl et al., 1981) in modo molto simile a quello che avviene nella specie bovina.

Nel suino, l'efficacia luteolitica della somministrazione di PGF2alfa durante il ciclo estrale è stata indagata con l'obiettivo di sviluppare un protocollo per la sincronizzazione dell'estro e dell'ovulazione. I primi studi hanno osservato che la somministrazione di 0.1 o 2.5 mg di PGF2alfa in ciascun corno uterino al 10° giorno del ciclo estrale non è in grado di determinare una riduzione nei livelli di progesterone plasmatici (Diehl et al., 1974). Per cui, nella specie suina, una singola somministrazione di PGF2alfa può indurre luteolisi solo a partire dal 12° giorno del ciclo estrale (Connor et al., 1976; Moeljono et al., 1977; Guthrie et al., 1976; Moeljono et al., 1976). Tali dati sono supportati da studi condotti *in vitro* che hanno mostrato che il trattamento con PGF2alfa riduce la produzione di progesterone a partire dal 12° giorno del ciclo ma non al 9° giorno (Tsai et al., 1998). Se però si utilizzano delle somministrazioni ripetute di PGF2alfa, la luteolisi può essere anticipata. Nella specie bovina sono state osservate risposte variabili quando è stata somministrata una singola dose di PGF2alfa al giorno 5 del ciclo estrale, periodo in cui in questa specie i CL non hanno ancora acquisito capacità luteolitica ma, quando sono state somministrate due dosi di PGF2alfa la refrattarietà del giovane CL è stata ridotta (Bridges et al., 2008; Whittier et al., 2010). Allo stesso modo nelle pecore, dosaggi molto bassi di PGF2 alfa (40-200mg/7h), se ripetuti, sono in grado di indurre la regressione del CL privo ancora di capacità luteolitica (Schramm et al., 1983). Nella scroffetta la somministrazione di 25mg di un analogo delle prostaglandine, il Dinoprost, con frequenza di ogni 12 h a partire dal 5° giorno fino al 10° giorno del ciclo estrale induce la luteolisi (Estill et al., 1993, 1995) già a partire dal 7°-9° giorno del ciclo estrale anticipando così la comparsa dell'estro al 15°-16° giorno del ciclo estrale. In ultimo, nei, mini pig (suini nani), due somministrazioni di un analogo de PGF2alfa, il cloprostenolo, al dosaggio di 3.0 mg/12 ore hanno indotto la luteolisi già a partire dal 7° giorno dopo l'ovulazione (Kuge et al., 2006).

Le contrastanti differenze osservate fra i risultati relativi alla capacità luteolitica della PGF2alfa *in vivo* e *in vitro* potrebbero essere correlati anche alla presenza in vivo di fattori estrinseci, ipofisari e uterini, come gli estrogeni, che partecipano attivamente nei meccanismi di luteolisi dovuti all'azione delle PGF2alfa.

Per concludere, nel suino, una singola somministrazione di PGF2alfa non è in grado di indurre la luteolisi completa prima del giorno 12° del ciclo estrale. Viceversa, somministrazioni multiple di PGF2alfa sono in grado di determinare la luteosilsi a partire dal 7° giorno del ciclo estrale.

3) Il parto

Il parto è una complessa sequenza di eventi fisiologici che iniziano con la trasformazione dell'utero da un organo quiescente ad uno contrattile e con il rilassamento della cervice. Questi processi iniziano verso gli ultimi stadi di gravidanza quando i livelli ematici di estrogeni aumentano considerevolmente favorendo la formazione di gap junction e la formazione di recettori per l'ossitocina a livello delle cellule muscolari lisce dell'utero. In questo modo è notevolmente stimolato il potenziale contrattile dell'organo.

Il meccanismo neuroendocrino del controllo del parto

Il meccanismi neuroendocrini che controllano il parto nella specie suina sono descritti in Fig. 4. Nelle specie suina, il segnale che da inizio al parto è la secrezione di ACTH fetale (1) dovuta ad uno stress causato dallo spazio intrauterino che diventa troppo limitato per i feti. Tale segnale parte dai soggetti più sviluppati, (Wrathall et al., 1977) dove, a livello di ipofisi anteriore inizia la produzione di ACTH (1) che, raggiunte le ghiandole surrenali del suinetto stesso, induce la produzione di cortisolo (2). Arrivando all'utero, il cortisolo induce la produzione delle prostaglandine (PGF2alfa), che (3), riversandosi nel circolo sanguigno della scrofa, raggiungono le ovaie, dove legandosi a propri specifici recettori esplicano una azione luteolitica, oltre a stimolare moderatamente la

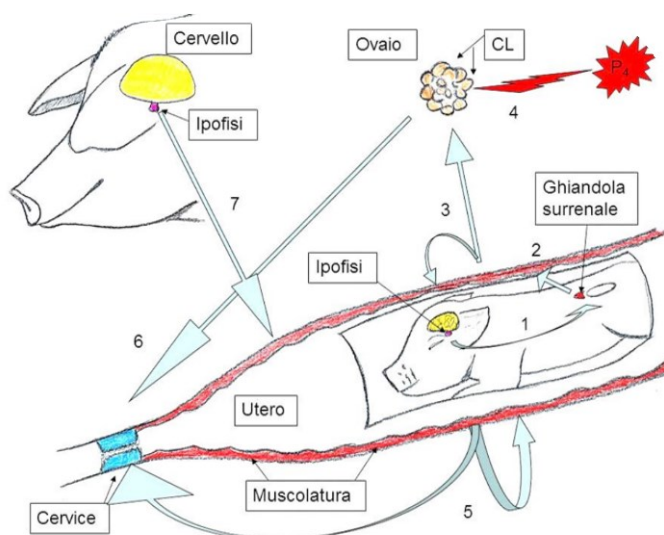


Figura 4: Meccanismo endocrino del controllo del parto

motilità uterina. Il passaggio successivo (4) è una brusca caduta del progesterone con conseguente inizio del parto e l'intervento degli estrogeni. Gli estrogeni (5) sono fra i primi ad intervenire in questo delicato meccanismo. Questi ormoni di origine placentare prodotti progressivamente dalla scrofa (nelle ultime 2-4 settimane di gestazione) agiscono sulla muscolatura dell'utero, promuovono la formazione dei recettori per l'ossitocina, favoriscono lo sviluppo

della mammella e dei meccanismi legati alla lattazione (Bertacchini et al., 2001b; Debenedetti, 1992). Tuttavia, è bene sottolineare che gli estrogeni da soli non sono in grado di innescare il parto. Perché questo abbia inizio, è necessario che sia una caduta dei livelli ematici di progesterone che, come noto, è l'ormone di mantenimento della gravidanza. Nel suino il progesterone è prodotto esclusivamente dal CL e non dalla placenta (Du Mesnil du Buisson et al., 1957) e da ciò deriva il fatto che il CL deve necessariamente essere il primo bersaglio da eliminare per dare inizio al parto.

Con la lisi del CLs ad opera delle PGF₂α rilasciate dall'utero alla fine della gravidanza, entrano in azione anche due ormoni di grande influenza sul parto: la relaxina (6) e l'ossitocina (7). La prima viene liberata a seguito della lisi del CL che la produce e la conserva a partire già dal 28° giorno di gestazione (Gordon, 1997). La relaxina svolge l'importante compito di dilatare la cervice e di allentare i legamenti pelvici per favorire l'espulsione dei nascituri.

All'azione di rimodellamento della cervice partecipano attivamente anche gli estrogeni che sensibilizzano la cervice stessa all'azione della relaxina. L'ossitocina secreta dalla neuroipofisi, aumenta contemporaneamente al crollo dei livelli ematici di progesterone e si innalza ulteriormente durante la fase di espulsione di ciascun feto (Ellendorff et al., 1979). Questo fenomeno, definito "riflesso del Ferguson", si verifica attraverso un meccanismo neuroendocrino determinato dalla distensione della cervice al passare di ciascun feto. L'ossitocina oltre ad indurre delle forti contrazioni uterine che determinano l'espulsione dei feti, induce anche la contrazione delle cellule mioepiteliali a canestro che circondano l'alveolo mammario causandone la spremitura (Debenedetti, 1992) e stimolando così l'eiezione latte.

Dunque sono i feti ad innescare e coordinare il parto ed è interessante osservare che il messaggio ormonale inviato alla madre e responsabile dell'innescamento del parto è dose-dipendente. Perché l'innescamento si realizzi è necessario che vi sia un sufficiente numero di feti maturi all'interno dell'utero, visto che non tutti i suinetti della figliata maturano contemporaneamente. Dziuk (1991) ha dimostrato che alla fine della gestazione sono i feti più maturi ad innescare il parto, decretando così la nascita dell'intera covata. A questo fenomeno viene attribuita una spiegazione per così dire evolutivista: sarebbe in effetti un tentativo da parte della natura di stabilizzare la lunghezza della gravidanza a favore dei feti più sviluppati (Wrathall et al., 1977).

Il parto generalmente è suddiviso in tre fasi (Gordon, 1997; Buxadè et al., 2007):

1. Fase preparatoria al parto;
2. Fase dell'espulsione dei feti;
3. Fase dell'espulsione delle membrane fetali.

Fase preparatoria al parto

Il periodo definito di “pre-parto” inizia 10-14 giorni prima della data prevista per il parto, con lo sviluppo della ghiandola mammaria e la tumefazione della vulva. Spesso è possibile osservare, sulla superficie cutanea della mammella, l’ectasia della caratteristica vena (Carr, 2013b). Dai 3 ai 5 giorni antecedenti il parto si può osservare una spontanea fuoriuscita di latte dai capezzoli che diventa sempre più abbondante, assumendo l’aspetto di veri e propri getti attorno alle 8-24 ore che precedono il parto vero e proprio (Buxadè et al., 2007).

Fra i segni dell’avvicinarsi del parto, un ruolo importante ricoprono certamente la riduzione dell’appetito, uno stato di ipereccitazione ed il tentativo di preparare il nido. Quest’ultimo evento si realizza anche all’interno delle gabbie parto ove, sfortunatamente, quasi mai è disponibile materiale utilizzabile per questo scopo. Il tentativo di prepararsi il nido precede (mediamente di circa 9 ore) l’insorgenza delle doglie e, aspetto molto interessante, è innato anche nella scrofetta, lasciando intuire che non sia una caratteristica acquisita con l’esperienza, quanto piuttosto una caratteristica istintiva di questi mammiferi (Haskell et al., 1994). In effetti, la costruzione del nido ha un ruolo tutt’altro che secondario, poiché è stata associata a un controllo, multi-ormonale multiplo. In particolare, vede coinvolta la prolattina durante la fase d’inizio della preparazione dello stesso e l’ossitocina nella fase di cessazione di questa attività (Castren et al., 1993). In ogni caso coincide con l’incremento della contrattilità dell’utero, tipico delle ultime ore che precedono il parto (Taverne et al., 1979).

Tra 1 e 22 ore prima del parto è inoltre possibile apprezzare un modesto scolo vulvare a carattere mucoso, striato di sangue nel 60% delle scrofe. Nel 25% delle scrofe può essere presente anche il meconio, sottoforma di piccole palline scure che altro non sono che le prime feci espulse dal feto (Buxadè et al., 2007). In quest’ultimo caso è molto probabile che la fase espulsiva sia già iniziata, anche in assenza di suinetti neonati. Da alcuni autori è considerato sintomo da valutare molto attentamente, poiché a volte associabile a parti distocici che richiedono pertanto un’esplorazione immediata per favorire la liberazione del canale del parto (Carr, 2013a).

A circa 10 ore dal parto, anche se con notevole variabilità da soggetto a soggetto, si osserva un rialzo della temperatura di circa 0,5°C (Buxadè, 2007). Infine, 2 o 3 ore prima del parto, e successivamente in corrispondenza dell’espulsione dei suinetti, si osservano le caratteristiche contrazioni della coda e dell’addome (Tarocco, 2000) che in prossimità del parto si verificano con intervalli di 15 minuti ed una durata di circa 10-15 secondi, per divenire più frequenti con l’avvicinarsi dell’espulsione del primo feto.

La prima fase è considerata conclusa con l'apertura della cervice per permettere la successiva espulsione dei suinetti (Carr, 2013a).

Fase dell'espulsione dei feti

Questa fase è caratterizzata dallo sforzo profuso dalla scrofa durante l'espulsione di ciascun feto. L'insorgenza del parto è tuttavia preceduta da una sequenza di cambiamenti ormonali sia di origine materna che fetale. Questi hanno lo scopo di modificare l'equilibrio che si è instaurato e mantenuto durante la gravidanza.

Fase dell'espulsione delle membrane fetali

Questa fase conclusiva del parto e si contraddistingue per l'espulsione delle membrane fetali (placenta fetale o seconda), e del suo contenuto. Solitamente compare fra 1 e 4 ore dalla fuoriuscita dell'ultimo suinetto, anche se non è così infrequente che ne possa nascere ancora uno, vivo o morto, in un secondo momento. Il secondamento deve comunque completarsi entro le 12 ore dall'espulsione dell'ultimo suinetto, dopo di che si è autorizzati a ritenere che vi sia qualche distinzione (Buxadè et al., 2007). In questa fase la scrofa si presenta tranquilla, coricata su un fianco ed emette un caratteristico quanto ritmico grugnito di richiamo per suoi suinetti. Dall'esperienza di campo saper valutare correttamente questo quadro può voler dire chiudere il parto prima della sua reale fine. In alcune situazioni un feto, più spesso uno degli ultimi della covata, può nascere completamente avvolto negli involucri fetali. In questi casi l'assenza di un aiuto esterno in grado di liberare il neonato, può causarne la morte per asfissia (Mazzoni, 2007).

Nei 3-5 giorni successivi all'espulsione della placenta, spesso è presente uno scolo vulvare sieroso trasparente e di lieve entità, che a volte può diventare più denso. Tuttavia se la temperatura rettale, la mammella e l'ingestione di alimento dell'animale sono nella norma, si tratta di un processo trascurabile in quanto tipico del post-parto (Carr, 2013a).

4) La PGF2alfa e l'induzione del parto

Per il suo effetto luteolitico, la PGF2alfa e i suoi analoghi, sono ampiamente utilizzati nelle scrofe per l'induzione del parto; pertanto, in questo modo, se necessario, i parti possono essere sincronizzati e l'assistenza al parto e le adozioni facilitate.

Il mantenimento della gravidanza è diverso a secondo delle specie domestiche considerate: nei bovini e negli equini a fine gestazione, la placenta, oltre al CL, produce il progesterone necessario per il mantenimento della gravidanza (Meites et al., 1951; Perry et al., 1976; Cates et al., 1963); mentre nel suino e la capra è solo il CL ad avere questo effetto. Perciò nella scrofa la

somministrazione di PGF2alfa durante il periodo della gravidanza, determinando la luteolisi, riduce i livelli ematici di progesterone e di conseguenza la gravidanza s'interrompe.

Quando si sincronizzano i parti, bisogna fare molta attenzione a non eseguire il trattamento con troppo anticipo rispetto la data attesa del parto stesso, per evitare la nascita di suinetti prematuri e compromettere la successiva lattazione. È stato riportato che i parti non devono essere anticipati di oltre 48 ore dalla data di attesa del parto naturale. Quindi, per essere sicuri di fare il trattamento nel momento corretto sarebbe bene prima verificare la media della durata della gravidanza all'interno dell'azienda in cui interveniamo, in quanto, ogni azienda ha una sua durata media di gravidanza che oscilla tra i 114 ed i 116 giorni. Alcuni protocolli d'induzione dei parti sono descritti in tabella 2.

Protocollo di induzione	114° giorno Mattino (giorno precedente al parto previsto)	114° giorno Pomeriggio (giorno precedente al parto previsto)	115° giorno Mattino (giorno del parto previsto)	Parti previsti
Protocollo A	PGF2a ore 08:00	/	Ossitocina ore 08:00	75-80% fra le 08:30 e le 13:00
Protocollo B	PGF2a ore 08:00	PGF2a +6:00 ore dal primo	/	75-80% fra le 08:30 e le 18:00
Protocollo C	PGF2a ore 12:00	/	Carazololo ore 08:00	80-85% fra le 10:00 e 13:00

Tabella 2: Protocolli d'induzione del parto mediante la somministrazione di prostaglandine (PGF2alfa) al 114° giorno di gestazione con parto previsto il 115°

Protocollo A

Al fine della sincronizzazione dei parti, l'utilizzo delle PGF2alfa sintetiche si è rivelato di maggiore efficacia rispetto alle PGF2alfa naturali (Widowwski et al., 1990), poichè oltre a concentrare meglio i parti, esse riducono al minimo gli effetti secondari (irrequietezza, aumento della frequenza respiratoria, salivazione, tendenza a urinare e defecare, tendenza a rampare e mordere).

Per ottenere una maggiore sincronizzazione, sin dalla fine degli anni '70 (Welk et al., 1979) è stato introdotto l'uso dell'ossitocina (intramuscolare) che

aumentando la motilità dell'utero, favorisce l'induzione e la sincronizzazione del parto. La sua somministrazione è prevista fra le 20 e le 24 ore dalla PGF2alfa facendo attenzione al fatto che dosaggi superiori alle 20UI di ossitocina sono in grado di produrre una sovrastimolazione della muscolatura uterina, con conseguente "esaurimento funzionale" dell'utero gravido fino all'ipocalcemia (Motas-Rojas et al., 2002). Di conseguenza in fase d'induzione, l'ossitocina deve essere usata con molta prudenza e sarebbe opportuno limitarla ad un dosaggio massimo fra le 5 UI e le 15 UI.

In alternativa all'ossitocina, buoni risultati sono stati ottenuti con l'impiego intramuscolare di un suo analogo a lento rilascio, la carbetocina, sempre però preceduta di 24 ore dalle PGF2alfa (Engl et al., 2006). Infatti, ad un dosaggio di 35 µg, la carbetocina è in grado di accorciare i tempi di insorgenza del parto (da 1:25 a 2:40 dalla somministrazione), oltre che la sua durata (circa 3 ore), rispetto alla somministrazione dell'ossitocina naturale.

Protocollo B

L'induzione con questo protocollo ha le sue radici, ancora una volta, nella fisiologia del parto. In effetti, ricalca l'attività pulsatile con cui vengono rilasciate le PGF2alfa dall'utero durante l'insorgenza del parto. Ne consegue che la somministrazione di un'unica dose di PGF2alfa, vista nel protocollo A, potrebbe risultare insufficiente per mantenere il segnale di innesco del parto. Pertanto viene così spiegata l'idea di una seconda somministrazione di PGF2alfa a distanza di 6 ore dalla prima (Kirkwood et al., 1998; De Rensis et al., 2002), che ha permesso di allungare nel tempo questo segnale, simulando così più da vicino quello che avviene in natura.

Uno degli aspetti più interessanti di questo protocollo di induzione è quello dell'innocuità sulla salute dei neonati. Inoltre esso non sembra influenzare nemmeno la durata del parto e la produzione di latte, che, infatti, rimangono invariate rispetto ai parti non indotti.

Protocollo C

E' probabilmente quello meno usato, anche se il suo impiego potrebbe avere applicazioni molto interessanti. Infatti, durante la gravidanza, la presenza di elevati livelli ematici di progesterone induce una prevalenza di recettori beta adrenergici sulle cellule muscolari lisce dell'utero che ne inibiscono le contrattilità. Per cui l'utero si mantiene quiescente. Al momento del parto, con la riduzione dei livelli ematici di progesterone e l'aumento di quelli di estrogeni, la situazione si modifica radicalmente e prevalgono i recettori alfa adrenergici che hanno una azione di stimolo sulla contrattilità

uterina. Sotto l'effetto dello stress, oltre che del dolore indotto dal parto, l'organismo della scrofa libera infatti i così detti "mediatori dello stress" (endorfine), che deprimono l'attività muscolare dell'utero. La somministrazione di carazololo, un beta bloccante, promuove sulle cellule muscolari lisce uterine, la prevalenza dei recettori alfa adrenergici, stimolando così le contrazioni uterine. Alla dose di 3.0 mg/capo, somministrati per via intramuscolare a 20 ore di distanza dalla PGF2alfa, il carazololo induce il parto in oltre l'80% delle scrofe trattate nel giro di poco più di 2,5 ore dalla somministrazione (Holz et al., 1990). Tale tempo può essere ulteriormente ridotto (a circa 1:45 ore) con la contemporanea somministrazione di 2.5 UI di ossitocina, anche se come effetto indesiderato si riscontra un incremento degli interventi di assistenza alla scrofa.

Sede di inoculo e dosaggio delle prostaglandine

Le prostaglandine sono state somministrate per via intramuscolare (i.m.), che prevede l'iniezione di volumi di 0,7 - 1 ml di prodotto (cloprostenolo ed alfaprostol rispettivamente a 0,175 e a 2 mg/capo: First et al., 1982; Vigo et al., 1996), e all'interno della mucosa della vulva (VM) (Friendship et al., 1990; Perestrelo et al., 1986).

Si è quindi giunti alla via perivulvare (PV) o perianale (PA) (Kirkwood et al., 1996) che comporta l'iniezione della PGF2alfa nella fossetta a lato dell'ano ed in prossimità della vulva in una posizione ad ore 4:00 od 8:00 rispetto all'ano stesso (Foto 1). Questa somministrazione può essere effettuata utilizzando un ago da insulina riducendo così significativamente il discomfort dell'animale. Tramite questa via di somministrazione è possibile ridurre del 50% il volume della PGF2alfa determinando un vantaggio economico oltre che pratico. Il funzionamento di questa via d'inoculo, potrebbe essere dovuto al fatto che i vasi venosi e linfatici dell'apparato riproduttore femminile, sono altamente interconnessi fra loro, permettendo così di fatto il passaggio della PGF2alfa dal torrente linfatico a quello circolatorio direttamente in loco. Questo eviterebbe alle prostaglandine di essere metabolizzate a livello polmonare presentandosi in forma ancora attiva a livello ovarico, quindi sul corpo luteo anche ad un dosaggio inferiore (Oxenreider et al., 1965; Stefanczyk-Krzyszowska et al., 2005). Un'ulteriore segnalazione riguarda l'iniezione i.m. nel muscolo obliquo esterno



Foto 1: Corretto punto di reperi per l'iniezione perivulvare/perianale nella scrofa

dell'addome (AB) (Gunvaldsen et al., 2007), in corrispondenza di una linea immaginaria che corre parallela alla ghiandola mammaria. Questa sede di somministrazione si presenta come valida alternativa alla via perivulvare, soprattutto quando quest'ultima risulti inaccessibile per le posizione assunta dalla scrofa all'interno della gabbia parto.

5) Il trattamento con PGF2alfa subito dopo il parto

Tra i campi di applicazione delle PGF2alfa, quello nel post-partum, è uno degli argomenti che ha destato un grande interesse tra i ricercatori negli ultimi anni. Non sempre questi risultati sono ripetibili e le differenze osservate possono avere dovuto anche al tipo di prostaglandina utilizzata (naturale o un suo analogo) e al tipo di protocollo sperimentale o altri fattori ancora da identificare. Pur tuttavia, tenendo presente che i dati raccolti vanno sempre ricollegati alle aziende di partenza e non offrono garanzie di riproporsi nella stessa misura in altre realtà, riteniamo sia opportuno riassumere brevemente ciò che emerge da queste ricerche.

Koketsu e Dial (2002), operando in un allevamento USA di 4.000 scrofe con svezzamento precoce (18 giorni), hanno osservato che le PGF2 α , somministrate a 1592 scrofe in unica somministrazione 24-48h dopo il parto, aumentano in modo significativo ($P < 0.05$) il numero di suinetti nati vivi al parto successivo, ma solo nelle scrofe dopo il 3° parto. In quelle di 1°-2° parto la tendenza era presente, ma non significativa ($P=0.14$). Gli autori hanno osservato inoltre che all'aumentare della durata di lattazione questa differenza tra i due gruppi tendeva ad annullarsi. Per tentare di spiegare il fenomeno, è stato ipotizzato che l'involutione uterina nelle scrofe di media-lunga carriera fosse più lenta e difficoltosa rispetto alle primipare/secondipare, così come osservato nella bovina.

Keita et al. (2006) hanno invece condotto uno studio comparativo in tre allevamenti francesi (Bretagna) colpiti da problemi riproduttivi (ritorni in calore $> 20\%$). Alle scrofe del gruppo trattato (n 269) è stato somministrato 24-48 ore dopo il parto un analogo di sintesi delle PGF2alfa, a quelle del gruppo controllo (n 277) un placebo. Mentre l'intervallo svezzamento-estro ed il tasso di ritorni non hanno mostrato differenze significative tra i due gruppi, la prolificità (numero nati totali/parto) è risultata maggiore nel gruppo trattato ($P > 0.05$) rispetto ai controlli con un aumento compreso tra 0,8 e 1,4 suinetti/parto in ciascuno dei tre allevamenti. Non sono state invece osservate differenze tra le varie categorie di parto delle scrofe.

Vanderhaeghe et al. (2008) hanno esteso il loro studio a cinque allevamenti belgi senza particolari problemi riproduttivi, includendo un totale di 354 scrofe con durata media di lattazione di 21 giorni. Anche in questo caso, il gruppo trattato ha ricevuto per via i.m. un analogo di sintesi

delle PGF2alfa 24-48 ore dopo il parto, il gruppo controllo un placebo. I vari parametri riproduttivi considerati non hanno mostrato differenze significative tra i due gruppi, inclusa la prolificità considerata globalmente. Segmentando però il campione per ordine di parto, è

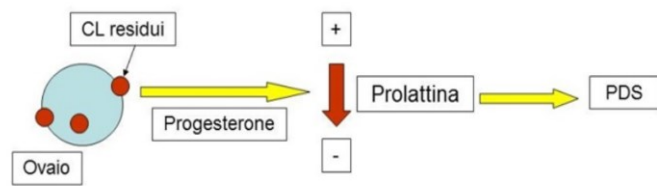


Figura 5: Dinamica della genesi della PDS ad inizio lattazione nella scrofa.

emerso che le scrofe dal 7° parto in avanti mostravano una maggior prolificità nel gruppo trattato ($P < 0.05$) e che la tendenza all'aumento, presente in tutti gli ordini di parto, diventava via via più evidente con l'aumentare dell'età. Gli autori hanno ipotizzato che una migliore involuzione uterina possa creare le condizioni per una minore mortalità embrionale in fase di annidamento, soprattutto nelle scrofe di lunga carriera.

Per cui, i lavori sopra esposti insieme ad altri (Einarsson et al., 1975; Schoffield et al., 1999; Melendez et al., 2004) indicano che la somministrazione di PGF2alfa, dopo il parto, velocizza l'involuzione uterina, riducendo il rischio di endometriti (Einarsson et al., 1975). Questo permetterebbe agli animali di esprimere a pieno il loro potenziale riproduttivo (Schoffield et al., 1999; Melendez et al., 2004). Inoltre, a seguito del trattamento con PGF2alfa, è stata documentata una riduzione dell'intervallo svezzamento-estro e un incremento del numero di suinetti nati vivi nella successiva nidata (Lorenzo et al., 1992; Flaus et al., 1994; Lauderdale et al., 1988; Koketsu et al., 1997). Il trattamento con PGF2alfa ha inoltre incrementato il peso dei suinetti allo svezzamento e ha ridotto la mortalità neonatale (Vanderhaeghe et al., 2008).

La somministrazione di PGF2alfa dopo il parto sembra anche in grado di contrastare l'incidenza della sindrome da agalassia post-partum (PDS) (Klopfenstein et al., 2006). Infatti un possibile meccanismo alla base di tale sindrome, può essere dovuto all'incompleta luteolisi, quindi alla presenza di inappropriate concentrazioni di progesterone ad inizio lattazione (Figura 5) (De Passillé et al., 1993). La somministrazione di PGF2alfa, in grado di causare la luteolisi completa, può evitare che ci sia del progesterone circolante a compromettere la produzione di latte nella scrofa e quindi indurre la PDS. E' stato riportato che questo effetto della somministrazione di PGF2alfa si osservi solo in presenza di segni clinici, come scoli vulvari (Kirkwood, 1999b).

6) La somministrazione di PGF2alfa al momento dell'inseminazione

Le PGF sono coinvolte nei meccanismi che regolano l'ovulazione. Infatti, il picco preovulatorio di LH stimola l'incremento della sintesi intra follicolare di PGF2alfa che, a sua volta,

stimola l'attivazione di enzimi quali la collagenasi e l'elastasi coinvolti nella rottura del follicolo (Ainsworth et al., 1990).

A riprova di questo, l'infusione trans cervicale di PGF2alfa porta a un incremento intra follicolare nella concentrazione di PGF2alfa e stimola l'ovulazione approssimativamente nell'arco di 12 ore (Ainsworth et al., 1975). Inoltre la somministrazione di 500 microgrammi di cloprostenolo anticipa l'ovulazione nelle scrofette prepuberi trattate con eCG/hCG (Srikandakumar et al., 1989).

Le PGF sono anche coinvolte nei meccanismi che regolano le contrazioni uterine al momento dell'inseminazione (Langendijk et al. 2002). E' stato riportato che la somministrazione di PGF2alfa con il plasma seminale al momento dell'inseminazione, possa migliorare la fertilità e le dimensioni della nidata (Pena et al., 1998; 2000; 2001; Kos et al., 2004). Questo effetto positivo delle PGF2alfa è evidente nei periodi dell'anno in cui la fertilità si abbassa, ad esempio nel periodo estivo, quando gli animali sono soggetti allo stress termico, oppure nel contesto dei ritorni in estro sulle scrofe svezzate. In ogni caso il miglioramento della fertilità, derivante dall'impiego delle PGF2alfa, è comunque maggiormente evidente nelle aziende dove la stessa non ha prestazioni elevate.

Le cause di questi effetti delle PGF2alfa non sono stati ancora ben chiariti, ma è ragionevole presumere che l'azione delle prostaglandine è mediata dall'attività che hanno sul miometrio (Langendijk et al., 2002) e quindi sul trasporto del seme verso l'ovidutto, tuttavia anche l'attività sull'induzione dell'ovulazione non può essere ignorata (Claus, 1990).

Parte Generale

CAPITOLO 2

Metodiche di induzione e sincronizzazione dell'estro nelle scrofette

Uno dei punti chiave per massimizzare la produttività aziendale è quello di monitorare la curva di distribuzione degli ordini di parto delle scrofe, impostando un piano di rimonta che permetta di mantenere una determinata percentuale di animali all'interno di ogni categoria di parto.

Come mostrato dalla figura 6, per massimizzare la produttività, circa il 40% degli animali presenti deve essere compresa nel terzo, quarto e quinto parto (Carr, 2013b).

Per arrivare a questo risultato l'allevatore dovrà, per ogni ciclo produttivo, avere disponibili un determinato numero di animali, tenendo presente che in ognuna delle categorie ci possano essere animali riformati per varie cause.

Al fine di raggiungere questi obiettivi, nell'azienda suinicola moderna, è necessario disporre di un pool di scrofette sufficienti per garantire la rimonta delle scrofe da riforma a integrazione di quelle bande di copertura che, per vari motivi, hanno perduto gravidanze lungo il percorso. Per questo motivo, è necessario avere un numero congruo di scrofette per compensare queste deficienze e per raggiungere questi obiettivi.

Tuttavia questo può non essere sufficiente. Infatti, è spesso necessario non solo disporre di questi giovani riproduttori, ma è anche necessario che vengano in estro nel momento in cui ne ha bisogno l'azienda. Con il termine d'induzione dell'estro, si intende l'attività volta ad anticipare l'estro e l'ovulazione rispetto a quello che sarebbe il momento fisiologico, mentre con il termine sincronizzazione, si intende l'attività volta al raggruppamento degli estri in un predeterminato periodo. Poter

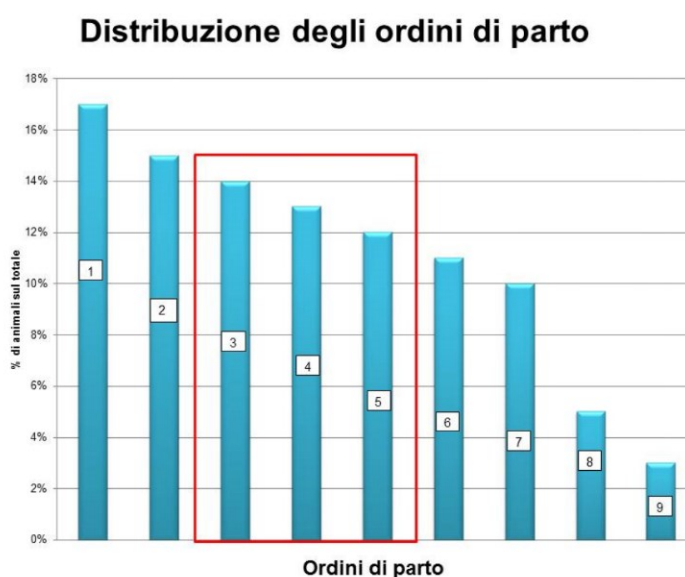


Figura 6: Produttività delle scrofe in base all'ordine di parto Carr (2013b)

utilizzare dei protocolli di induzione e sincronizzazione degli estri nelle scrofette che siano efficaci, diventa oggi giorno veramente indispensabile, anche per ridurre il numero di scrofette da mantenere per la rimonta interna, limitandone così i costi di gestione.

Diversi sono i sistemi conosciuti per l'induzione e la sincronizzazione dell'estro nella scrofetta. Possiamo essenzialmente dividerli in tre gruppi:

- Effetto verro
- Uso delle gonadotropine
- Uso di progesterone o analoghi del progesterone

1) L'effetto verro

L' "effetto verro" o "esposizione al verro" è una delle tecniche più utilizzate nell'ambito della suinicoltura. Tale tecnica, oltre a stimolare e sincronizzare gli estri, migliora la prolificità delle scrofette.

Il principale meccanismo di stimolazione da parte del verro si basa sulla produzione di feromoni, come ad esempio il 5 α -androsteneone ed il 3 α -androsteneolo. Queste sostanze sono contenute in elevate quantità sia nelle urine che nella saliva del verro e, tramite la via olfattiva, stimolano il funzionamento dell'asse ipotalamico-ipofisario della scrofetta (Signoret, 1970; Pearce e Hughes, 1987). La stimolazione da parte del verro induce un aumento della produzione di GnRH ed il rilascio di LH che a sua volta stimola lo sviluppo follicolare e l'ovulazione. Secondo alcuni autori l'input che induce l'aumento della secrezione di GnRH, è dovuto all'aumento dei livelli ematici di cortisolo conseguenti ad una sorta di "stress" dovuto all'interazione tra il verro e la scrofa. (Pearce et al., 1988).

Tale teoria dello stress, trova la conferma anche in quegli studi che dimostrano come lo stress da trasporto, oltre che a quello dovuto alla formazione dei gruppi in box, possono indurre e sincronizzare gli estri, agendo in maniera simile proprio all'effetto verro (Hughes et al., 1990).

Da un punto di vista pratico, l'effetto verro si ottiene mediante la presentazione del verro a scrofette prepuberi di circa 150 giorni di età. Questo stimola la comparsa degli estri in un periodo di tempo variabile dai 7 ai 20 giorni, favorendo anche la sincronizzazione del gruppo (Hughes et al., 1990). E' stato stimato che il massimo effetto si ottiene con due esposizioni di circa 15 minuti ciascuna, effettuate giornalmente, cambiando di volta in volta il verro utilizzato (Caton et al., 1986; Hughes et al., 1990), mentre se il contatto dura oltre i 15 minuti, si induce nella scrofetta un adattamento progressivo alla presenza del maschio (Deligeorgis et al., 1984) che incide

negativamente sulle manifestazioni estrali. La cosa migliore sarebbe quella di portare le scrofette dal verro o, meglio ancora, entrambe le categorie di animali in spazi predisposti per questa attività.

La presenza del verro è importante non solo per il rilevamento degli estri, ma anche perché aumenta significativamente sia la fertilità che la prolificità della scrofetta. E' quindi molto importante che il verro sia presente al momento dell'inseminazione.

2) Uso delle gonadotropine sulle scrofette prepuberi

Le gonadotropine che sono maggiormente utilizzate in suinicoltura sono l'eCG (equin Corionic Gonadotropin), l'hCG (human Corionic Gonadotropin) o, molto più spesso, una miscela delle prime due (eCG+hCG). Quest'ultima ha avuto il suo capostipite nel PG600 (Intervet America Inc., Millsboro, DE). Si tratta di una combinazione di 400 UI di gonadotropina sierica di cavalla gravida (eCG) e di 200 UI della gonadotropina corionica umana (hCG). L'eCG mima l'azione sia dell'FSH che dell'LH, mentre l'hCG mima l'azione dell'LH.

Britt et al. (1989) per primi hanno dimostrato che è possibile indurre estri fertili nelle scrofette prepuberi mediante il trattamento con il PG600. Nello studio sono state utilizzate 678 scrofette provenienti da 10 allevamenti. Le scrofette sono state suddivise in un gruppo trattato con PG 600 ed un gruppo non trattato di controllo. L'estro è stato determinato una volta al giorno per 28 giorni consecutivi. In questo studio il 97% delle scrofette trattate con PG600 ha manifestato l'estro entro 7 giorni dalla somministrazione della gonadotropina, contro un 64% delle scrofette non trattate. Inoltre, sempre negli animali trattati è stato osservato un incremento del tasso di ovulazione rispetto alle non trattate (16.9 vs 15.2, rispettivamente). Il tasso di gravidanza, le dimensioni della nidiata, il numero di suinetti svezzati e le performance all'inseminazione successiva allo svezzamento sono state simili tra il gruppo trattato e quello di controllo.

In conclusione, questo lavoro indica che la somministrazione di PG600 nelle scrofette prepuberi riduce l'intervallo necessario per presentare il primo estro ed aumenta la precisione della sincronizzazione dell'estro. Avere un maggior numero di scrofette che manifesta l'estro al momento prestabilito permette di programmare in maniera più efficiente le inseminazioni, ottimizzando così la gestione dei flussi, e di conseguenza i parti.

Ad ulteriore conferma di quanto già dimostrato da Britt et al. (1989) sulla capacità del PG600 di stimolare estro ed ovulazione, Tilton et al. (1995) hanno valutato la risposta delle scrofette prepuberi al trattamento ormonale con PG600 a 140 giorni di età. Le scrofette di questo studio sono state divise in 2 gruppi: trattate con PG600 e non trattate. Tutte le scrofette sono state esposte al verro due volte al giorno al fine di rilevarne l'estro. Inoltre sono stati fatti prelievi ematici prima

della somministrazione e 48 ore dopo il primo rilevamento dell'estro per valutare i livelli di progesterone. In ultimo tutte le scrofette sono state sottoposte a laparotomia entro 14 gg dal trattamento per determinarne il tasso di ovulazione e il numero di cisti follicolari presenti. I risultati di questo studio sono stati che il numero di scrofette in estro è stato maggiore nel gruppo trattato con PG600 (69.6%) rispetto al gruppo controllo (29.6%) e le scrofette trattate hanno manifestato l'estro entro 5 giorni dal trattamento. Il 99% delle scrofette trattate ha ovulato entro 14 giorni mentre la percentuale di scrofette di controllo che hanno ovulato è stata del 90.4%. Non ci sono state differenze nel tasso di ovulazione. I livelli di progesterone prima del trattamento sono stati simili tra i gruppi per poi tendere ad aumentare ($P=0.13$) nelle scrofette trattate (5.9 ng/mL) 48 ore dopo il primo rilevamento dell'estro, rispetto al gruppo controllo (2.4 ng/mL). Infine, una percentuale più alta ($P<0.05$) di scrofette trattate con PG600 (79%) ha presentato delle cisti follicolari rispetto al gruppo controllo (12.0%). In conclusione, questo lavoro conferma gli studi precedenti di Britt et al., (1989) che la somministrazione di PG600 è in grado di stimolare con successo la comparsa dell'estro e l'ovulazione nelle scrofette prepuberi.

Estienne e Hartsock, (1997) hanno realizzato una prova dove delle scrofe al 4°-5° parto sono state suddivise in due gruppi: un gruppo trattato con PG600 ed un gruppo controllo. La ricerca dell'estro nelle scrofe è stata eseguita ogni 24 ore in presenza di un verro adulto. Le scrofe sono state inseminate entro le 24 ore dopo la prima rilevazione del riflesso di immobilità. I risultati sono stati che il 97.1% delle scrofe trattate con PG600 è andata in estro entro 7 giorni dallo svezzamento, contro l'82.9% del gruppo controllo ($P<0.01$). Inoltre, nelle scrofe trattate con PG 600 l'intervallo trattamento-estro era stato più breve rispetto alle scrofe di controllo (3.8 ± 0.1 giorni vs. 4.5 ± 0.1 giorni ($P>0.01$)). In quest'ultimo gruppo però, il numero di scrofe che avevano partorito (96.6%) era maggiore rispetto a quelle del gruppo trattamento (con PG600, 82.3%). Gli autori ipotizzarono che il tasso di gravidanza delle scrofe trattate fosse più basso a causa di una percentuale di ovulazioni ridotta, a seguito del trattamento con PG600 e non per una perdita di embrioni durante la gravidanza.

In uno studio simile, Bates et al. (1991) hanno valutato le performance di scrofe trattate con PG600 allo svezzamento sempre nel contesto estivo. In tale studio le scrofe provenienti da otto differenti allevamenti collocati in tre stati diversi e di ordine di parto compreso fra il 1° e il 3°, sono state divise in due gruppi. Al primo gruppo è stato somministrato il PG600, mentre il secondo è stato utilizzato come controllo. Le scrofe sono state poi esposte al contatto con un verro una volta al giorno per rilevare l'estro. In seguito al primo rilevamento dell'estro, le scrofe sono state inseminate giornalmente finché è durato l'estro. I risultati sono stati che il trattamento con PG600 non ha

modificato il numero di scrofe in estro entro il 28° giorno dallo svezzamento. Tuttavia è stata osservata una riduzione ($P < 0.05$) del numero di giorni intercorrenti tra lo svezzamento e il primo estro per le scrofe di primo (6.0 vs 7.8 giorni) e di secondo (4.8 vs 6.4 giorni) parto rispetto ai controlli. E' stata osservata anche una riduzione ($P < 0.05$) nella percentuale di scrofe di primo parto in anestro nel gruppo trattato (15.6%) rispetto ai controlli (29.2%). Non vi sono state differenze tra le scrofe di terzo parto per quanto riguarda i giorni di comparsa del primo estro dopo il trattamento (5.5 vs 5.6 rispettivamente) o sulla percentuale di scrofe in anestro (8.2% vs 10.4 % rispettivamente). Infine, in contrasto con i risultati ottenuti nello studio di Estienne e Hartsock (1997), il numero totale di suinetti nati vivi è stato inferiore ($P = 0.02$) per le scrofette trattate con PG 600 (10,1) rispetto a quelle di controllo (10,55).

I risultati di questo studio indicano che il trattamento con PG 600 delle scrofe di primo e secondo parto, ma non nelle scrofe con altri ordini di parto, è in grado durante il periodo estivo di indurre estri fertili e di ridurre l'intervallo svezzamento-estro.

Anche l'efficacia sui parametri riproduttivi della somministrazione sottocutanea o intramuscolare del PG600 è stata indagata. Knox et al. (2000) hanno confrontato l'effetto sulla comparsa dell'estro e sull'ovulazione in scrofette, trattate con PG600 per via sottocutanea (SC), o per via intramuscolare (i.m.). Le scrofette sono state divise in 3 gruppi di trattamento: 1) Gruppo PG600 SC: il PG600 è stato somministrato per via sottocutanea nel fianco; 2) Gruppo PG 600 IM: Il PG600 è stato somministrato per via intramuscolare nel collo; 3) Gruppo Controllo: nessun trattamento (controllo). Dopo il trattamento, le scrofette sono state collocate in box dove sono stati effettuati i rilevamenti degli estri utilizzando un verro adulto per una volta al giorno. Tale attività è stata protratta per 17 giorni consecutivi dall'inizio del trattamento. Al 17° giorno le scrofette sono state macellate e le ovaie sono state rimosse per valutare la presenza dei corpi lutei, di cisti follicolari e di cisti luteiniche. I risultati hanno evidenziato che un numero significativamente ($P < 0.01$) più elevato di scrofette trattate col PG600 per via SC (76%) hanno manifestato l'estro rispetto a quelle che avevano ricevuto la stessa somministrazione ma per via i.m. (52%). Negli animali di controllo, solo un 15% delle scrofette hanno manifestato l'estro durante lo stesso periodo. Anche l'intervallo trattamento-estro è stato ridotto nel gruppo trattato con PG 600, del gruppo di controllo (4.6 giorni rispetto 5.9 giorni). Il numero di ovulazioni è stato maggiore nei trattati rispetto ai controlli. Non sono state rilevate differenze significative tra i tre gruppi relativamente al numero di corpi lutei, cisti follicolari o cisti luteiniche. Pertanto, i risultati di questo studio indicano che il trattamento delle scrofette con PG600 per via sottocutanea è efficace quanto la somministrazione per via intramuscolare (Knox et al., 2000).

Infine, Wrathall et al. (1986) hanno verificato se il trattamento con il PG600 sia in grado di sincronizzare ed anticipare la comparsa dell'estro dopo lo svezzamento durante il periodo estivo, quando la fertilità degli animali è ridotta. I risultati sono stati che c'è un abbassamento dei livelli ematici di progesterone e di LH e come conseguenza un ritardo nell'insorgenza della pubertà nelle scrofette e un allungamento dei tempi dell'intervallo svezzamento-estro nelle scrofe.

3) Uso del progesterone o del suo analogo, l'Alliltrembolone.

Un metodo efficace per sincronizzare il momento dell'estro e l'ovulazione nelle scrofette, senza ridurre la fertilità, è stato messo a punto alla fine degli anni 70 grazie all'impiego di un progestinico di sintesi chiamato Alliltrembolone. La somministrazione di tale progestinico, mima l'attività biologica del progesterone endogeno e quindi blocca la secrezione delle gonadotropine (FSH ed LH) da parte dell'ipofisi e quindi la crescita e lo sviluppo follicolare impedendo così la comparsa dell'estro e l'ovulazione. Una volta terminata la somministrazione del progestinico, si verifica un aumento della secrezione di gonadotropine LH e FSH, inizia la crescita e lo sviluppo follicolare ed entro 4-7 giorni dalla fine del trattamento si ha la comparsa dell'estro e l'ovulazione (Kirkwood, 1999a).

L'Alliltrembolone (15 o 20 mg/scrofetta) va somministrato per via orale una volta al giorno per 14 o 18 giorni consecutivi come top-dressinig nella razione giornaliera in modo che ciascuna scrofetta ne possa assumere la quantità corretta.

Redmer e Day (1981) hanno valutato l'attività ovarica e i pattern ormonali di scrofette a cui è stato somministrato l'Alliltrembolone alla dose di 2.5 mg o di 15 mg. I risultati hanno messo in evidenza che i livelli di LH durante il trattamento con il progestinico si sono ridotti ad entrambi i dosaggi utilizzati (<1 ng/ml e <1.5 ng/ml rispettivamente). I livelli plasmatici di estradiolo sono aumentati maggiormente nelle scrofette che avevano ricevuto un dosaggio di 2.5 mg rispetto a quelle che ne avevano ricevuto 15 mg (da 7 a 13 pg/ml vs 2.5 pg/ml; $P < 0.01$). Nelle scrofette trattate con 15 mg/giorno di Alliltrembolone, il picco pre-ovulatorio di LH (4 ng/mL) è comparso il primo giorno dell'estro successivo al trattamento. Le scrofette trattate con 2.5 mg di Alliltrembolone, rispetto alle scrofette trattate con 15 mg., hanno presentato un numero ed uno sviluppo maggiore di follicoli ma anche una maggiore frequenza di cisti follicolari. Di conseguenza, la somministrazione di 15 mg di Alliltrembolone sembra essere più efficace per la sincronizzazione rispetto alla somministrazione di 2.5 mg in quanto sopprime completamente lo sviluppo follicolare mentre il dosaggio minore (2.5 mg) non ci riesce e quindi il controllo dell'attività ovarica è meno efficace. A conferma di questo, lo studio indica anche che l'incidenza di cisti follicolari e di anestri

è stata maggiore nelle scrofette trattate con 2.5 rispetto a quelle trattate con 15 mg di Alliltrembolone (11.1% vs 58.3% rispettivamente per le scrofette trattate con 15 mg e 2.5 mg).

In altri studi è stato valutato l'effetto del trattamento con Alliltrembolone non solo sulla fertilità ma anche sulla consistenza delle nidiate (Redmer e Day, 1981; Martinat-Botte et al., 1990). Le scrofette sono state sottoposte alla ricerca dell'estro per assicurarsi che ciclassero. Gli animali (n=525) sono stati quindi suddivisi in due gruppi: un gruppo di controllo (n=281) e un gruppo di trattamento (n=244) a cui è stata somministrata una dose di 20 mg di Alliltrembolone per 18 gg. I risultati hanno mostrato che il 96% delle scrofette trattate sono andate in estro tra 4 e i 7 giorni dalla fine del trattamento. In seguito all'inseminazione, il tasso di animali che hanno partorito (88.4% vs 80.0%) e il numero di suinetti nati (9.6 vs 9.1) è stato maggiore per le scrofette trattate rispetto a quelle di controllo. Perciò, in questo studio, come in quello di Redmer e Day (1981), il trattamento con il progestinico è stato in grado non solo di sincronizzare l'estro, ma anche di incrementare il numero di suinetti nati (Martinat-Botte et al., 1990).

In seguito, Martinat-Botte et al. (1995), allo scopo di comprendere i fattori coinvolti nell'incremento della prolificità osservata nello studio precedente (Martinat-Botte et al., 1990), hanno poi condotto uno studio in cui hanno determinato gli effetti del trattamento con Alliltrembolone sul tasso di ovulazione e sulla sopravvivenza fetale. 227 scrofette della stessa genetica sono state sottoposte alla ricerca dell'estro per essere certi che ciclassero prima della prova. Quindi sono state suddivise in due gruppi di trattamento: un gruppo trattato con 20 mg di Alliltrembolone per 18 gg (n=103) e un gruppo non trattato di controllo (n=124). Le scrofette sono state inseminate 12 e 36 ore dopo l'inizio del loro secondo estro. Complessivamente, il 93% delle scrofette nel gruppo trattato ha manifestato l'estro entro il 5° e 7° giorni dopo il trattamento. Il tasso di ovulazione è stato significativamente più alto (15.4 ± 0.3 vs 14.6 ± 0.3) per le scrofette trattate con Alliltrembolone rispetto al gruppo di controllo e il tasso di gravidanza determinato mediante esame ecografico al 22° e al 4° giorno dopo l'inseminazione è stato maggiore nelle scrofette trattate (94.2% e 89.3% rispettivamente) rispetto al gruppo di controllo (81.4% e 77.4% rispettivamente). In questo lavoro, tuttavia, il numero di feti per scrofetta gravida (9.8 ± 0.1 vs 9.5 ± 0.1) e il tasso di sopravvivenza fetale non sono stati influenzati dal trattamento con Alliltrembolone. In conclusione, questo studio conferma che il trattamento con Alliltrembolone è in grado di sincronizzare l'estro nella scrofetta ma, a differenza di altri studi, risulta inefficace sul numero di suinetti nati.

Anche nello studio di Stevenson e Davis, (1982) è stato valutato l'effetto della durata del trattamento con progestinico sulla sincronizzazione degli estri e sulla fertilità, ma tenendo anche in considerazione la fase del ciclo estrale in cui è stato iniziato il trattamento. In un gruppo di animali

il trattamento ha avuto inizio durante la fase follicolare del ciclo, quando i livelli di progesterone sono molto bassi od assenti, viceversa in un altro gruppo, la somministrazione è avvenuta durante la fase luteinica del ciclo e, quindi, in presenza di alti livelli di progesterone. In questo studio, 160 scrofette scelte fra i 6 e gli 11 mesi di vita e sono state sottoposte alla ricerca degli estri due volte al giorno a partire dal terzo giorno dopo l'ultima somministrazione di Alliltrembolone, e sono state inseminate 12 e 24 ore dopo il rilevamento dell'estro. Sono stati fatti dei prelievi di sangue per valutare gli effetti del trattamento sui livelli ematici di progesterone. I risultati dello studio sono stati che il trattamento con Alliltrembolone ha sincronizzato gli estri nell'80-85% delle scrofette e che gli estri sono comparsi al 3°, 4° o 5° giorno successivo alla sospensione del progestinico. Non ci sono state differenze significative dovute alla durata del trattamento (14 o 18 giorni). E' stato comunque rilevato che la maggior parte delle scrofette trattate per 18 giorni andavano in estro nel giorno del "picco", cioè al 5° giorno dopo l'ultima somministrazione di Alliltrembolone. L'intervallo fine trattamento-estro è stato di 5.4 e 5.3 giorni rispettivamente per le scrofette trattate per 14 e 18 giorni. Tuttavia, nel gruppo trattato per 18 giorni la sincronizzazione dell'estro è stata più precisa, con il 98% delle scrofette che sono andate in estro entro 10 gg post-trattamento. Il momento del ciclo estrale in cui è stato iniziato il trattamento ha avuto un ruolo significativo sulla precisione della sincronizzazione. Quando il trattamento è stato iniziato durante la fase follicolare del ciclo, l'intervallo fine trattamento-estro è stato più lungo rispetto alle scrofette trattate durante la fase luteinica. Ad ogni modo l'88% delle scrofette trattate durante la fase follicolare e il 96% di quelle trattate durante la fase luteinica sono venute in estro entro 6 giorni dalla fine del trattamento con Alliltrembolone. I livelli ematici di progesterone nelle scrofette di controllo e di quelle trattate si sono significativamente abbassati tra il 14° e il 17° giorno del ciclo estrale, questo come conseguenza dell'attività luteolitica delle prostaglandine endogene prodotte dall'animale in questa fase del ciclo estrale, ma le concentrazioni di progesterone sono rimaste più elevate nelle scrofette trattate rispetto agli animali non trattati. Tale differenza nei livelli di progesterone indica che, se il trattamento con il progestinico è iniziato durante la fine della fase luteinica, si alterano i meccanismi della luteolisi e che il metabolita del progestinico è in competizione con il progesterone per il sito di legame. Tutto questo però non ha modificato il tasso di gravidanza ed il numero di suinetti nati. Gli autori concludono che il trattamento con Alliltrembolone per 14 o 18 giorni è efficace nella sincronizzazione dell'estro, indipendentemente dal momento del ciclo estrale in cui è iniziato. Tuttavia hanno osservato che il trattamento per 18 giorni, rispetto al trattamento di 14 giorni, determina una sincronizzazione dell'estro più precisa.

Le implicazioni manageriali legate all'uso del progesterone nella sincronizzazione delle scrofette possono essere davvero molte, un esempio lo ritroviamo negli studi di Davis et al. (1985) che per primi hanno tentato di effettuare l'inseminazione senza il rilevamento dell'estro (Fixed Taimed Artificial Insemination; FTAI). Le scrofette sono state sincronizzate mediante un trattamento con Alliltrembolone per 18 giorni al dosaggio di 15 mg/giorno. Dopo la sincronizzazione, gli animali sono stati suddivisi in due gruppi: nel primo gruppo l'inseminazione artificiale è stata fatta al primo estro spontaneo dopo la fine del trattamento, mentre nel secondo le inseminazioni sono state effettuate ad un tempo predeterminato (FTAI) al giorno 5, 6 e 7 dall'ultima somministrazione di Alliltrembolone. I risultati sono stati che nelle scrofette trattate con il protocollo FTAI il tasso di ovulazione è stato più basso rispetto al gruppo di animali inseminati al momento dell'estro naturale. Comunque, il numero di scrofette che hanno partorito (73.0% vs 67.0%), il numero di suinetti nati totali (11.0 0.4 vs 11.3 0.4) e il numero di suinetti nati vivi (10.1 0.4 vs 10.5 0.4) è stato simile tra il gruppo delle scrofette inseminate all'estro naturale e quelle inseminate senza rilevamento dell'estro (FTAI). Gli autori concludono che il programma FTAI possa essere attuabile nelle scrofette utilizzando l'Alliltrembolone ma vanno apportate delle modifiche del management del rilevamento dell'estro e dell'inseminazione.

Un protocollo d'inseminazione artificiale ad un tempo predeterminato (FTAI) che però utilizzi un solo intervento di inseminazione è stato testato nello studio di Swarts et al. (2012). In questo studio un gruppo di 436 scrofette, che avevano già manifestato l'estro, sono state trattate con 20 mg di Alliltrembolone per 18 giorni consecutivi, e quindi suddivise in due gruppi. Nel primo gruppo l'estro è stato ricercato due volte al giorno ed gli animali sono stati inseminati due volte a distanza di 12 ore dal rilevamento dell'estro (gruppo controllo). Nel secondo gruppo le scrofette ricevevano un'iniezione di 10 µg buserelin (un analogo del GnRH) per via intramuscolare, fra le 115 e le 120 ore dopo l'ultima somministrazione orale dell'Alliltrembolone. Quindi tutti gli animali trattati sono stati inseminati con un singolo intervento fecondativo fra le 30 e le 33 ore successive alla somministrazione del buserelin (gruppo FTAI). Sono stati confrontati poi i diversi parametri produttivi e gli autori hanno potuto constatare che il tasso di gravidanza è stato simile (78.8% nel gruppo trattato e 80.9% nel gruppo controllo) e che non vi sono state differenze nel numero di suinetti nati totali ed i nati vivi. I dati di questo lavoro, hanno mostrato che il trattamento con Alliltrembolone più GnRH, permette di predeterminare il momento dell'ovulazione e che il momento ottimale dell'inseminazione artificiale dovrebbe avvenire nelle 30 e le 33 ore successive al trattamento con GnRH.

Correlazione fra livello nutrizionale della scrofetta al momento del trattamento e successiva efficacia del protocollo disincronizzazione

In appendice a quanto detto sopra bisogna sempre tener presente l'effetto dell'alimentazione che può compromettere il successo o meno di un protocollo di sincronizzazione.

Infatti, la fase di stimolazione, induzione ed eventualmente di sincronizzazione degli estri è influenzata in maniera decisa dallo stato nutrizionale dell'animale. Una volta che la scrofetta è stata adeguatamente preparata durante il suo accrescimento, quindi il suo apparato genitale, sia adeguatamente sviluppato (Kirkwood e Aherne, 1985; Barb et al., 2008), l'utilizzo della metodica del flushing nutrizionale (alimentazione ad libitum per un determinato periodo) con alti quantitativi di proteina per circa 15 giorni prima della sincronizzazione e dell'inseminazione migliora il tasso di fertilità (Edwards, 1998).

Da un punto di vista fisiologico, l'effetto positivo del flushing nutrizionale, è stato ricondotto all'aumento delle concentrazioni di insulina, IGF1 e IGF2 (Insulin Grow Factor) a seguito dell'introduzione di maggiori quantità di energia con la dieta (Koketsu et al., 1998). È stato infatti osservato che, nella scrofa, l'insulina determina un incremento dei livelli basali e della frequenza di secrezione dell'LH (Koketsu et al., 1998). Dato che l'LH, è l'ormone che controlla lo sviluppo follicolare e l'ovulazione, l'aumento dei livelli di insulina, stimolando il rilascio di LH, determina un maggiore sviluppo follicolare e quindi un aumento indiretto della fertilità. Viceversa le IGF1 e le IGF2 non agiscono sull'asse ipotalamo ipofisario ma hanno un ruolo diretto nello sviluppo dei follicoli.

In conclusione, una corretta gestione dell'alimentazione della scrofetta, oltre a permettere un corretto sviluppo corporeo in grado di indurre la pubertà il più precocemente possibile, risulta necessario per stimolare lo sviluppo follicolare e quindi per l'efficacia della sincronizzazione degli estri (De Alba et al., 1998).

Parte Sperimentale

CAPITOLO 3

Esperimento 1

Effetto luteolitico della somministrazione di un agonista delle PGF2alfa in scrofette puberi durante diverse fasi del ciclo estrale

Estrus Responses After Administering Cloprostenol During the Luteal Phase of the Estrous Cycle of Gilts

Riassunto

Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare se nella scrofetta la doppia somministrazione a livello perivulvare di una dose elevata di cloprostenolo (analogo di sintesi delle PGF2alfa) sia in grado di indurre una luteolisi al 7°, 9° o 10° gg del ciclo estrale. Per questo scopo 87 scrofette puberi sono state trattate con una doppia (ore 08:00 e 14:00) somministrazione di 75 µg D-cloprostenol al 7° (gruppo D7, n°=30), 9° (gruppo D9; n°=29) e 10° (gruppo D10; n°=28) giorno del ciclo estrale. La durata del ciclo estrale durante il quale è stato effettuato il trattamento è stata confrontata con la durata del ciclo estrale precedente al trattamento. Il profilo ematico del progesterone è stato determinato in dieci scrofette del gruppo D9.

In tutti e tre i gruppi la durata del ciclo estrale con il trattamento non è stata diversa dal ciclo estrale precedente al trattamento (tra i 18 ed i 19 gg). I livelli plasmatici di progesterone dopo il trattamento si sono ridotti in 7/10 scrofette ma solo in 3 scrofette si sono mantenuti bassi 72 ore dopo il trattamento (intorno ai 1.3±0.9 ng/ml).

I risultati di questo studio indicano che la doppia somministrazione di D-Cloprostenolo a livello perivulvare al 7°, 9° o 10° gg del ciclo estrale non induce una luteolisi completa ma solo parziale e la durata del ciclo estrale non è modificata.

Abstract

The aim of this study has been to evaluate if a double, perivulval large dose of PGF2alfa can induce luteolysis before day 12 of estrus cycle in gilts. Following a pre-treatment estrous cycle, 87 gilts were assigned to receive vulva injections of 75 µg D-cloprostenol at 08:00 and 14:00 h on day 7 (group D7; n=30), day 9 (group D9; n=29) or day 10 (group D10; n=28) of their second observed estrous cycle. Comparisons were made between the previous control and the following treatment estrous cycles. Ten D9 gilts were blood sampled 6 h prior to first injection and at 24 and 72 h after the second injection and samples assayed for progesterone content. Compared to pre-treatment levels (15.8±0.7 ng/ml), plasma progesterone concentrations were reduced (p<0.05) at 24 h (6.4±0.4 ng/ml) in 7 of 10 gilts. However, at 72 h serum progesterone had returned to pre-treatment levels in 4 of the 7 gilts while in the remaining 3 gilts serum progesterone concentrations continued to fall to 1.3±0.9 ng/ml. Across all treatments, the duration of the treatment estrous cycle

was not affected by D-cloprostenol administration. These data indicate that swine corpora lutea are sensitive to prostaglandins from day 9 of the estrous cycle but that a terminal luteolysis usually does not ensue.

Introduzione

Nella moderna azienda suinicola l'ottimizzazione dei flussi in gestazione, passa attraverso un attento rispetto dei teorici di copertura. Tutto ciò si rende possibile solo grazie alla disponibilità di un adeguato numero di scrofette da inseminare per banda. Tuttavia, per evitare di doverne mantenere un elevato numero in attesa di copertura, risulta particolarmente efficiente sincronizzarne gli estri. Per fare questo sono spesso utilizzati degli analoghi del progesterone o le gonadotropine ipofisarie. Questi sistemi richiedono comunque del tempo, hanno dei costi e non sempre danno i risultati attesi. In altri animali domestici per sincronizzare gli estri sono molto utilizzate le prostaglandine (De Rensis et al., 1999). Purtroppo, nella specie suina, non è al momento possibile indurre la luteolisi con una singola somministrazione di prostaglandine prima del 12° giorno del ciclo estrale (Diehl et al., 1974; Guthrie et al., 1976) e quindi le prostaglandine non sono utilizzate per tali fini. I motivi legati alla loro mancata efficacia come agenti luteolitici nella scrofa ciclica, non sono stati ancora chiariti (vedi De Rensis et al., 2012). Studi effettuati *in vitro* riportano che l'assenza di un effetto luteolitico delle PGF2alfa nella specie suina non sia però dovuto alla mancanza di recettori per le PGF2alfa stesse (Gadsby et al., 1990, 1993). Questa osservazione è confermata da studi *in vivo* nei quali è stato osservato che in scrofette puberi la multipla somministrazione di prostaglandine dal gg 5° al gg 10° del ciclo estrale induce luteolisi e riduce la durata del ciclo estrale (Estill et al., 1993, 1995). Inoltre, Kuge et al., (2006) nei minipig, riportano che la doppia somministrazione di D-Cloprostenolo a livello perivulvare è in grado di ridurre la durata del ciclo estrale e sincronizzare gli estri.

Lo scopo di questo lavoro è stato quello di verificare l'effetto luteolitico di un protocollo di somministrazione che preveda un doppio intervento di PGF2alfa a livello perivulvare. È stata utilizzata la doppia somministrazione di prostaglandine in quanto, nel suino, le prostaglandine endogene al momento della luteolisi, sono rilasciate con pulsè ad intervalli di circa 6-8 ore (Gleeson et al., 1974). Come sito d'inoculazione è stata scelta la zona perivulvare poiché permette di ridurre del 25% la quantità di PGF2alfa da somministrare rispetto alla tradizionale somministrazione i.m. a livello del collo, a conseguenza del mancato catabolismo polmonare (Kirkwood et al 1996).

Materiali e metodi

Per questo studio sono state utilizzate un totale di 87 scrofette suddivise in 3 gruppi:

- Gruppo D7 (n°= 30): a questi animali sono stati somministrati 75mg di D-Cloprostenolo a livello perivulvare al 7° giorno del ciclo estrale;
- Gruppo D9 (n°=29): gli animali di questo gruppo sono stati trattati come al gruppo D7 ma al 9° gg del ciclo estrale;
- Gruppo D10 (n° =28) gli animali di questo gruppo sono stati trattati come i precedenti ma al 10° gg del ciclo estrale.

Le prostaglandine sono state somministrate in una doppia somministrazione alle ore 08.00 e 14.00 (75mg di D-Cloprostenolo per ciascuna somministrazione).

Per la determinazione dei livelli ematici di progesterone, a 10 scrofette del gruppo D9 sono stati effettuati dei prelievi ematici dalla vena auricolare 6 ore prima e 24 e 72 ore dopo il trattamento con D-Cloporstenolo.

Analisi statistica.

I dati sono stati analizzati utilizzando il sistema analitico SPSS. Le differenze nei cicli estrali (quello precedente al trattamento e quello del trattamento) sono state analizzate mediante il test Wilcoxon test. I livelli ematici di progesterone sono stati analizzati mediante il test di varianza repeat measures.

Risultati

Non sono state osservate differenze tra la durata del ciclo estrale precedente al trattamento e quella del ciclo estrale del trattamento (Tabella 1). Si è osservata una tendenza (P=0.07) per il gruppo D10 a presentare una riduzione del ciclo estrale di circa 1.1 giorni (Tab.1).

I livelli ematici di progesterone si sono ridotti in 7/10 scrofette 24 ore dopo la somministrazione di cloprostenolo. Si sono poi mantenuti a livelli di 1.3 ± 0.89 ng/mL 72 ore dopo il trattamento in 3/10 mentre nelle restanti scrofette sono tornati a livelli pre-trattamento.

Giorno del trattamento	No. di scrofette	Durata del ciclo estrale del trattamento (g)	Durata del ciclo estrale precedente al trattamento (g)	Probabilità P
7	30	20.6±0,7	20.1±0,2	P=0.45
9	29	19.2±0.4	20.2±0.4	P=0.35
10	28	18.9±0.5	20.0±0.5	P=0.07

Tab. 1. Effetti della somministrazione di D-coprostenolo al giorno 7, 9 o 10 del ciclo estrale sulla durate del ciclo estrale (mean±SD).

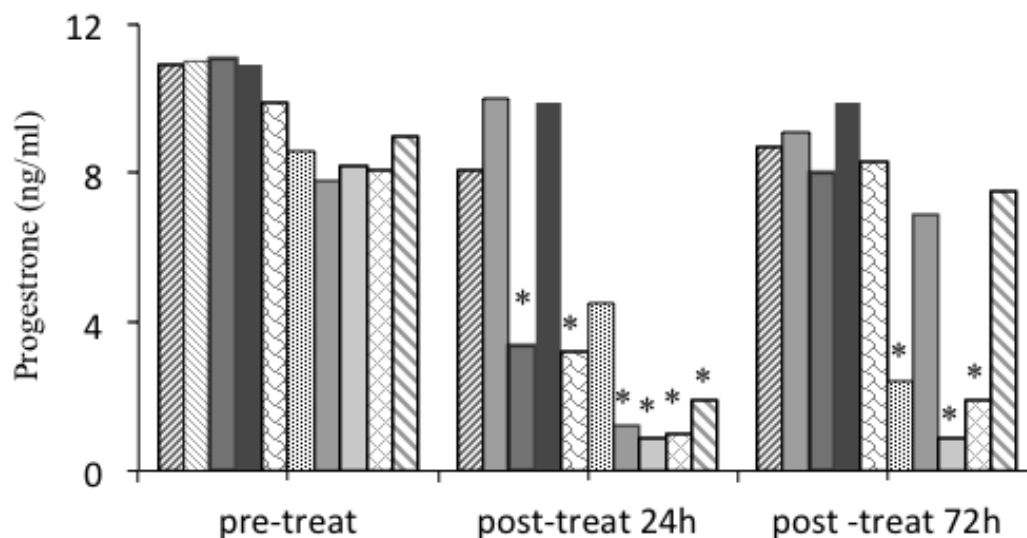


Figura 1. Livelli plasmatici di progesterone prima (-6 ore) e dopo (+24 e +72 ore) la somministrazione di una doppia (6 ore di intervallo) somministrazione D-Cloprostenol al giorno 9 del ciclo estrale.

Discussione

In letteratura è riportato che la multipla somministrazione di PGF2alfa (Estill et al., 1993, 1995) o la doppia somministrazione di PGF2alfa a livello perivulvare (Kuge et al., 2006) è in grado di indurre la luteolisi già al settimo giorno del ciclo estrale. In questo studio, utilizzando un protocollo simile a quelli sopra descritti, l'ipotesi che la doppia somministrazione di prostaglandine nelle scrofette al 7°, 9° o 10° gg del ciclo estrale per via perivulvare potesse causare una luteolisi e a modificare la lunghezza del ciclo estrale non è stata avvalorata.

Queste differenze tra gli studi potrebbero essere dovute al numero delle somministrazioni utilizzate, ridotto nel nostro studio rispetto a quelli di Estill et al., (1993, 1995), oppure a differenze nel tipo di suino utilizzato, minipig nel lavoro di Kuge et al., (2006), scrofette commerciali nel nostro studio.

Il profilo del progesterone da noi valutato, indica che almeno in alcuni animali le prostaglandine possono indurre una riduzione dei livelli ematici di progesterone anche prima del 12°g del ciclo estrale. La variabilità nella risposta osservata potrebbe essere legata al numero di corpi lutei presenti. Infatti, le scrofette che hanno risposto al trattamento, erano quelle che avevano i livelli plasmatici di progesterone più bassi all'inizio dello studio. Purtroppo il numero di osservazioni e il protocollo sperimentale utilizzato non permettono di dare una risposta a questa ipotesi.

Il risultato di questo studio suggerisce che se in futuro saranno messe a punto delle prostaglandine con un effetto più potente e prolungato di quelle ora disponibili, sarà possibile avere un effetto luteolitico prima del 12° giorno del ciclo estrale e, quindi, presumibilmente, sincronizzare gli estri nelle scrofette anche mediante la somministrazione di prostaglandine.

Esperimento 2

Cateterizzazione non invasiva della vena auricolare per prelievi frequenti nella specie suina

Non invasive long term venous cannulation in swine for frequent sampling

Riassunto

Lo scopo di questo lavoro è stato quello di descrivere una tecnica di cateterizzazione permanente che permetta di effettuare dei prelievi ematici frequenti nella specie suina per diversi giorni senza richiedere un intervento chirurgico e anestetico, ma solo il contenimento dell'animale. Come sede sono state scelte le vene auricolari. I cateteri utilizzati sono stati il Dog Catheter (PVC IV 1.3x 300 mm-4FG) (n°=10 scrofe) ed il Polyetilene Tubing (I.D 0.76 mm (0.030" pollici) O.D. 1.22 (0.048")) (n°=10 scrofe). Il catetere, è stato inserito nella vena auricolare mediale o laterale fino alla vena cava in prossimità del cuore mediante tecnica "through the needle". I prelievi sono stati eseguiti ogni 15 min. dalle ore 9.00 alle ore 15.00 o fino a quando il catetere è rimasto funzionale o fino ad un massimo di 10 giorni consecutivi.

Il tempo medio richiesto per la cateterizzazione con il Polyetilene Tubing è stato di 16-17 min. ed è stato possibile eseguire i prelievi per 8-9 giorni consecutivi, mentre la cateterizzazione con il Dog Catheter ha richiesto 21-23 minuti ed è rimasta funzionale per 4-5 giorni

I risultati indicano che il catetere inserito nella vena auricolare rimane *in situ* per diversi giorni (8-9) permettendo di eseguire dei prelievi frequenti con uno stress minimo per l'animale essenzialmente dovuto al contenimento dello stesso al momento dell'inserimento del catetere.

Summary

Introduction: In the modern swine farming often the clinical problems are complex and the diagnosis requires frequent blood samples for several days to assess various biomedical parameters. Several techniques for the collection of swine blood samples are currently in use but most of them involve surgical procedures under general anaesthesia. Several techniques for ear vein catheterization have been developed but they have been tested only for few days.

Aim: The aim of this study was to test a non-invasive venous catheterization in swine that allows frequent sampling for several days without any invasive intervention and with minimum disturbance to the animal.

Materials and Methods: For this study 20 pluriparous sows have been used. The technique involved the implantation of a catheter, with a "through the needle" technique, via the lateral or medial ear vein. The adopted catheters were: Dog Catheter (PVC IV 1.3x 300 mm-4FG) (n°=10 sows) and Polyethylene Tubing I.D 0.76 mm (0.030" inch) O.D. 1.22 (0.048") 90-120 cm, (n°=10

sows). *Frequent blood samplings have been performed every 15 minutes for 6h consecutively from 9 a.m. to 3 p.m. for 10 days consecutively or until the catheter was functional.*

Results: The ear vein catheterization with Polyethylene Tubing has been performed in 16-17 minutes and remained patent for 8-9 days, while the catheterization with the Dog Catheter required 21-23 minutes and remained patent for 4-5 days. During the trial the pig behaved normally, presented a good appetite and normal body temperature.

Conclusion: The permanent ear venous cannulation enables to collect sequential blood samples for several days with minimum restraint of the animal, it does not require surgical procedures under general anaesthesia and can be applied routinely in the farm.

Introduzione

L'allevamento suinicolo sta diventando sempre più tecnologico e le strutture sempre più di grandi dimensioni con problematiche cliniche più complesse. Per questo spesso è necessario eseguire dei prelievi ematici frequenti, cosa di non semplice attuazione data la non facile reperibilità, nella specie suina, di vene adatte per un simile scopo. Inoltre la genetica ha portato alla selezione di suini sempre più suscettibili allo stress per cui l'effettuazione di prelievi ripetuti senza catetere provoca un notevole stress nell'animale con importanti ripercussioni non solo etiche, ma anche sanitarie e sulla qualità delle carni. Inoltre lo stress può alterare alcuni parametri dei campioni ematici raccolti e quindi compromettere la validità dell'analisi (Broom, 1988).

Per questo sarebbe importante poter applicare una metodica di cateterizzazione che sia la meno stressante possibile, non richieda un intervento chirurgico e l'utilizzo di sedativi o di anestetici, che rimanga *in situ* per diversi giorni, che permetta di eseguire prelievi frequenti e sia facilmente applicabile in azienda.

Nel suino la maggior parte dei vasi sanguigni è ricoperta dal tessuto adiposo sottocutaneo e quindi i vasi utilizzabili per effettuare dei prelievi ematici sono limitati. Per eseguire prelievi singoli si possono utilizzare le vene auricolari, perché facilmente evidenziabili soprattutto negli animali con la cute di colore chiaro. Purtroppo questi vasi sono relativamente piccoli, permettono solo una raccolta di piccole quantità di sangue per ogni prelievo e necessitano di tempo prima di poter fare un secondo prelievo (Horlein et al., 1951). Altri punti utilizzabili sono la vena cava anteriore (Jackson et al., 1972) e il seno orbitale (Jackson et al., 1972; Huhn et al., 1969). Infine è possibile anche fare dei prelievi singoli dalla coda (Getty et al., 1967) e dalla vena addominale sottocutanea e cefalica (Staub, 1954) seppur non siano semplici da effettuare.

Per quanto riguarda la possibilità di eseguire dei prelievi frequenti nel suino, i vasi nei quali è stato applicato un catetere permanente sono la vena giugulare (Christison et al., 1969; Donald et al., 1968; Hand et al., 1981; Knippel et al., 1975; Luke et al., 1978, Harris, 1974; Stukelj et al., 2005),

la vena femorale o la vena safena (Huhn et al., 1969; Dougherty et al., 1965; Weirich et al., 1970), la vena coccigea mediana e la vena mammaria sottocutanea (Witzel et al., 1973). Purtroppo queste cateterizzazioni non sono semplici da eseguire, richiedono un intervento invasivo con la necessità di somministrare dei tranquillanti e/o degli anestetici e quindi poco applicabili in azienda. Altra sede in cui è stata descritta l'immissione di un catetere permanente è rappresentata dalle vene auricolari mediale e laterale (Grun et al., 1973; Zanella et al., 1992; Niiyama et al., 1985). Tuttavia nei precedenti studi il catetere è stato lasciato *in situ* solo per alcune ore, ma non esistono dati bibliografici che valutano la permanenza del catetere nella vena auricolare per diversi giorni.

Lo scopo di questo lavoro è stato quindi quello di descrivere una tecnica di cateterizzazione nella specie suina che provochi il minimo stress all'animale, che non richieda nessun intervento chirurgico e anestetico, ma solo un breve contenimento, e che permetta di eseguire dei prelievi ematici frequenti in maniera continua per diversi giorni. Il punto di prelievo utilizzato sono state le vene auricolari. Sono stati inoltre messi a confronto due tipi di catetere al fine di individuare quello più appropriato.

Materiali e metodi

Animali e contenimento

Per questo studio sono state utilizzate 20 scrofe pluripare Large White x Landrace di peso medio di 225 Kg. La cateterizzazione è stata eseguita 24 ore dopo lo svezzamento (la lattazione è durata 21 giorni). Il contenimento dell'animale, senza alcuna somministrazione di tranquillanti o anestetici, perché non necessari, è stato eseguito applicando un torcinaso e mantenendo l'animale in posizione eretta.

Al fine di valutare il funzionamento nel tempo del catetere, i prelievi sono stati eseguiti con la frequenza di 15 min. dalle ore 9.00 alle ore 15.00 per 10 giorni consecutivi. La temperatura corporea è stata determinata due volte al giorno durante tutta la prova e per due giorni dopo la fine della prova.

Tipi di materiale utilizzato

I cateteri utilizzati sono stati: Dog Catheter (Buster[®]-PVC IV 1.3x 500 mm-4FG) (n=10 scrofe) ed il Polyetilene Tubing (BD Intramedic[™] Polyethylene Tubing Becton, Dickinson and Company[®] - I.D 0.76 mm (0.030" pollici) O.D. 1.22 (0.048") di 90-120 cm, (n°=10 scrofe).

Un ago ipodermico per bovino (14 G) è stato utilizzato come guida per l'inserimento del catetere mediante tecnica "through the needle" (Fig 1).

Metodica di cateterizzazione

Dopo un opportuno lavaggio, i padiglioni auricolari sono stati disinfettati mediante una soluzione di etanolo al 70%. Per evitare contaminazioni durante l'inserimento, il catetere è stato contenuto in "camicie sanitarie" sterili.

Per la cateterizzazione sono state utilizzate la vena auricolare laterale o mediale scegliendo di volta in volta quella che si presentava con diametro maggiore, più evidenziabile e con la minore curvatura alla base dell'orecchio. Infatti, curvature troppo serrate della vena alla base dell'orecchio rendono più difficoltoso il passaggio della cannula e aumentano i rischi di rottura della vena (esperienza personale).

La guida è stata inserita nella vena (Fig. 1), partendo da una distanza di circa 5-7 cm dal margine esterno dell'orecchio, dopodiché il catetere è stato inserito tramite questa all'interno del vaso (Fig. 1). Il catetere, opportunamente contrassegnato ogni 5 cm, è stato fatto scorrere nella vena auricolare attraversando la vena auricolare laterale o mediale, la vena auricolare caudale, la vena mascellare, la giugulare esterna, la vena brachicefalica e infine la vena cava anteriore. Una volta inserito il catetere, la guida è stata rimossa. Solitamente la parte del catetere posta all'interno dei vasi è stata di circa 20-25 cm.

Per connettere al catetere la siringa utilizzata per eseguire il prelievo, nella parte finale del catetere è stato applicato un adattatore ottenuto utilizzando un ago ipodermico da bovino da 14G (2.0 x 40 mm) con la punta preventivamente smussata e chiuso con un tappo di tipo Luer Lock (Sanitalia care).

Fissaggio del catetere

Per evitare contaminazioni durante l'inserimento, il catetere è stato contenuto in "camicie sanitarie" sterili. Per proteggere il catetere da eventuali schiacciamenti e compressioni, la parte del catetere esterna alla vena è stata protetta da un tubo di silicone di circa 50-60 cm (20 cm per raggiungere la base dell'orecchio, più 15 cm per raggiungere la base del collo, più 15 cm da avvolgere dentro il sacchetto) opportunamente sterilizzato (Fig. 2).

Onde evitare che i movimenti del collo e della testa potessero estroflettere il catetere, quest'ultimo è stato arrotolato ed alloggiato in un sacchettino di plastica posto a 4-6 cm dall'attaccatura delle orecchie alla testa, cercando di minimizzare la lunghezza del catetere "libero" tra la base dell'orecchio e l'alloggiamento.

Il catetere è stato fissato tra le spalle della scrofa mediante l'utilizzo di una benda adesiva (bendaggio elastico con autofissante in t.n.t di 10 cm di altezza) (Fig. 3). In alcuni animali (n°=5 per

gruppo) il catetere e il sacchetto di contenimento sono stati ulteriormente fissati con alcuni punti chirurgici, avvalendosi dell'ausilio di un foglietto di silicone come impalcatura.

Prelievi ematici e mantenimento della pervietà del catetere

I prelievi ematici sono stati ottenuti raccordando normali siringhe da 5 ml all'adattatore posto nella parte terminale del catetere. I prelievi sono stati eseguiti ogni 15 min. dalle ore 9.00 alle ore 15.00 o fino a quando il catetere è rimasto funzionale o fino a un massimo di 10 giorni consecutivi.

Dopo ciascun prelievo, al fine di evitare la formazione di coaguli e trombi, sono stati iniettati 2 ml di soluzione fisiologica contenente eparina (50 U.I /ml). Infine, per mantenere il catetere pervio anche nei periodi durante i quali il catetere non è stato utilizzato per i prelievi frequenti, ogni 6 ore è stato effettuato un lavaggio con 5ml ml di soluzione eparinizzata. la soluzione fisiologica e l'eparina sono stati sostituiti ogni 6 ore.

Durante la prova agli animali è stato eseguito un trattamento profilattico con antibiotici.

Analisi statistica dei dati

I dati riguardanti i tempi per l'inserzione dei cateteri e il periodo di funzionalità dei cateteri sono risultati normalmente distribuiti (Martinez-Iglewicz test) ed omoschedastici (Modified-Levene Test), di conseguenza sono stati analizzati mediante lo Student's t test e la significatività posta per $P < 0.05$.

Risultati e Discussione

La tecnica d'incannulazione della vena auricolare utilizzata in questo studio è risultata adeguata per effettuare prelievi frequenti ed il processo di cateterizzazione è stato effettuato in pochi minuti confermando i precedenti dati di Niiyahana et al. (1985). I dati del nostro lavoro implementano quelli di Niiyahana et al. (1985) e dimostrano che questa tecnica permette di eseguire prelievi frequenti anche per diversi giorni senza che ci siano problematiche di rilievo né per l'animale né per eseguire i prelievi.

Dal punto di vista della tecnica impiegata, l'ago guida (14 G) è risultato utile per inserire il catetere nella vena auricolare. Il catetere più efficace è stato il Polyetilene Tubing che ha richiesto un tempo di effettuazione dell'intervento di 16-17 min. ed è rimasto funzionale per 8-9 giorni (Tab. 1). Viceversa, nelle scrofe nelle quali è stato utilizzato il catetere Dog Catheter, la cateterizzazione è stata più difficoltosa, ha richiesto più tempo (21-23 min) ed i cateteri sono rimasti funzionali per un periodo più breve (circa 4-5 giorni) (Tab. 1).

Durante l'immissione del catetere, il punto di maggiore criticità è stato a livello della curvatura alla base dell'orecchio, che però è stato superato applicando piccoli movimenti in avanti e indietro fino a superare l'ostacolo. Altre resistenze, oltre il punto menzionato, si sono verificate solo in prossimità del cuore e quando questo si è verificato, il catetere è stato opportunamente retrocesso per alcuni centimetri.

Inizialmente in tre animali rotture della vena auricolare e conseguenti piccoli ematomi si sono verificati quando la curvatura della vena alla base dell'orecchio era troppo accentuata (quasi ad angolo retto). Quando questo si è verificato gli animali non sono stati inclusi nello studio.

L'applicazione di punti chirurgici per fissare il catetere è stata più efficace rispetto al solo bendaggio poiché questa tecnica non sempre ha impedito l'occlusione o il piegamento del catetere nel punto di uscita dal vaso. Inoltre è importante che il bendaggio copra l'orecchio partendo dalla curva del catetere fino alla base dell'orecchio, lasciando scoperto il meno possibile il catetere stesso. La benda elastica autofissante ha consentito la massima libertà di movimento per l'animale, non ha recato alcun fastidio rilevabile ed ha evitato che l'animale provasse a rimuovere il bendaggio.

Nessun animale ha presentato problematiche sanitarie rilevabili né nei giorni dei prelievi, né nella settimana successiva alla rimozione del catetere, la temperatura corporea si è mantenuta nella norma.

N° scrofe	Tipo di catetere	Vena auricolare utilizzata	Tempo per la cateterizzazione (min.)	Persistenza del catetere (giorni)
10	Polyetilene Tubing	laterale (n=4)	17±4.0 ^a	8±0.9 ^a
		mediale (n=6)	16±3.2 ^a	9±1.0 ^a
10	Dog Catheter	laterale (n=4)	23±3.3 ^b	4±0.8 ^b
		Mediale (n=6)	21±2.8 ^b	4±1.1 ^b

Tab.1 Tempi per eseguire la cateterizzazione della vena auricolare nel suino (media±DS) e permanenza dei cateteri (media±DS). ^{a,b} Valori nella stessa colonna con lettere diverse sono significativamente differenti (P<0.05).

Conclusioni

I risultati di questo studio indicano che la cateterizzazione non chirurgica della vena auricolare nella scrofa permette di eseguire dei prelievi ematici frequenti per diversi giorni senza sottoporre l'animale ad alcuno stress, se non quello, minimo, del contenimento al momento dell'impianto del

catetere. Dato che questo tipo di cateterizzazione non richiede l'utilizzo di alcun tipo di sedativo o anestetico, può essere utilizzato in azienda senza particolari accorgimenti.



Fig. 1. Inserimento del catetere mediante guida (ago ipodermico per bovino da 14G)

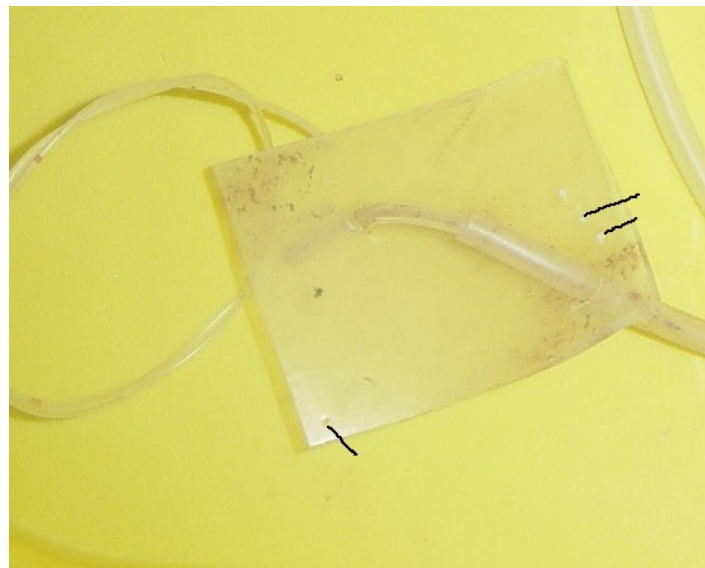


Fig. 2. Sacchettino e tubo di silicone per il contenimento e la protezione del catetere



Fig. 3. Bendaggio di contenimento del catetere e della prolunga.

Esperimento 3

Effetto della soppressione dell'estro con alliltrembolone per un periodo breve (10 o 12gg) o standard (14 o 18 gg) sulla sincronizzazione dell'estro e sulla fertilità nelle scrofette puberi.

Riassunto

Per sincronizzare l'estro nelle scrofette, sono stati somministrati 20 mg/giorno di Alliltrembolone per via orale per 18, 14, 12 e 10 giorni dove, in questi ultimi due gruppi, il progestinico è stato seguito dalla somministrazione di una doppia dose di 75 µg D-cloprostenolo. Non sono stati riscontrati effetti della durata del trattamento sulla sincronizzazione dei parti, sul numero di scrofette in estro, sul numero dei parti o sulle dimensioni della nidiata.

Abstract

Allyl trenbolone was fed at 20 mg per day for 10, 12, 14, or 18 days, with injection of 2×75 µg D-cloprostenol at last feeding at 10 or 12 days, to synchronize estrus in gilts. There were no treatment effects on farrowing rate or subsequent litter sizes.

Introduzione

Nell'allevamento suinicolo, le scrofette sono animali che ciclano in modo casuale, tuttavia nell'azienda moderna, è necessario averne un prefissato numero pronte per entrare in carriera produttiva a coprire gli obiettivi di inseminazione. Il fatto che le scrofette ciclino in modo casuale comporta che debba essere disponibile un numero di scrofette in eccesso rispetto a quelle che saranno realmente utilizzate per potersi garantire l'equilibrio fra riforma e rimonta. Questo comporta dei costi estremamente elevati per l'imprenditore, non solo per il mantenimento delle scrofette stesse, ma anche per lo spazio necessario in più. L'utilizzo di un efficiente protocollo di sincronizzazione degli estri potrebbe significativamente ridurre il gruppo di scrofette da mantenere.

Ci sono diversi sistemi per sincronizzare gli estri nella specie suina. Alcuni si basano sull'effetto verro, altri sull'uso delle gonadotropine. Questi sistemi sono in grado di dare una certa sincronizzazione, ma non sufficientemente precisa per soddisfare i fabbisogni aziendali di scrofette per la rimonta. Inoltre sono applicabili solo in scrofette prepuberi (Kirkwood, 1999). Nelle scrofette puberi, una sincronizzazione dell'estro sufficientemente precisa è ottenibile attraverso l'utilizzo di un progestinico attivo per via orale, l'Alliltrembolone (AL). In base al prodotto commerciale, il protocollo standard prevede la somministrazione di AL alla dose di 15 o 20mg/giorno per 14 o per 18 gg (Kraeling et al., 1981; Rhodes et al., 1991; Martinat-Botte et al., 1995).

In seguito alla sospensione della somministrazione di AL, il 93 % delle scrofette va in estro nell'arco di 5-7gg con (Martinat-Botte et al., 1995). Purtroppo non sempre questi risultati sono ripetibili e il numero di animali che partoriscono non sempre corrisponde le attese. Nella bovina, nella pecora e nella cavalla è stato osservato che una somministrazione di progesterone protratta nel tempo determina una compromissione della secrezione di LH, dello sviluppo follicolare, della qualità degli oociti e quindi della fertilità (Lofstedt and Patel, 1989; Sirois et al., 1990; Stock and Fortune, 1993; Kinder et al., 1996; Flynn et al., 2000). Ci sono dati recenti nella specie bovina che mostrano come un trattamento a base di progesterone più breve (5gg) rispetto a uno standard (9gg) sia in grado di migliorare la fertilità (Garcia-Isperto et al., 2013). A tutt'oggi, non è dato sapere se una situazione simile si realizzi anche nella specie suina. Va comunque considerato che, nelle scrofette, quando la somministrazione di AL si realizza in un momento casuale del ciclo estrale, alcuni animali potrebbero trovarsi in fase luteinica inoltrata. Conseguentemente, la durata dell'effetto progestinico endogeno seguito da quello esogeno sull'attività ovarica può persistere per oltre 30 gg e la fertilità risultarne così compromessa. L'obiettivo del presente lavoro è stato quello di valutare l'effetto della somministrazione di Alliltrembolone per un periodo breve (10 o 12 gg) rispetto al periodo standard (14 o 18 gg) sulla fertilità e sulla prolificità delle scrofette.

Materiali e metodi

Animali

La prova è stata condotta tra Febbraio 2011 e Gennaio 2012 in un allevamento commerciale di 650 scrofe (PIC Camborough-22), localizzato nella provincia di Parma.

Le scrofette, approssimativamente di un peso di 110 kg ed un'età di 200 gg, sono state messe a contatto con un verro adulto per il rilevamento dell'estro. Rilevato l'estro, le scrofette sono state trasferite in sala gestazione e sono state alimentate a secco con 2kg/giorno di una razione per scrofe formulata per apportare 3.1 kcal/kg e 0.62 % di lisina totale; l'acqua era disponibile *ad libitum*.

Protocollo sperimentale (Tab. 1)

501 scrofette puberi totali che si trovavano tra il giorno 1 e 19 del ciclo estrale sono state suddivise in quattro gruppi sperimentali:

- Gruppo AL18 (n= 196): AL somministrato per 18 gg consecutivi
- Gruppo AL14 (n=135): AL somministrato per 14 gg consecutivi

- Gruppo AL12 (n=97): AL somministrato per 12 gg consecutivi e, alla fine del trattamento con AL, sono state effettuate 2 somministrazioni di 75 µg di un analogo della PGF2alfa, il D-cloprostenolo ad un intervallo di 6 ore una dall'altra.
- Gruppo AL10 (n=73): Questo gruppo è stato trattato come il gruppo AL 12 ma la somministrazione di AL è stata effettuata per 10 giorni consecutivi.

L'inizio del trattamento con Alliltrembolone è stato definito come il giorno 0 dello studio.

L'Alliltrembolone (20 mg/giorno) è stato somministrato a ciascuna scrofetta assieme a una piccola quantità di alimento prima del pasto principale della mattina, al fine di garantirne la corretta assunzione. Per il gruppo AL12 ed AL10, concluso il trattamento con il progestinico, è stato somministrato il D-cloprostenolo, che è 10 volte più potente rispetto al DL-cloprostenolo racemico (Re et al., 1994), attraverso una inoculazione a livello perivulvare (Kirkwood et al., 1999) in una doppia somministrazione da 75 µg cadauna con un intervallo di 6 ore tra la prima e la seconda. Lo scopo della somministrazione di prostaglandine è stato quello di eliminare qualsiasi struttura luteinica che fosse ancora presente al termine del trattamento con AL.

Gruppo (n)	Alliltrembolone*	D-cloprostenolo†
AL18 (196)	18	No
AL14 (135)	14	No
AL12 (97)	12	giorno 12
AL10 (73)	10	giorno 10

Tabella 1 protocollo sperimentale; 501 scrofette sono state trattate con Alliltrembolone iniziando tra il 1 ed il 19mo giorno del ciclo estrale.

** L'Alliltrembolone (20 mg al giorno) è stato somministrato insieme ad una piccola quantità di mangime prima del pasto principale per assicurare una corretta assunzione del farmaco.*

† Doppia somministrazione di 75 µg di Prostaglandine (D-cloprostenolo) con un intervallo di 6 ore tra la prima e la seconda somministrazione. La somministrazione di prostaglandine è stata fatta al termine del trattamento con Alliltrembolone.

Terminato il trattamento con AL, le scrofette sono state messe in gabbia gestazione e poste a contatto con il verro per due volte al giorno per 10 min. al fine di rilevarne l'estro. Al momento del rilevamento dell'estro e 24 ore dopo sono state inseminate con dosi contenenti 2.6×10^9 spermatozoi in 90 ml (extender M-RA). All'estro successivo al trattamento, in base all'intensità della manifestazione estrale, un operatore ha attribuito un punteggio su una scala da 1 (manifestazioni dell'estro poco evidenti) a 5 (manifestazioni dell'estro molto evidenti), ha registrato la durata dell'estro e l'intervallo tra la sospensione del trattamento e la comparsa dell'estro.

Il tasso di gravidanza è stato calcolato dividendo il numero di scrofette inseminate che hanno partorito per il numero totale di scrofette inseminate. Sono stati registrati anche il numero di suinetti nati totali e nati vivi.

Analisi statistica

Gli effetti del trattamento sulla percentuale di scrofette che sono ritornate in estro e sulla numero di scrofe che hanno partorito (tasso di gravidanza) sono stati analizzati utilizzando il test di Fisher. Gli effetti del trattamento sulla consistenza della nidiata sono stati analizzati ricorrendo al test di Wilcoxon-Mann-Whitney. Gli effetti sulla durata dell'intervallo tra la fine del trattamento e la comparsa dell'estro sono stati valutati utilizzando il test di Student.

Risultati

L'età ed il peso medio delle scrofette al momento dell'inseminazione è stato rispettivamente di 232 ± 3.8 giorni e di 138 ± 8.6 kg.

	AL18	AL14	AL12	AL10
Scrofette	196	135	97	73
Scrofette in estro(%)	188 (96)	129 (95)	91 (93)	69 (94)
Punteggio estro†	4.3 ± 0.2	4.4 ± 0.3	4.0 ± 0.5	4.1 ± 0.7
Intervallo AL-estiro (gg)‡	5.2 ± 0.7	5.4 ± 1.5	5.6 ± 2.2	5.9 ± 2.7
Durata estiro (ore)‡	54 ± 6.2	48 ± 8.1	56 ± 12.2	54 ± 11.4
Tasso di parto (%)	156 (82)	104 (80)	77 (84)	60 (82)
N suinetti totali nati ‡	13.3 ± 3.4	13.4 ± 2.5	12.8 ± 2.8	13.3 ± 2.5
N suinetti nati vivi ‡	12.2 ± 4.2	11.5 ± 4.2	10.8 ± 3.8	12.2 ± 4.3

Tabella 2: Prestazioni riproduttive di scrofette trattate con 20 mg/giorno di Alliltrenbolone (AL) per 18, 14, 12, o 10 giorni

** Alle scrofette trattate per 10 o 12 giorni sono stati somministrate delle PGF2alfa (cloprostenolo) alla fine del trattamento con Alliltrenbolone. Non sono state osservate differenze significative tra i gruppi per tutti i parametri riproduttivi considerati.*

† L'intensità dell'estro è stata determinata secondo un punteggio dove 1=manifestazioni minime, 5=manifestazioni massime.

I dati sulla fertilità e prolificità dei vari trattamenti sono riassunti in tabella 2. La percentuale di scrofette andate in estro dopo il trattamento è stata del 95%, l'intervallo medio tra l'ultima somministrazione di AL e l'estro è stata di 5.5 ± 0.8 giorni, il punteggio medio attribuito all'intensità della manifestazione estrale è stato di 4.3 ± 0.6 e la percentuale di scrofe inseminate che hanno

partorito è stata dell'84%, Per tutti questi parametri non ci sono state differenze tra i gruppi. Anche il numero di suinetti nati totali e nati vivi non è differito tra i gruppi.

Discussione

In questo studio, dal 93 al 96% delle scrofette è andata in estro approssimativamente 5-6 giorni dopo la sospensione della somministrazione di AL. Tali risultati sono sovrapponibili a quelli riportati in precedenti studi (Martinat-Botte et al., 1995; Stevenson et al., 1982), nei quali la somministrazione di AL per 14 o 18 giorni è stata in grado di sincronizzare l'estro tra i 5-7 giorni nell'84-96% delle scrofette trattate. L'ipotesi del nostro lavoro che la durata del trattamento con progesterone potesse modificare la fertilità delle scrofette trattate non ha trovato riscontro nei risultati. Infatti, la sincronizzazione dell'estro, il tasso di gravidanza e il numero di nati non è stato differente dopo la somministrazione di AL effettuata per un breve periodo (10 o 12 giorni) o per un periodo standard (14 o 18 giorni).

Ciò risulta in contrasto con quello che solitamente avviene nella specie bovina ovina e nella cavalla, in cui la somministrazione di un progestinico per tempi superiori ai 9 giorni può influenzare negativamente la fertilità. Questo poiché nella specie bovina e ovina, ma presumibilmente anche nella cavalla, un trattamento prolungato con progesterone altera la secrezione di LH, lo sviluppo follicolare, la qualità degli oociti, l'ambiente uterino (Sirois and Fortune, 1990; Stock and Fortune, 1993; Kinder et al., 1996; Flynn et al., 2000; Garcia-Ispierto et al., 2013). Questa differenza tra la specie suina e le altre specie di animali domestici potrebbe essere correlata a meccanismi neuroendocrini di controllo dello sviluppo follicolare, delle ondate follicolari e alla dominanza.

L'implicazione pratica che scaturisce dal presente studio è che una somministrazione di AL per 10 o 12 giorni seguita dalla somministrazione di PGF2alfa è efficace in termini di sincronizzazione degli estri e di fertilità tanto quanto il tradizionale trattamento di 14 o 18 giorni.

In conclusione, i dati di questo studio indicano che, nella scrofetta, il trattamento con un progestinico di durata più breve di quella normalmente utilizzata ha la stessa efficacia nella sincronizzazione degli estri senza ridurre la fertilità e la prolificità. Dal punto di vista fisiologico questo indica che gli effetti del progesterone sullo sviluppo follicolare sono diversi in una specie poliovocica, come il suino, rispetto a specie monotociche, quali la bovina, cavalla e pecora.

Esperimento 4

Effetto della stagionalità sulla distribuzione dei ritorni in estro regolari ed irregolari nella scrofa

Riassunto

L'obiettivo del presente studio è stato quello di determinare se l'incidenza dei ritorni in estro regolari o irregolari mostrasse variazioni nel corso dei vari mesi dell'anno nel Nord Italia.

In tale studio 5.103 scrofe, tornate in estro dopo l'inseminazione effettuata dopo lo svezzamento, sono state suddivise in differenti gruppi in base alla durata del loro intervallo inter-estrale:

- Ritorno in estro regolare di tipo 1 (RR-1): scrofe che sono tornate in estro 18-23 giorni dopo l'inseminazione.
- Ritorno in estro regolare di tipo 2 (RR-2): scrofe che sono tornate in estro 36-48 giorni dopo l'inseminazione.
- Ritorno in calore irregolare (gruppo RI): scrofe che sono tornate in estro a 24-35 giorni dopo l'inseminazione.

Sulla base delle temperature stagionali si è osservata una prevalenza ($P < 0.05$) dei ritorni di tipo RR durante il periodo di Giugno-Agosto mentre durante i mesi di Settembre e Ottobre si è osservata una prevalenza dei ritorni di tipo RI.

I risultati di questo studio indicano che, nel Nord Italia, durante i mesi più caldi dell'anno, ci sia un incremento di ritorni in estro regolari, indicando un problema nell'efficacia dell'inseminazione, viceversa, durante il periodo di Settembre e Ottobre, aumentano ritorni in estro irregolari, indicando una maggior prevalenza di perdite embrionali.

Summary

The objective of this study was to determine the incidence of regular or irregular inter-oestrus interval in sows during different months of the year in Northern Italy.

In this study, 5.103 sows that returned to oestrus were inseminated and assigned to different groups based on the length of their inter-oestrus interval:

- Regular inter-oestrus interval type 1 (RR-1): sows with inter-oestrus interval of 18-23 days*
- Regular inter-oestrus interval type 2 (RR-2): sows with inter-oestrus interval of 36-48 days*
- Irregular inter-oestrus interval (IR group): inter-oestrus interval of 24-35.*

Based on meteorological data of the area in which the farms were located, animals were considered to be under heat stress during the high temperature months of June to August while animals were not considered to be under heat stress during September to May. The proportion of sows with RR-1 was greater ($P < 0.05$) during the high temperature month compared than during the rest of the year. There was no difference between months for the proportion of sows with RR-2. The

proportion of sows with IR was greater ($P < 0.05$) during the months of September and October than during the other months of the year.

Results from this study indicate that, in Northern Italy, during the high temperature months of June-August, there is an increase in the proportion of sows with regular inter-oestrus interval, suggesting a failure of conception or an increase of early embryos losses, while there is an increase in the proportion of sows with irregular inter-oestrus interval during September-October, suggesting later embryo losses.

Introduzione

L'infertilità stagionale nella scrofa è la causa di considerevoli perdite economiche nell'allevamento suino. Le sue manifestazioni cliniche comprendono una riduzione della percentuale dei parti, un prolungamento dell'intervallo svezzamento-estro, un ritardo nell'insorgenza della pubertà e la sindrome degli aborti autunnali (Love, 1993; Martineau, 2003; Domínguez, 1996; Bertoldo et al., 2009). Diversi studi hanno cercato di identificare i fattori che contribuiscono alla riduzione delle performance riproduttive durante il periodo estivo ed i risultati hanno messo in evidenza che sia il fotoperiodo che la temperatura svolgono un ruolo importante (Bertoldo et al., 2009).

Le perdite embrionali e fetali, soprattutto durante le prime settimane di gestazione, aumentano considerevolmente nei mesi estivi a causa dello stress da caldo (Xue et al., 1994). Il meccanismo esatto che determina tali perdite nel suino non è ben chiaro. Per comprendere le differenze tra perdite embrionali e fetali è necessario considerare che nella specie suina la gravidanza s'instaura a seguito di due segnali embrionali basati sulla secrezione degli estrogeni (Pusateri et al., 1996a; Robertson and King, 1974):

1. Un primo segnale attorno al dodicesimo giorno di gestazione.
2. Un secondo segnale attorno al diciottesimo giorno di gestazione

Il primo segnale orienta la secrezione della prostaglandina endometriale $F2\alpha$ ($PGF2\alpha$) in direzione esocrina (verso il lume uterino) e previene così la regressione del corpo luteo (CL). Il secondo segnale è necessario per mantenere tale secrezione di $PGF2\alpha$ fino alla fine della gravidanza (Pusateri et al., 1996b). Approssimativamente, attorno al trentacinquesimo giorno di gestazione, la fase embrionale termina e inizia la fase fetale.

Pertanto, quando la comparsa dell'estro avviene con un intervallo di 25-35 giorni, anziché di 20-22 giorni come dovrebbe essere per un ciclo estrale normale, è probabile che ci sia stato il primo segnale embrionale ma non il secondo (Van der Meulen et al, 1988).

Da quanto appena detto, è probabile che le scrofe in cui l'inseminazione non ha instaurato una gravidanza, o che hanno avuto una perdita embrionale molto precoce, ritorneranno in estro ad un

intervallo regolare (18-24 giorni), mentre quegli animali che si sono ingravidati, ma che poi hanno perso gli embrioni, ritorneranno in estro in modo irregolare (25-36 giorni) (Love, 1993; Dial et al, 1992). Da un punto di vista clinico, nel suino è importante conoscere la distribuzione dei ritorni in estro regolari e irregolari in quanto l'approccio terapeutico scelto sarà differente se si è in presenza di ritorni regolari, e quindi di problemi all'inseminazione, o se invece si ha una prevalenza di ritorni irregolari che indicano una perdita di gravidanza al momento del secondo segnale embrionale. L'obiettivo di questo lavoro è stato quello di determinare l'incidenza dei ritorni regolari, che indicano un insuccesso dell'inseminazione, e dei ritorni irregolari, che rispecchiano perdite embrionali, durante le differenti stagioni dell'anno.

Materiali e metodi

Animali

Sono stati raccolti i dati di 51.048 scrofe provenienti da 20 allevamenti con una consistenza numerica da 350 a 2600 capi, nel periodo compreso dal mese di Gennaio a quello di Dicembre 2009. Gli allevamenti oggetto dello studio sono tutti localizzati nel Nord Italia (Pianura Padana) con condizioni climatiche, come temperatura ed umidità, analoghe nelle varie zone e con un analogo fotoperiodo. Tutti gli allevamenti erano dotati di sistemi di raffrescamento (Munter DCP 30).

Le scrofe sono state tenute in gabbia per il periodo che va dallo svezzamento alla diagnosi di gravidanza e sono state esposte a un fotoperiodo naturale. Le scrofe sono state svezzate dopo un periodo di 24-28 giorni di lattazione, sono state inseminate artificialmente e la diagnosi di gravidanza è stata effettuata a 24-30 giorni dall'inseminazione utilizzando l'ecografia.

Dati meteorologici

Le temperature di ogni mese del 2009 sono state registrate da una stazione meteo locale e sono state identificate due variabili (da Auvigne et al., 2010, con minime variazioni): il numero di giornate "temperate" (temperatura massima di 25 gradi) e il numero di giornate "tropicali" (temperatura minima superiore a 25 gradi). Secondo quanto detto sopra, l'80% dei giorni "tropicali" sono stati osservati nei mesi di Giugno, Luglio e Agosto per cui questo periodo è stato definito come il periodo caldo dell'anno.

Protocollo sperimentale

In base alla durata del periodo inter-estrale (Van der Meulen et al. 1988), le scrofe inseminate dopo lo svezzamento ma poi tornate in estro, sono state suddivise in tre gruppi:

- RR-1 (ritorno in estro regolare di tipo 1): scrofe che dopo l'inseminazione hanno presentato un intervallo inter-estrale tra 18 e 23 giorni.
- RR-2 (ritorno in estro regolare di tipo 2): scrofe che dopo l'inseminazione hanno presentato un intervallo inter-estrale tra i 36 e 48 giorni.
- IR (ritorno in estro irregolare): scrofe che dopo l'inseminazione hanno presentato un intervallo inter-estrale tra i 24 e i 35 giorni.

Le scrofe che presentavano un intervallo inter-estrale minore di 17 giorni o maggiore di 49 giorni, come pure le scrofe che non venivano in estro entro 9 giorni dallo svezzamento, sono state escluse dallo studio.

Analisi statistica

Il tasso di gravidanza (rapporto tra il numero di inseminazioni con gravidanza diviso il numero di totale di scrofe inseminate), la proporzione di scrofe che manifestavano un ritorno regolare di tipo 1 (RR-1), regolare di tipo 2 (RR-2) o irregolare (IR) per ciascun mese sono stati analizzati dividendo il numero di scrofe in ciascun gruppo (RR1 o RR2 o IR) per il numero totale delle scrofe inseminate ritornate in estro (RR1 + RR2 + IR). Per rilevare le differenze stagionali nella proporzione di scrofe con RR-1, RR-2 o IR, è stato utilizzato il test di Kruskal-Wallis. Per testare le differenze sul tasso di gravidanza (e dunque il successo dell'inseminazione) è stato utilizzato il test χ^2 . Il livello di significatività statistica è stato fissato come $p < 0.05$.

Risultati

L'ordine di parto medio delle scrofe coinvolte è stato di 2.8 ± 0.8 . L'intervallo svezzamento-estro di 5.8 ± 0.23 giorni. Il numero totale di inseminazioni effettuate al primo estro dopo lo svezzamento seguite da una gravidanza, sono state 44.275 su 51.048 animali inseminati (86.7%). Il numero di scrofe non gravide alla diagnosi ecografica di gravidanza è stato di 6.773, delle quali, 5.103 (75%) sono ritornate in estro.

Il tasso di gravidanza per le inseminazioni effettuate durante i mesi più caldi (periodo Giugno-Agosto), è stato dell'83,6%, durante il resto dell'anno dell'87,7% ($P < 0.05$).

La proporzione di scrofe con RR1, RR2 e IR è illustrata in Figura 1. Nel periodo tra Giugno e Agosto la proporzione di scrofe nel gruppo RR-1 era significativamente ($P < 0.05$) maggiore rispetto al resto dell'anno mentre, nel periodo tra Settembre e Ottobre è stato maggiore il numero di scrofe nel gruppo IR rispetto a quello RR-1. Non si sono osservate differenze tra i mesi dell'anno nella distribuzione delle scrofe nel gruppo RR-2 .

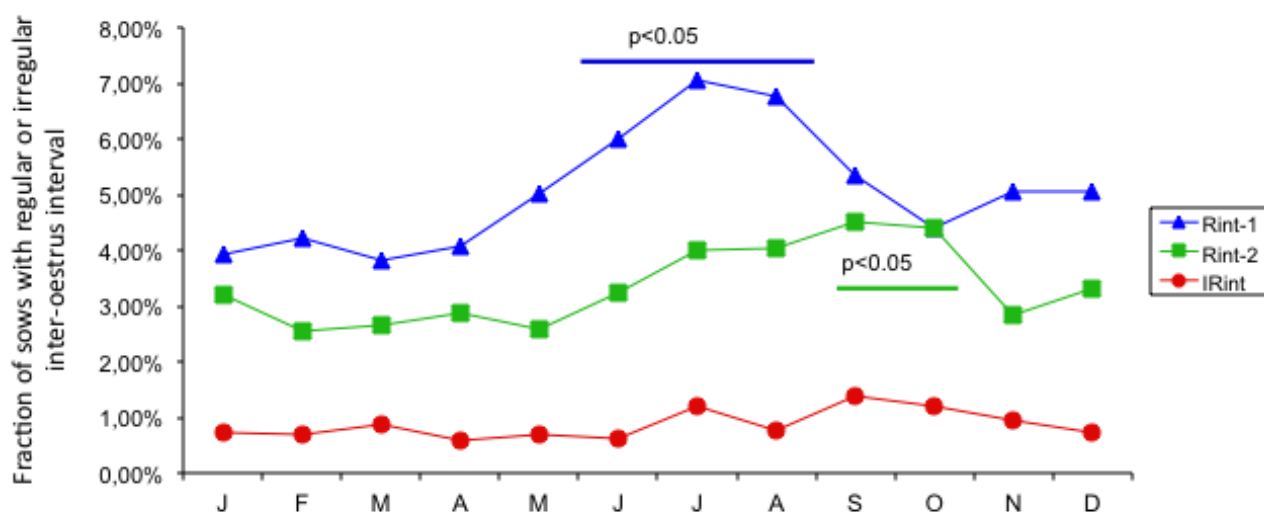


Figura 7: Distribuzione dell'intervallo inter-estro regolare di tipo 1 (RR-1), di tipo 2 (RR-2) ed inter-estro irregolare (RI) nelle scrofe, inseminate dopo lo svezzamento durante i differenti mesi dell'anno.

Discussione

Nel presente studio la percentuale di scrofe (83.1%) che sono rimaste gravide dopo l'inseminazione durante i mesi più caldi dell'anno è stata analoga a quella osservata in precedenti studi volti a valutare l'effetto della stagione dell'anno sul tasso di gravidanza (Domínguez et al., 1996; Xue et al., 1994; Auvigne et al., 2010; Peltoniemi et al., 2006). Per quanto riguarda l'incidenza dei ritorni regolari o irregolari nei diversi periodi dell'anno, in uno studio condotto in Minnesota (Koketsu et al., 1997), è stata osservata una prevalenza di ritorni irregolari (56%) rispetto a quelli regolari (44%) durante il periodo estivo. Al contrario, in un altro studio (Dawson et al., 1998), è stata osservata una prevalenza di ritorni regolari (59%) rispetto a quelli irregolari (41%). Analogamente allo studio di Dawson et al., 1998, i nostri risultati indicano una maggiore proporzione di ritorni regolari (RR) durante il periodo estivo. Tali differenze osservate tra i vari studi potrebbero essere attribuibili alle differenti condizioni di temperatura e umidità esistenti tra le aree geografiche oggetto degli studi, o alla genetica degli animali poiché è stata descritta una differente tolleranza allo stress da caldo tra le linee genetiche suine (Bloemhof et al., 2012). Non va escluso anche un differente effetto del fotoperiodismo.

La presenza di un maggior numero di scrofe con estri regolari durante i mesi più caldi potrebbe essere dovuto a un insuccesso dell'inseminazione o alla mancanza del primo segnale di gravidanza. L'insuccesso dell'inseminazione potrebbe essere attribuito ad un incremento della variabilità

dell'intervallo estro-ovulazione che si osserva con maggiore frequenza durante il periodo estivo (dati non pubblicati). Questa maggiore variabilità aumenta la possibilità che un certo numero di inseminazioni siano eseguite al momento sbagliato.

Nel nostro studio, durante i mesi di Settembre e Ottobre, analogamente a studi precedenti (Xue et al., 1994; Wrathall et al., 1986), è stato osservato un aumento del numero dei ritorni irregolari che suggeriscono la mancanza del secondo segnale di gravidanza. Questo in quanto alcune inseminazioni effettuate nel periodo estivo possono essere avvenute su occiti “invecchiati” a cui fa seguito lo sviluppo di embrioni di qualità inferiore alla norma. Tali embrioni non sono poi stati in grado di inviare un secondo segnale di gravidanza sufficiente per bloccare l'effetto luteolitico delle PGF2alfa. Da qui la perdita della gravidanza a cui ha fatto seguito un ritorno in estro irregolare.

Nelle aziende oggetto del nostro studio erano presenti sistemi di raffrescamento, ciononostante, gli allevamenti hanno assistito a una riduzione del tasso di gravidanza delle inseminazioni effettuate durante i mesi più caldi (83.6%) rispetto al resto dell'anno (87%). La riduzione della fertilità durante l'estate nell'emisfero settentrionale può essere in parte dovuta all'effetto del fotoperiodismo (Dial et al., 1992) e/o dello stress termico. Nelle aziende da noi studiate erano presenti dei sistemi di rinfrescamento ma questi sono stati efficaci fino ad una certa temperatura, in quanto, è stato tecnicamente difficile per questi impianti essere pienamente efficaci in presenza di temperature al di sopra di 30-35 gradi.

Il nostro studio ha due limiti: il primo è che i dati meteorologici erano disponibili solo a livello regionale e sarebbe stato interessante avere dati sul microclima all'interno di ciascun allevamento; il secondo è che non è stata registrata l'intensità luminosa. Comunque, è difficile accedere a questo tipo d'informazioni per un così ampio numero di aziende.

In conclusione i risultati di questo studio indicano che, nel nord Italia, durante i mesi più caldi con un fotoperiodismo prolungato, c'è una maggiore incidenza di ritorni in estro regolari, il che può essere dovuto ad un insuccesso dell'inseminazione, mentre durante i mesi autunnali c'è una maggior percentuale di ritorni irregolari attribuibile a perdite embrionali. Questa distinzione è utile da un punto di vista clinico, in quanto, durante i mesi dell'anno in cui le temperature sono più elevate è importante focalizzare l'attenzione sulle inseminazioni mentre durante il periodo di settembre-ottobre sul mantenimento della gravidanza.

Parte Sperimentale

CAPITOLO 4

Conclusioni generali

Nell'azienda suinicola moderna l'utilizzo di un management che si basi sulla gestione a bande (settimanali o plurisettemanali) richiede che, per ognuna di esse, siano pronti prestabiliti lotti di scrofette da inseminare al fine di rispettare i flussi produttivi.

Generalmente le scrofette presentano i cicli estrali con tempi diversi per cui, in mancanza di una sincronizzazione degli estri, è necessario disporre di un sovrannumero di scrofette (circa un 30% in più) per poter essere certi di raggiungere il proprio target aziendale di inseminazioni. Questo comporta dei costi estremamente elevati per l'azienda, non solo per costi legati al mantenimento degli animali, ma anche per la disponibilità degli spazi necessari. Un efficace protocollo di sincronizzazione degli estri permetterebbe di limitare al minimo il numero di scrofette pronte per la rimonta da mantenere e di ottimizzare l'utilizzo delle strutture aziendali.

Le scrofette possono essere sincronizzate mediante il cosiddetto "effetto verro". Purtroppo l'effetto verro seppure in grado di dare una certa sincronizzazione degli estri, non è sufficientemente affidabile per soddisfare i fabbisogni aziendali di inseminazioni. Un altro sistema si basa sulla somministrazione di ormoni quali l'equine Chorionic Gonadotropin (eCG) e l'human Chorionic Gonadotropin (hCG) o di una loro associazione (eCG+hCG). Purtroppo questi ormoni sono efficaci solo sulle scrofette prepuberi, e quindi devono essere somministrati poco prima della pubertà ma non con troppo anticipo e, in alcuni casi, possono causare la formazione di cisti follicolari che spesso compromettono l'attività riproduttiva della scrofetta per tempi anche molto lunghi. Per le scrofette già cicliche il sistema attualmente più efficace per sincronizzarne gli estri si basa sull'utilizzo di un analogo progestinico, l'Alliltrembolone. La sua somministrazione per 14 o 18 giorni consecutivi, induce una sincronizzazione degli estri in circa l'80-90% degli animali e, generalmente, le performance riproduttive sono analoghe a quelle dei soggetti non trattati. Purtroppo questo protocollo, presta il fianco a diverse difficoltà attuative e non sempre dà dei risultati soddisfacenti. Infatti, il farmaco ha un costo, ma soprattutto una modalità di somministrazione, non agevole in quanto deve essere individuale, quindi per ciascun animale, ed eseguita quotidianamente alla stessa ora da personale adeguatamente addestrato. Tali aspetti, non di secondaria importanza, condizionano notevolmente il risultato del trattamento perché pongono l'accento un limite delle procedura, ovvero su chi, come e dove effettuare la somministrazione dell'Alliltrembolone.

L'utilizzo delle Prostaglandine (PGF2alfa), a differenza di altre specie come la bovina, la pecora e la cavalla, non è utilizzabile nelle scrofette in quanto i corpi lutei (CLs) del suino non sono sensibili all'effetto luteolitico della singola somministrazione di PGF2alfa fino al 12° giorno del ciclo estrale. I motivi di questa refrattarietà non sono stati ancora chiariti ma il problema non è la mancanza di recettori per le prostaglandine dato che questi sono già presenti, anche se in numero ridotto, a partire dai primi stadi della fase luteinica del ciclo. Questi recettori, se debitamente stimolati, possono indurre la luteolisi già a partire dal 6-7° giorno del ciclo estrale stesso.

Sarebbe quindi molto importante poter utilizzare le PGF2alfa per la sincronizzazione degli estri anche nella scroffetta, come già avviene nella bovina, pecora e cavalla, dove le PGF2alfa sono uno dei principali farmaci utilizzati per la sincronizzazione degli estri e delle ovulazioni. Inoltre, le PGF2alfa sono dei farmaci di facile impiego sia per il protocollo che per l'inoculazione con costi relativamente bassi. Oltretutto, solitamente, se somministrate dopo il trattamento con progesterone, rendono più precisa la sincronizzazione e migliorano le performances riproduttive.

Per cui, lo scopo del primo esperimento della tesi (ESPERIMENTO 1, pubblicato su Italian Journal of Animal Science, vol.13:2014, 479-481) è stato quello di valutare se sia possibile indurre la luteolisi con le PGF2alfa prima del 12° giorno del ciclo mediante l'attuazione di un protocollo per la loro somministrazione più simile al rilascio endogeno, che in natura è pulsatile. Pertanto è stata utilizzata una somministrazione di PGF2alfa non singola, ma doppia, e a dosaggi più elevati di quelli utilizzati per la sincronizzazione dei parti. Infine il punto di inoculo è stato a livello perivulvare.

In questo studio, per capire meglio i meccanismi di luteolisi, sono stati fatti anche dei prelievi frequenti di sangue per tutto il periodo della prova per valutare i livelli ematici di progesterone. Per realizzare questi prelievi è stato messo a punto un nuovo sistema di raccolta del sangue a livello della vena auricolare non invasivo che permette prelievi frequenti per diversi giorni (ESPERIMENTO n. 2 pubblicato su Large Animal Review 20:65-68).

Mediante la valutazione dei livelli ematici di progesterone i risultati dell'esperimento indicano che la somministrazione di PGF2alfa al 7, 9, e 10° giorno del ciclo estrale è in grado di indurre una luteolisi completa nel 30% delle scrofette trattate, una luteolisi parziale in un altro 30% e nessun effetto nelle restanti scrofette. I motivi di questa variabilità nella risposta al trattamento con PGF2alfa non sono chiari ma, questo studio, analizzando i livelli ematici di progesterone, indica che gli animali con un numero maggiore di CLs richiederebbero dosaggi più alti di PGF2alfa per ottenere una lisi completa rispetto ad animali con un numero di CLs ridotto. Quindi, se un domani

saranno disponibili degli analoghi long-acting della PGF2alfa si potrà indurre la luteolisi con una singola somministrazione di PGF2alfa già a partire dal 7 giorno del ciclo estrale.

Come precedentemente descritto, il sistema attualmente più utilizzato per sincronizzare gli estri nelle scrofette si basa sul trattamento con Alliltrembolone per 14 o 18 giorni consecutivi. Questo, oltre ai costi ed alle difficoltà di somministrazione (per os giornalmente ad ogni singolo animale), potrebbe avere anche degli effetti negativi sulla fertilità e sulla prolificità. Infatti, nella specie bovina ed ovina è stato descritto che se il follicolo viene sottoposto ad un'attività prolungata del progesterone, tenderà a diventare persistente e quindi si formeranno degli oociti "invecchiati" che, oltre ad essere difficilmente fecondabili, producono degli embrioni di qualità inferiore al normale e più predisposti alla mortalità.

Perciò, nell'ESPERIMENTO 3 (in stampa su Journal Swine Health Production) si sono voluti verificare gli effetti sulla fertilità e sulla prolificità di un trattamento con Alliltrembolone per 18, 14, 10 e 12 giorni dove, in questi ultimi due gruppi, il progestinico è stato seguito dalla somministrazione di una doppia dose di PGF2alfa. I risultati di questo studio sono stati che nella scrofetta, il trattamento con un progestinico di durata ridotta (10 o 12 gg) rispetto a quella standard normalmente utilizzata (14 o 18gg) ha la stessa efficacia per la sincronizzazione degli estri senza modificarne la fertilità. Dal punto di vista fisiologico questo suggerisce che gli effetti del progesterone sullo sviluppo follicolare sono diversi in una specie politocica, come il suino, rispetto a specie monotociche, quali la bovina, cavalla e pecora in quanto, mentre la somministrazione prolungata di progesterone nella bovina, pecora e cavalla compromette lo sviluppo follicolare, questo non avviene per la specie suina.

Infine, in un quarto esperimento (in stampa su Large Animal Review) è stata valutata nelle scrofe dopo lo svezzamento la distribuzione dei ritorni in estro regolari, che indicano un probabile insuccesso dell'inseminazione, e dei ritorni irregolari, che rispecchiano perdite embrionali, durante le differenti stagioni dell'anno. Queste informazioni possono dare un'indicazione dell'approccio clinico da effettuare per contrastare l'infertilità estiva. I risultati di questo studio sono stati che durante i mesi dell'anno in cui le temperature sono più elevate, come il periodo estivo, è necessario focalizzare l'attenzione sulle inseminazioni mentre, durante il periodo di settembre-ottobre, sul mantenimento della gravidanza. Ne consegue che nel primo caso sarà importante utilizzare dei protocolli d'induzione e sincronizzazione dell'estro mediante l'utilizzazione di gonadotropine ipofisarie, nel secondo caso, si potrebbe tentare di mantenere la gravidanza mediante la somministrazione di progesterone.

Bibliografia

- 1) Ainsworth L., Baker R.D., Armstrong D.T. (1975) Pre-ovulatory changes in follicular fluid prostaglandin F levels in swine. *Prostaglandins*. 9:915-25
- 2) Ainsworth L., Tsang B.K., Downey B.R., Marcus G.J. (1990) The synthesis and action of steroids and prostaglandins during follicular maturation in the pig. *J. Reprod. Fertil. (suppl.)* 40:137-150.
- 3) Almeida, F. R. C. L., Novak S., Foxcroft G. R. (2000) The time of ovulation in relation to estrus duration in gilts. *Theriogenology*. 53:1389-1396.
- 4) Anderson L.L., Butcher R.L., Melampy R.M. (1961) Subtotal hysterectomy and ovarian function in gilts. *Endocrinology*. 69:571-580.
- 5) Anderson, L. L., Dyck G. W., Mori H., Hendricks D. M., Melampy R. M. (1967) Ovarian function in pigs following hypophysial stalk transection or hypophysectomy. *Am. J. Physiol.* 212:1188. (Abstr.)
- 6) Asdell, S. A. (1964) *Patterns of Mammalian Reproduction*. 2nd ed. Cornell University Press. Ithaca, NY.
- 7) Ashworth C. (2006) Reproduction. in Kyriazakis I., Whittemore C.T. *Whittemore's science and practice of pig production*. 3th ed., Oxford, Blackwell Publishing, 104-147
- 8) Auvigne V., Leneveu P., Jehannin C., Peltoniem O., Sallè E. (2010) Seasonal infertility in sows: a five years field study to analyse the relative roles of heat stress and photoperiod. *Theriogenology*. 74:60-66.
- 9) Bacci M.L., Barazzoni A.M., Forni A., Costerbosa G.L. (1996) In situ detection of apoptosis in regressing corpus luteum of pregnant sow: evidence of an early presence of DNA fragmentation. *Domest. Anim. Endocrinol.* 13:361-372.
- 10) Barb C., Hausman G., Lents, C. (2008) Energy Metabolism and Leptin: Effects on Neuroendocrine Regulation of Reproduction in the Gilt and Sow. *Reprod. Dom. Anim.* 43:324-330.
- 11) Bates, R. O., Day B. N., Britt J. H., Clark L. K., Brauer M. A. (1991) Reproductive performance of sows treated with a combination of pregnant mare's serum gonadotropin and human chorionic gonadotropin at weaning in the summer. *J. Anim. Sci.* 69:894-898.
- 12) Bertacchini F., Campani I. (2001a) L'inseminazione. In *Manuale di allevamento suino*. Cap 11. Bologna. Edagricole. 92-109.
- 13) Bertacchini F., Campani I. (2001b) Parto ed assistenza al parto. In *Manuale di allevamento suino*. Cap 15. Bologna. Edagricole. 136-148.
- 14) Bertoldo M., Grupen C.G., Thomson P.C., Evans G., Holyoake P.K. (2009) Identification of sow-specific risk factors for late pregnancy loss during the seasonal infertility period in pigs. *Theriogenology*. 72:393-400.
- 15) Bloemhof S., Kause A., Knol E.F., Van Arendonk J.A., Misztal I. (2012) Heatstress effects on farrowing rate in sows: genetic parameter estimation using within-line and crossbred models. *J. Anim. Sci.* 90:2109-2119.

- 16) Bridges G.A., Helser L.A., Grum D.E., Mussard M.L., Day M.L. (2008) Decreasing the interval between GnRH and PGF2a from 7 to 5 days and lengthening proestrus increases timed-AI pregnancy rates in beef cows. *Theriogenology*. 69:843–851.
- 17) Brinkley, H. J. (1981) Endocrine signaling and female reproduction. *Biol. Reprod.* 24:22-43
- 18) Britt, J. H. (1986) Improving sow productivity through management during gestation, lactation and after weaning. *J. Anim. Sci.* 63:1288–1296
- 19) Britt, J. H., Day B. N., Webel S. K., Brauer M. A. (1989) Induction of fertile estrus in prepubertal gilts by treatment with a combination of pregnant mare's serum gonadotropin and human chorionic gonadotropin. *J. Anim. Sci.* 67:1148-1153.
- 20) Broom, DM., (1988) The scientific assessment of animal welfare. *App. Anim. Behav. Sci.* 20:5-19
- 21) Buxadè C.C., Granell E.M., Montes D.L. (2007) El parto y sus claves. In *La cerda reproductora: claves de su optimización productiva*. Cap IX. Editorial Euroganadería. 363-400.
- 22) Carr J. (2013a) Managing health in the farrowing and suckling period. In *Managing Pig Health and the Treatment of Disease*, Muirhead M.R., Alexander T.J.L. 5M Enterprises Ltd., Sheffield (UK), 269-327.
- 23) Carr J. (2013b) Reproduction: non infectious infertility. In: *Managing the Pig Health and the Treatment of Disease*. 5M Enterprises Ltd., Sheffield (UK), 159-198.
- 24) Castren H., Algers B., De Passille A.M., Rushen J., Uvnas-Moberg K. (1993) Preparturient variation in progesterone, prolactin, oxytocin and somatostatin in relation to nest building in sows. *App. Anim. Beh. Sci.* 38, 91-102.
- 25) Cates W.F. (1963) Minimum daily exogenous progesterone requirement for implantation in the bovine species. PhD Thesis. University of Minnesota.
- 26) Caton J., Jesse G., Day B., Eilersieck M. (1986) The effect of duration of boar exposure on the frequency of gilts reaching first estrus. *J. Anim. Sci.* 62:1210–1214.
- 27) Christison G.I., Curtin T.M. (1969) A simple venous catheter for a sequential blood sampling from unrestrained pigs. *Lab. Anim. Care.* 19:259-262.
- 28) Claus R. (1990) Physiological role of seminal components in the reproductive tract of the female pig. *J. Reprod. Fertil. (Suppl)* 40:117-131.
- 29) Connor L., Phillips G.D., Palmer W.M. (1976) Effects of prostaglandin on the estrous cycle and hormone levels in the gilt. *Can. J. Anim. Sci.* 56:661-669.
- 30) Davis D. L., Stevenson J. S., Schmidt W.E. (1985) Scheduled breeding of gilts after estrous synchronization with altrenogest. *J. Anim. Sci.* 60:599-602.
- 31) Dawson A., Pitt R., Sharpe C.E. (1998) Seasonality and reproduction. in *Progress in pig Science*. Edited by J. Winseman, M.A. Varley Chadwicj. Nottingham University press. UK, 327-342.
- 32) De Alba C., Fuentes J., Rioperez J., Ziecik A., Garcia C., Martin Rillo S. (1998) Effect of vitamins-mineral shock (vit. A, D3, E and Se) on the development of the genital tract, ovary activity and litter size in gilts. *Proceedings 15th IPVS Congress, Birmingham U.K.*
- 33) De Passillé A., Rushen J., Foxcroft G., Aherne F., Schaefer A. (1993) Performance of young pigs: relationships with periparturient progesterone, prolactin and insulin of sows. *J. Anim. Sci.* 71:179-184.

- 34) De Rensis F., Sottocorona M., Kirkwood R.N. (2002) Effect of prostaglandin and dexamethasone injection on farrowing and piglet neonatal growth. *Vet. Rec.* 14:330-331.
- 35) De Rensis F., Peter A.R.. (1999) The control of follicular dynamics by PGF₂ α , GnRH, hCG and estrus synchronization in cattle. *Reprod. Dom. Anim.* 34, 49-59.
- 36) De Rensis F., Saleri R., Tummaruk, P., Techakumphu M., Kirkwood R.N. (2012) Prostaglandin F₂ α and control of reproduction in female swine: a review. *Theriogenology.* 77, 1-11.
- 37) Debenedetti A. (1992) Ovaio. In *Endocrinologia*, Aguggini G., Beghelli V., Giulio L.F., *Fisiologia degli animali domestici con elementi di etologia*, Cap. 15, Torino, UTET, 729-735.
- 38) Degenstein K.L., O'Donoghue R., Patterson J.L., Beltranena E., Ambrose D.J., Foxcroft G.R., Dyck M.K., (2008) Synchronization of ovulation in cyclic gilts with porcine luteinizing hormone (pLH) and its effects on reproductive function. *Theriogenology*, 70, 1075-1085, 2008.
- 39) Deligeorgis S., Lunney D., English P. (1984) A note of efficacy of complete v partial boar exposure on puberty attainment in the gilt. *Anim. Prod.* 39:145-147.
- 40) Dial G. D., Britt J. H. (1986) The clinical endocrinology of reproduction in the pig. in *Current Therapy in Theriogenology*. W. B. Saunders. Philadelphia, PA. 905-911
- 41) Dial G.D., Marsh W.E., Pulson D.D., Vaillancourt J.P. (1992) Reproductive failure: differential diagnosis. in *Disease of Swine*. Leman A.D., Straw Be, Mengeling W.L., D'allaire S., Tajlor D.J. (eds). 7th ed. Iowa State University Press, USA. 188-137.
- 42) Diehl J.R., Day. B-N. (1974) Effect of prostaglandin F α on luteal function in swine. *J. Anim. Sci.* 39, 392-396.
- 43) Domínguez J.C., Peña F.J., Anel L., Carbajo M. (1996) Swine summer infertility syndrome in north west Spain. *Vet Rec*, 139:93-94.
- 44) Donald R.A., Salisbury M.S., Nabarpo J.D.N. (1968) The plasma corticotrophin response to insulin hypoglycemia, lysine-vasopressin and metyrapon in pigs. *J. Endocr.* 41:509-518.
- 45) Dougherty R.W., Shuman R.D., Mullenax C.H., Witzel D.A., Buck W.B., Wood R.L., Cook H.M. (1965) Physiopathological studies of erysipelas in pigs. *Cornell Vet.* 55:87-109.
- 46) Du Mesnil du Buisson F., Dauzier L. (1957) Influence de l'ovariectomie chez la truie pendant la gestation. *Comptes Rendus Seances SocietyBiologie Filiales* 151-311.
- 47) Dziuk, P. J. (1991) Reproduction in the pig. in *Reproduction in Domestic Animals*. 4th ed. Academic Press. New York. 471-489
- 48) Edwards S. (1998) Nutrition of the rearing gilt and sow. Wiseman, J., Varley, M.A., Chadwick, J.P. (Eds.). *Progress in Pig Science*. Nottingham University Press, Nottingham, 361-382
- 49) Einarsson S., Viring S., Lindell J.O. (1975) The effect of prostaglandin F₂ alpha and oxytocin on porcine myometrium in vitro. *Zuchthygiene* 10:135-139.
- 50) Eliasson L. (1989) A study on puberty and oestrus in gilt. *Zentralbl Veterinarmed. A.* 36:46-54.
- 51) Ellendorff F., Forsling M., Parvizi N., Williams H., Taverne M. (1979) Plasma oxytocin and vasopressin concentration in response to prostaglandin injection into the pig. *J. Repr. Fert.* 56, 573-577
- 52) EMEA, (1997) The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. Cloprostenol and R-cloprostenol summary report.

- 53) Engl S., Udluft T., Hühn U., Zaremba W., Bostedt H., (2006) Reducing risks of parturition through very low dosages of long-lasting oxytocin (carbetocin) in sows. Proceedings 19th IPVS Congress. Copenhagen DK. Vol 2, 508.
- 54) Estienne M. J., Harper A. F. (2002) Case Study: Synchronization of estrus and fertility in gilts administered P.G. 600 after treatment with Regu-mate for 14 or 18 days. Prof. Anim. Sci. 18:158-161.
- 55) Estienne M. J., Hartsock T. G. (1997) Effect of exogenous gonadotropins on the weaning-to-estrus interval in sows. Theriogenology. 49:823-828.
- 56) Estill C.T., Britt J.H, Gadsby J.E. (1995) Does increased PGF₂ α induce luteolysis during early diestrus in the pig? Prostaglandins 49, 255-267.
- 57) Estill C.T., Britt J.H., Gadsby J.E. (1993) Repeated administration of prostaglandin F₂ α during the early luteal phase causes premature luteolysis in the pig. Biol. Reprod. 49, 181-185.
- 58) Faravelli E. (2004) Il ciclo estrale nella scrofa. disponibile su www.ERSAF Lombardia.it – riproduzione. 2004.
- 59) First N.I., Lohse J.K., Nara B.S. (1982). The endocrine control of parturition. In Cole D.J.A. and Foxcroft G.R., eds Control of pig reproduction. UK: Butterworths. 311-342
- 60) Flaus L., Gillette G. (1994) Use of DinolyticTM sterile solution (PGF₂ α) in sows between 36 and 48 h post-farrowing. Proc 13th IPVS Congress. Bangkok. 382.
- 61) Flynn J.D., Duffy P., Boland M.P., Evans A.C.O. (2000) Progestagen synchronization in the absence of a corpus luteum results in the ovulation of a persistent follicle in cyclic ewe lambs. Anim. Reprod. Sci. 62:285-296.
- 62) Friendship R.M., Templeton C.L., Deckert A.E. (1990) An evaluation of vulvomucosal injection of prostaglandins for induction of parturition in swine. Can. Vet J., 31: 433-436.
- 63) Gadsby J.E., Balapure A.K., Britt J.H., Fitz T.A. (1990) Prostaglandin F₂ alfa receptors on enzyme dissociated pig luteal cells throughout the estrous cycle. Endocrinology 126, 787-795.
- 64) Gadsby J.E., Lovdal J.A., Britt J.H., Fitz T.A. (1993) Prostaglandin F₂ alpha receptor concentrations in corpora lutea of cycling, pregnant, and pseudopregnant pigs. Biol. Reprod. 49, 604-608.
- 65) Garcia-Ispuerto I., Roselló M.A., De Rensis F., López-Gatius F. (2013) A five-day progesterone plus eCG-based fixed-time AI protocol improves fertility over spontaneous estrus in high-producing dairy cows under heat stress. J. Reprod. Dev. 59:544-548.
- 66) Getty R., Choshal N.G. (1967) Applied anatomy of the sacrococcygeal region of pig as related to tail-bleeding. Vet. Med. Small. Animal. Clin. 63:361-367.
- 67) Gleeson A. R. (1974) Luteal function in the cyclic sow after infusion of prostaglandin F₂-alpha through a uterine vein. J. Reprod. Fertil. 36:487-488.
- 68) Gleeson, A.R., Thorburn, G.D., Cox R.I. (1974) Prostaglandin F concentration in the utero-ovarian venous plasma of the sow during the luteal phase of the estrous cycle. Prostaglandin 5, 521-529.
- 69) Gordon J. (1997). Control of farrowing. In Controlled reproduction in pigs. Vol. 3. CAB International. 116-145.
- 70) Grun E., Huller H.G., Mockel H.G. (1973) Dauckatheter am schweinohr. Monats Veterinaermed. 28:263-265.

- 71) Gunvaldsen R.E., Waldner C., Harding J.C. (2007) Effect of farrowing induction on suckling piglet performance. *Swine Health and Production*, 15, 84-91.
- 72) Guthrie H. D., Cooper B. S. (1995) Granulosa cell apoptosis, follicular fluid hormones, and circulating gonadotropins during the mid-luteal phase of the estrous cycle in pigs. *Biol. Reprod.* 52(Suppl.1):150.
- 73) Guthrie H. D., Grimes R. W., Cooper B. S., Hammond J. M. (1995) Follicular atresia in pigs: measurement and physiology. *J. Anim. Sci.* 73:2834-2844.
- 74) Guthrie H.D., Polge C. (1976) Luteal function and oestrus in gilts treated with a synthetic analogue of prostaglandin F_{2α} (ICI79.939) at various times during the oestrus cycle. *J. Reprod. Fertil.* 48, 423-425.
- 75) Guthrie H.D., Rexroad C.E. (1981) Endometrial prostaglandin F release in vitro and plasma 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F_{2α} in pigs with luteolysis blocked by pregnancy, estradiol benzoate or human chorionic gonadotropin. *J. Anim. Sci.* 52:330-339.
- 76) Hand M.S., Philips R.W., Miller C.W., Mason R.A., Lumb W.V. (1981) A method for quantitation of hepatic, pancreatic, and intestinal function in conscious Yucatan Miniature Swine. *Lab. Anim. Sci.* 31:728-731.
- 77) Hansel W., Concannon P. W., Lukaszewska P.H. (1973) Oestrous cycle of the pig. *Biol. Reprod.* 8:222.
- 78) Harris W.H. (1974) A technique for chronic venous cannulation in swine. *Lab. Ani.* 8:237-240.
- 79) Haskell M.J., Hutson G.D. (1994) Pre-farrowing behaviour of sows and gilts with access to space for locomotion. *Austr. J. Exp. Agri.* 34, 1099-1105.
- 80) Holtz W., Schmidt-Baulain R., Meyer H., Welp C. (1990) Control of prostaglandin-induced parturition in sows by injection of the beta-adrenergic blocking agent carazolol or carazolol and oxytocin. *J. Anim. Sci.*, 68:3967-3971.
- 81) Horlein A.B., Hubbard A.B., Getty R. (1951) The procurement and handling of swine blood samples on the farm. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 119:357-362.
- 82) Horton E.W., Poyser N.L. (1976) Uterine luteolytic hormone: a physiological role for prostaglandin F_{2α}. *Physiol. Rev.* 56:595-651.
- 83) Hughes P., Pearce G., Paterson A. (1990) Mechanisms mediating the stimulatory effects of the boar on gilt reproduction. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 40:323-341.
- 84) Huhn R.G., Osweiler G.D., Switzer W.P. (1969) Application of the orbital sinus bleeding technique to swine. *Lab. Anim. Care.* 19:403-405.
- 85) Inskeep E.K., Murdoch W.J. (1980) Relation of ovarian functions to uterine and ovarian secretion of prostaglandins during the estrous cycle and early pregnancy in the ewe and cow. *Int. Rev. Physiol.* 22:325-356.
- 86) Jackson I.M., Cook D.B., Cill G. (1972) Simultaneous intravenous infusion and arterial blood sampling in piglets. *Lab. Anim. Sci.* 22:552-555.
- 87) Keita A., Pagot E., Pommier P. (2006) Evaluation terrain de l'effet d'une injection de cloprostenol (Planate®) à des truies 24 à 48 heures après leur mise bas. *Actes de l'Ass. Fr. Méd. Vét. Porc., Toulouse*, 121.
- 88) Kemp B., Soede N. M. (1996) Relationship of weaning-to-estrus interval to timing of ovulation and fertilization in sows. *J. Anim. Sci.* 74:944-949.

- 89) Kimball F.A., Lauderdale J.W. (1976) Comparison of luteolytic effectiveness of several prostaglandin analogs in heifers and relative binding affinity for bovine luteal prostaglandin binding sites. *Prostaglandins*. 12:985–995.
- 90) Kindahl H., Edqvist L.E., Bane, Granstrom E. (1976) Blood levels of progesterone and 15-keto-13, 14-dihydroprostaglandin F2a during the normal oestrous cycle and early pregnancy in heifers. *Acta Endocrinol.* 82:134–149.
- 91) Kindahl H., Lindelland J.O., Edqvist L.E. (1981) Release of prostaglandin F2 α during the oestrus cycle. *Acta Vet. Scand. (Suppl.)* 77:143-158.
- 92) Kinder J.E., Kojima F.N., Bergfeld E.G., Wehrman M.E., Fike K.E. (1996) Progestin and estrogen regulation of pulsatile LH release and development of persistent ovarian follicles in cattle *J. Anim. Sci.* 74:1424–1440.
- 93) Kirkwood R. (2002) Seasonal infertility-current understandings. Swine Disease Conference for Swine Practitioners 2002. Iowa State University. 118-121.
- 94) Kirkwood R. (2003) Understanding and managing seasonal infertility. Allen D. Leman Swine Conference 2003. University of Minnesota. 164-168.
- 95) Kirkwood R. (1999b) Influence of postpartum cloprostenol injection on sow and litter performance. *Swine Health Prod.* 7:121–122.
- 96) Kirkwood R. N. (1999a) Pharmacological intervention in swine reproduction. *Swine Health and Production*, 7:29-35.
- 97) Kirkwood R., Aherne F., (1985) Energy Intake, Body Composition and Reproductive:Performance of the Gilt. *J. Anim. Sci.* 60: 1518-1529.
- 98) Kirkwood R.N., Aherne F.X. (1998) Increasing the predictability of cloprostenol-induced farrowing in sows, *Swine Health and Production*. 6,219-222.
- 99) Kirkwood R.N., Thacker P.A., Aherne F.X., Goonewardene L.A. (1996) The effect of dose and route of administration of prostaglandin F2 α on the parturiente response of sows. *Swine Health and Production*, 4(3), 123-126.
- 100) Kirkwood, R. N., Aherne F. X., Foxcroft G. R. (1998) Effect of gonadotropin at weaning on reproductive performance of primiparous sows. *Swine Health Prod.* 6:51–55.
- 101) Klopfenstein C., Farmer C., Martineau G-P. (2006) Diseases of the mammary glands and lactation problems. in *Diseases of Swine*. Straw B.E., Zimmerman J.J., Taylor D.J., eds. 9th ed. Ames: Iowa State University Press 833-860.
- 102) Knauer M.T., Cassady J.P., Newcom D.W., See M.T. (2010) Estimates of variance components for genetic correlations among swine estrus traits. *J. Anim. Sci.* 88:2913-2919.
- 103) Knippel J.E., Peace R.W., Evans J.A. (1975) Multiple vascular and gastric cannulation of swine for studies of gastrointestinal, liver, and peripheral tissue metabolism. *Lab. Anim. Sci.* 25:74-78.
- 104) Knox R. V., Tudor K. W., Zas-Rodriguez S. L., Robb J. A. (2000) Effect of subcutaneous vs. intramuscular administration of P.G 600 on estrus and ovulatory responses of prepubertal gilts. *J. Anim. Sci.* 78:1732-1737.
- 105) Knox R.V. (2001) Managing the gilt; factors influencing attainment of puberty and attrition. *Livestocktrail*. Illinois.edu – Illinois University. 2001.

- 106) Koketsu Y., Dial D.G., Pettigrew J.E., Xue J., Yang H., Lucia T. (1998) Influence of lactation length and feed intake on reproductive performance and blood concentrations of glucose, insulin and luteinizing hormone in primiparous sows. *Anim. Reprod. Sci.* 52:153-163.
- 107) Koketsu Y., Dial G.D. (2002). Administration of prostaglandin F2 α after farrowing alters the association between lactation length and subsequent litter size in mid- or old-parity sows. *Theriogenology*, 57, 837-843.
- 108) Koketsu Y., Dial G.D., King V.L. (1997) Returns to service after mating and removal of sows for reproductive reasons from commercial swine farms. *Theriogenology*. 47:1347-1363
- 109) Kos M., Bilkei G. (2004) Prostaglandin F2a supplemented semen improves reproductive performance in artificially inseminated sows. *Anim. Reprod. Sci.* 80:113-120
- 110) Kraeling R. R., Barb C. R. (1990) Hypothalamic control of gonadotropin and prolactin secretion in pigs. *J. Reprod. and Fert.* 40:3-17.
- 111) Kral J., Mysikova S., Bilek P., Borovicka A., Pichcova D., Seik B. (1989) Luteolytic effect of d-cloprostenol and its residue in milk and organs. *Biol. Chem. Vet.* 25:293-300.
- 112) Kuge T., Iwata H., Kuwayama T., Domeki L., Shioya Y., Monji Y.I. (2006) Induction of estrus by prostaglandin F2 α administration in the vagina vestibules of miniature pig. *J. Reprod. Dev.* 52, 391-396.
- 113) Langendijk P., Bouwman E.G., Kidson A., Kirkwood R.N., Soede N.M., Kemp B. (2002) Functions of myometrial activity in sperm transport through the genital tract and fertilisation in sows. *Reproduction*. 123:683-690.
- 114) Lauderdale J., Hanson B., Chenault J. (1988) The effect of injecting 2 ml LutalyseTM/DinolyticTM sterile solution (dinoprost tromethamine) into post-partum sows on number of piglets born and born alive per litter in the subsequent farrowing. *Proceedings 15th IPVS Congress, Birmingham* p215.
- 115) Levis D.G. (2001) What's New with Seasonal Infertility?. *George A. Young Swine Conference 2001. University of Nebraska.* 28-64.
- 116) Lofstedt R.M., Patel J.H. (1989) Evaluation of the ability of altrenogest to control the equine estrous cycle. *J. Am. Vet. Assoc.* 194:361-364
- 117) Lorenzo J., Imaz M., Fernandez de Aragon J., Gilbert J., Simon X. (1992) Effect of LutalyseTM (DinolyticTM) sterile solution administered during the lactation period on several reproduction parameters of sows. *Proceedings 12th IPVS Congress. The Hague.* p496.
- 118) Love R.J., Evans G., Kluiec C. (1993) Seasonal effects on fertility in gilts and sows. *J. Reprod. Fertil. (Suppl. 1)* 48:191-206.
- 119) Lucy M. C. (1999) Ovarian ultrasonography in sows. in *Ultrasonography and Reproduction in Swine*. K. McElhearn, ed. Institut National de la Recherche Agronomique, Paris Cedex, France. p1-7.
- 120) Luke J.N., Hall G.M.. (1978) A technique for measuring hepatic blood flow and oxygen consumption in the anesthetised pig. *Res. Vet. Sci.* 25:393-394.
- 121) Martinat-Botte F., Bariteau F., Forgerit Y., Macar C., Moreau A., Terqui M., Signoret J. P. (1990) Control of oestrus in gilts II: Synchronization of oestrus with a progestogen, Allyltrembolone (Regumate): Effect on fertility and litter size. *Anim. Reprod. Sci.* 22:227-233.

- 122) Martinat-Botte, F., Bariteau F., Forgerit Y., Macar C., Moreau A., Terqui M. (1995) Synchronization of oestrus in gilts with altrenogest: effects on ovulation rate and fetal survival. *Anim. Reprod. Sci.* 39:267-274.
- 123) Martineau G-P. (2003) Non infectious abortions in sows, 10th International Symposium on Pig Reproduction and Artificial Insemination, Rome 5-7 May. 1-9
- 124) Mazzone C. (2007) Fisiologia del parto. in Gestione della sala parto. Cap. 2, Milano, Point Veterinarie Italie, 27-32.
- 125) Mburu J. N., Einarsson S., Dalin A-M., Rodriguez-Martinez H. (1995) Ovulation as determined by transrectal ultrasonography in multiparous sows: relationships with oestrous symptoms and hormonal profiles. *J. Vet. Med.* 42:285-292.
- 126) McCracken J.A., Carlson J.S., Glew M.E., Goding J.R., Baird D.T., Gréen K., Samuelsson B. (1972) Prostaglandin F₂ identified as a luteolytic hormone in sheep. *Nat. New Biol.* 238:129-134.
- 127) McCracken J.A., Glew M.E., Scaramuzzi R.J. (1970) Corpus luteum regression induced by prostaglandin. in F₂-alpha, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 30:544-546.
- 128) Meites F.D., Webster H.D., Young F.W., Thorp J.F., Hatch R.N. (1951) Effects of corpora lutea removal and replacement with progesterone on pregnancy in goats. *J. Anim. Sci.* 10:411-416.
- 129) Melendez P., McHale J., Bartolome J., Archbald L., Donovan G. (2004) Uterine involution and fertility of Holstein cows subsequent to early postpartum PGF₂alpha treatment for acute puerperal metritis. *J. Dairy Sci.* 87:3238-3246.
- 130) Moeljono M.P.E., Thatcher W.W., Bazer F.W., Frank M., Owens L.J., Wilcox C.J. (1977) A study of prostaglandin F_{2a} as the luteolysin in swine: II. Characterization and comparison of prostaglandin F_{2a}, estrogen and progestin concentration in utero-ovarian vein plasma of non pregnant and pregnant gilts. *Prostaglandin.* 14:543-555.
- 131) Moeljono M.P.E., Bazer F.W., Thatcher W.W. (1976) A study of prostaglandin F_{2a} as the luteolysin in swine. I. Effects of prostaglandin F_{2a} in hysterectomized gilts. *Prostaglandins.* 11:737-743.
- 132) Motas-Rojas D., Martinez-Burnes J., Trujillo-Ortega M.E., Alonso-Spilsbury M.L., Ramirez-Necoechea R., Lopez A. (2002) Effect of oxytocin treatment in sows on umbilical cord morphology, meconium staining, and neonatal mortality in piglets. *Am. J. Vet. Res.* 63 (11):1571-2574.
- 133) Nancarrow C.D., Buckmaster J., Chamley W., Cox R.I., Cumming I.A., Cummins L., Drinan J.P., Findlay J.K., Goding J.R., Restall B.J., Schneider W., Thorburn G.D. (1973) Hormonal changes around oestrus in the cow. *J. Reprod. Fertil.* 32:320-321.
- 134) Niiyama, M., Yonemichi, H., Haharada, E., Syuto, B., Kitagawa, H. (1985) A simple catheterization from the ear vein into the jugular vein for sequential blood sampling from unrestrained pigs. *Jpn. J. Vet. Res.* 33:1-9.
- 135) Nissen A. K., Soede N. M., Hyttel P., Schmidt M., D'Hoore L. (1997) The influence of time of insemination relative to time of ovulation on farrowing frequency and litter size in sows, as investigated by ultrasonography. *Theriogenology.* 47:1571-1582.
- 136) Niswender, G. D., Reichert L.E., Zimmerman D. R. (1970) RIA of serum levels of LH throughout the estrous cycle in pigs. *Endocrinology.* 37:576-580.

- 137) Oxenreider S.L., McClure R.C., Day B.N. (1965) Arteries and veins of the internal genitalia of female swine. *J. Reprod. Fertil.* 9:19–27 .
- 138) Pearce G., Paterson A., Hughes D. (1988) Effect of short term elevations in plasma cortisol concentration on LH secretion in prepubertal gilts. *J. Reprod. Fertil.* 83:413–418.
- 139) Pearce, G., Hughes, P. (1987) The influence of male contact on plasma cortisol concentrations in the prepubertal gilt. *J. Reprod. Fertil.* 80:417-424.
- 140) Peltoniemi O.A., Virolainen J.V. (2006) Seasonality of reproduction in gilts and sows. *Soc. Reprod. Fertil. Suppl.* 62:205-218.
- 141) Pena F., Dominguez J.C., Alegre B., Pelaez J. (1998) Effect of vulvomucosal injection of PGF2 α at insemination on subsequent fertility and litter size in pigs under field conditions. *Anim. Reprod. Sci.* 52:63–69.
- 142) Pena F.J., Dominguez J.C., Pelaez J., Alegre B. (2000) Intrauterine infusion of PGF2 α at insemination enhances reproductive performance of sows during the low fertility season. *Vet. J.* 159:259-261.
- 143) Pena F.J., Gil M.C., Pena F. (2001) Effect of vulvomucosal injection of D-cloprostenol at weaning and at insemination on reproductive performances of sow during the low fertility summer season under field condition. *Anim. Reprod. Sci.* 68:77-83.
- 144) Perestrello H., Perestrello R. (1986). Synchronization of parturition in intensive pig herds by administration of reduced doses of prostaglandin F2 α (Clinprost) by the intravulvosubmucosa, *Proceedings. 9th IPVS Congress, Barcelona. Spain.* p65.
- 145) Perry J.S., Heap R.B., Burton R.D., Gadsby J.E. (1976) Endocrinology of the blastocyst and its role in the establishment of pregnancy. *J. Reprod. Fertil. (Suppl.)* 25:85-87.
- 146) Peterson A.J., Fairclough R.J., Payne E., Smith J.F. (1975) Hormonal changes around bovine luteolysis. *Prostaglandins.* 10:675–684.
- 147) Pusateri, A.E., Smith J.M., Smith J.W., Thomford P.J., Diekman M.A. (1996a) Maternal recognition of pregnancy in swine. I. Minimal requirement for exogenous estradiol-17 beta to induce either short or long pseudopregnancy in cycling gilts. *Biol. Reprod.* 55:582-589.
- 148) Pusateri, A.E., Wilson M.E., Diekman M. (1996b) Maternal recognition of pregnancy in swine. II. Plasma concentrations of progesterone and 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F2 α during the estrous cycle and during short and long pseudopregnancy in gilts. *Biol. Reprod.* 55: 590-597.
- 149) Ratky J., Brussow K. P., Hunter M. G. (1995) Endoscopic studies of ovarian follicle development during the oestrus cycle in Hungarian Large White gilts. *Archiv fur Tierzucht.* 38:427-435.
- 150) Re G., Badino P., Novelli A., Vallisneri A., Girardi C. (1994) Specific binding of DL-cloprostenol and D-cloprostenol to PGF2 α receptors in bovine corpus luteum and myometrial membranes. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 17:455-458.
- 151) Re G., Badino P., Novelli A., Vallisneria A., Girard G.I. (2008) Specific binding of dl-cloprostenol and d-cloprostenol to PGF2 α receptors in bovine corpus luteum and myometrial cell membranes. *J. Vet. Pharm. Ther.* 17:455–458.
- 152) Redmer, D. A., Day B. N. (1981) Ovarian activity and hormonal patterns in gilts fed allyl trenbolone. *J. Anim. Sci.* 53:1088-1094.

- 153) Rhodes M.T., Davis D.L., Stevenson J.S. (1991) Flushing and altrenogest affect litter traits in gilts. *J. Anim. Sci.* 69:34-40.
- 154) Robertson H.A., King G.J. (1974) Plasma concentrations of progesterone, oestrone, oestradiol-17 β and of oestrone sulphate in the pig at implantation, during pregnancy and at parturition. *J. Reprod. Fertil.* 40:131-141.
- 155) Ryan, D. P., Yaakub H., Harrington D., Lynch P. B. (1994) Follicular development during early pregnancy and the estrous cycle of the sow. *Theriogenology.* 42:623-632
- 156) Schoffield S., Kitwood S., Phillips J. (1999) The effects of a post partum injection of prostaglandin F2 α on return to oestrus and pregnancy rates in dairy cows. *Vet. J.* 157:172–177.
- 157) Schramm W., Bovaird L., Glew M.E., Schramm G., McCracken J.A. (1983) Corpus luteum regression induced by ultra-low pulses of prostaglandin F2 alpha. *Prostaglandins.* 26:347–364.
- 158) Senger P. L. (1997) Pathways to parturition and pregnancy. 1st ed. The Mack Printing Group-Science Press, Ephrata, PA.
- 159) Signoret J. (1970) Reproductive behaviour of pigs. *J. Reprod.Fertil., Suppl.* 11:105-117.
- 160) Signoret J., du Mesnil du Buisson F., Mauleon P. (1972) Effect of mating on the onset and duration of ovulation in the sow. *J. Reprod. Fertil.* 31:327-330.
- 161) Sirois J., Fortune J.E. (1990) Lengthening the bovine estrous cycle with low levels of exogenous progesterone a model for studying ovarian follicular dominance *Endocrinology.* 127:916-925.
- 162) Soede N. M., Kemp B. (1993) In synchronized pigs, the duration of ovulation is not affected by insemination and is not a determinant for early embryonic diversity. *Theriogenology.* 39:1043-1053.
- 163) Soede N. M., Kemp B. (1999) Estrus, follicle maturation and ovulation in the weaned sow: application and real-time ultrasonography. *Proc. 30th annu. Am. Assoc. of swine practitioners.* St. Louis, Missouri. 7-14.
- 164) Soede, N. M., Hazeleger W., Kemp B. (1998) Follicle size and the process of ovulation in sows as studied with ultrasound. *Reprod. Domest. Anim.* 33:239-243.
- 165) Soede, N.M., Wetzels C. C. H., Zondag W., De Koning M. A. I., Kemp B. (1995) Effects of time of insemination relative to ovulation, as determined by ultrasonography, on fertilization rate and accessory sperm count in sows. *J. Reprod. Fertil.* 104:99-106.
- 166) Srikanthakumar A.D., Downey B.R. (1989) Induction of ovulation in gilts with cloprostenolo. *Theriogenology.* 32:445–449.
- 167) Staub H. (1954) Ein Beitrag zur Blutentnahme bei Ferkeln. *Berl. Münch. Tierärztl. Wsch.* 67: 188-189.
- 168) Stefanczyk-Krzyszowska S., Chlopek J., Grzegorzewski W., Radomski M. (2005) Local transfer of prostaglandin E2 into the ovary and its retrograde transfer into the uterus in early pregnant sows. *Exp. Physiol.* 90:807–814.
- 169) Stevenson J. S., Davis D. L. (1982) Estrous synchronization and fertility in gilts after 14- or 18-day feeding of Allyl-trembolone beginning at estrus or diestrus. *J. Anim. Sci.* 55:119-123.
- 170) Stock A.E., Fortune J.E. (1993) Ovarian follicular dominance in cattle: relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters *Endocrinology.* 132:1108-1114.

- 171) Stukelj M., Mihelcic D., Butinar J., Nemec A., Pecar J. (2005) Surgical intravenous catheterization of Pig. *Slov. Vet. Res.* 43:43-48.
- 172) Swarts H., Tritel A., de Haas V., Cox P., Driancourt M.A. (2012) Synchronization of estrus and ovulation by an Altrenogest/Buserelin treatment in gilts results in good fertility and prolificacy following a single fixed time AI. *Proceedings 22th IPVS Congress, Jeju. Corea.* p90.
- 173) Tai H.H., Ensor C.M., Tong M., Zhou H., Yan F. (2002) Prostaglandin catabolizing enzymes. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 68–69:483–493.
- 174) Taverne M., Willemsse A.H., Dieleman S.J., Bavers M. (1979) Plasma prolactin, progesterone and estradiol-17 β concentration around parturition in the pig. *An. Repr. Sci.* 1, 257-283.
- 175) Thorburn G.D., Cox R.J., Currie W.B., Restall B.J., Schneider W. (1973) Prostaglandin F and progesterone concentrations in the utero-ovarian venous plasma of the ewe during the oestrous cycle and early pregnancy. *J. Reprod. Fertil.* 18 (Suppl.). 151–158.
- 176) Tilton S. L., Bates R. O., Prather R. S. (1995) Evaluation of response to hormonal therapy in prepubertal gilts of different genetic lines. *J. Anim. Sci.* 73:3062- 3068.
- 177) Tsai S.J., Wiltbank M.C. (1998) Prostaglandin F 2α regulates distinct physiological changes in early and mid-cycle bovine corpora lutea. *Biol. Reprod.* 58:346–352.
- 178) van der Meulen J., Helmond F.A., Oudenaarden C.P. (1988) Effect of flushing of blastocysts on days 10-13 on the life-span of the corpora lutea in the pig. *J. Reprod. Fertil.* 84:157-162.
- 179) Vanderhaeghe C., Dewulf J., Daems A., Van Soom A., de Kruif A., Maes D. (2008) Influence of postpartum cloprostenol treatment in sows on subsequent reproductive performance under field conditions. *Reprod. Dom. Anim.* 43, 484-489.
- 180) Vigo D., Munari E., Ballabio R., Maffeo G. (1996) Indicazioni sulle possibilità applicative delle PGF 2α e del GnRH nella specie bovina e suina. *Riv. Zoot. Vet.* 24, 2, 25-36.
- 181) Warnik A. C., Casida L. E., Grummer R. H. (1950) The occurrence of oestrus and ovulation in postpartum sows. *J. Anim. Sci.* 9:66-72.
- 182) Weirich, W.E., Will, J.A., Crumpton, C.W. (1970) A technique for placing chronic indwelling catheters in swine. *J. Appl. Physiol.* 28:117-119.
- 183) Weitze, K. F., Waberski D. (1996) Influence of seminal plasma on the timing of ovulation and sperm transport. *Journal of the British Fertility Society.* 1:14-15A.
- 184) Welk F., First N.L. (1979) Effect of oxytocin on the synchrony of parturition induced by PGF 2α . *J. Anim. Sci.* 49 (suppl. 1), 347.
- 185) Whittier W.D., Kasimanickam R.K., Currin J.F., Schramm H.H., Vlcek M. (2010) Effect of timing of second prostaglandin F 2α administration in a 5-day, progesterone-based Co-Synch protocol on AI pregnancy rates in beef cows. *Theriogenology.* 74:1002-1009.
- 186) Widowski T.M., Curtis S.E., Dziuk P.J., Wagner W.C., Sherwood O.D. (1990) Behavioural and endocrine responses of sows to prostaglandin F 2α and cloprostenol. *Biol. Repr.* 43, 290-297.
- 187) Witzel D.A., Littledike E.T., Cook H.M. (1973) Implanted catheters for blood sampling in swine. *Cornell. Vet.* 63:433-435.
- 188) Wrathall A.E., Bailey J., Wells D.D., Herbert C.N. (1977) Studies on the barker (neonatal respiratory distress) syndrome in the pig. *Cornell Veterinarian* 67, 543-598.

- 189) Wrathall A.E., Wells D.E., Jones P.C., Foulkes J.A. (1986) Seasonal variation in serum progesterone levels in pregnant sows. *Vet. Rec.* 1986; 118: 685-687.
- 190) Xu, J., Dial G. D., Marsh W. E., Davies P. R. (1994) Multiple manifestations of season on reproductive performance of commercial swine. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 204:1486–1489.
- 191) Zanella, A.J., Mendl, M.T. (1992) A fast and simple technique for jugular catheterization in adult sows. *Lab. Anim.* 26:211-213.

Ringraziamenti

Quando circa tre anni fa mi sono apprestato a percorrere il difficile cammino di questo Dottorato di Ricerca, era ben presente in me la consapevolezza che non sarebbe certo stato semplice raggiungere il traguardo finale. Ad essere sincero, la realtà ha superato di gran lunga le aspettative ma certamente ne è valsa la pena sia per le cose che ho imparato che per le persone che ho incontrato. Piuttosto calzante al riguardo una frase che girava nelle corsie dell'ospedale di Carpi, dove sono stato ricoverato per una penosa spondiloartrite settica ormai sette anni fa, e che seppure per un altro contesto, citava circa così: "raggiungere un traguardo dopo una lunga fatica, conferisce significato al lavoro, ma quello che conta di più, sono le emozioni provate durante il percorso per raggiungerlo". Ecco! oggi sento il bisogno di ringraziare diverse persone che hanno contribuito a rendere davvero emozionante questo mio importante percorso formativo.

Tanto per incominciare vorrei ringraziare il Prof. Fabio De Rensis, senza il suo aiuto non avrei concluso certamente nulla. Ricorderò sempre la sua pazienza, mostrata nello spiegarmi le cose, la sua schiettezza, indispensabile per farmi capire i diversi concetti e la disponibilità che ha dimostrato in qualsiasi giorno dell'anno nel seguirmi passo passo in questo cammino. Ricordo anche con grande affetto, la gentilezza e la determinazione delle Prof.ssa Paola Superchi, disponibile in qualsiasi momento a suggerimenti e consigli, sia nel lavoro che nella ricerca, sempre rivelatisi di grande utilità.

Vorrei ringraziare anche il mio "maestro", il dott. Mario Gherpelli, che mi ha spesso supportato moralmente, durante i numerosi momenti di scoramento attraversati. Inoltre è stato fondamentale per lo sviluppo dei concetti sui flussi dell'allevamento. Voglio ricordare poi tutti i soci ed i collaboratori della Suivet snc che direttamente, od indirettamente, mi hanno permesso di ricavare il tempo necessario alla stesura di questa tesi. Particolarmente sentiti ringraziamenti vanno alla Dott.ssa Anna Amorico, per le sue preziosissime traduzioni ed alla Dott.ssa Annalisa Scollo, per i suoi consigli e la veste grafica data al manoscritto.

Un grazie di cuore va alla mia Famiglia tutta, ai miei suoceri per il loro fondamentale sostegno in casa, a mia madre che è la mia "prima tifosa" ed ha un cuore grande come il mondo. In particolare poi ringrazio mia moglie Simona e mia figlia Giulia, che hanno pazientato per il mio nervosismo e per le "ore piccole" fatte al fine di rimanere nei tempi sia con il lavoro che con la ricerca. I testi sacri dicono che: "Dov'è il tuo tesoro, lì è il tuo cuore" e loro sono certamente il mio tesoro!

Infine sento il bisogno di ricordare due amici scomparsi prematuramente, da molti stimati ed amati per la loro passione nel lavoro. Mi riferisco al Dott. Simone Gradellini ed al Dott. Iller Campani ai quali spesso va il mio più personale ed affettuoso ricordo e ringraziamento per il privilegio avuto della loro amicizia.

A handwritten signature in black ink, reading "Claudio Manzoni". The signature is written in a cursive style with a prominent flourish at the end.