



UNIVERSITÀ DI PARMA

Dipartimento di Scienze Medico-Veterinarie
Corso di Laurea Magistrale a ciclo unico in Medicina
Veterinaria

COMPOSIZIONE E VALUTAZIONE DEI LIQUIDI FETALI NELLA SPECIE FELINA

**COMPOSITION AND EVALUATION OF FETAL FLUIDS
IN FELINE SPECIES**

Relatore: Chiar.mo Prof. BIGLIARDI Enrico

Laureanda:
PALTRINIERI Vanessa

Anno accademico 2020/2021

Indice

I. Riassunto	1
II. Abstract	2
III. Introduzione	3
<i>A. Fecondazione</i>	3
<i>B. Embriogenesi</i>	6
1. Segmentazione	6
2. Gastrulazione	9
<i>C. Diagnosi e stadiazione della gravidanza</i>	17
<i>D. Sviluppo e funzione degli annessi fetali</i>	27
1. Corion	28
2. Amnios	30
3. Allantoide	33
4. Cordone ombelicale	35
5. Sacco vitellino	36
6. Placenta	37
<i>E. Sviluppo dei liquidi fetali</i>	41
1. Composizione	43
IV. Discussione	82
V. Conclusioni	86
VI. Bibliografia	87

Riassunto

I liquidi fetali svolgono un ruolo fondamentale nello sviluppo e maturazione e altresì nella protezione del feto.

Ad oggi, la conoscenza e le informazioni riguardanti la composizione dei fluidi fetali, così come le funzioni fisiologiche svolte e le modificazioni a cui essi vanno incontro durante lo sviluppo della gravidanza, sono scarse per quanto riguarda la specie felina.

Scopo del seguente trattato è perciò la raccolta degli studi effettuati e delle informazioni disponibili sulla composizione e la valutazione dei fluidi fetali nella specie felina, per fare chiarezza sullo stato delle conoscenze attualmente raggiunte.

Lo studio tratta accenni di fisiologia della fecondazione, embriogenesi, sviluppo del feto e dei suoi annessi e le funzioni da essi espletate, metodiche di diagnosi e stadiazione della gravidanza, fino ad arrivare allo sviluppo, funzione e composizione dei liquidi amniotico e allantoideo, confrontati con la composizione del siero materno e con monitoraggio delle variazioni riscontrate durante il corso della gravidanza.

Viene trattato inoltre il confronto nella composizione dei liquidi fetali con le altre specie animali sulla base delle informazioni disponibili.

Abstract

Fetal fluids play a key role in the growth, maturity and protection of the fetus.

The studies conducted on fetal fluids composition as well as the research carried out on their modifications and on physiological functions during the feline pregnancy, have still a long way to go.

By collecting all available data about fetal fluids composition and dynamics properties of the observed fluid behavior in the feline species, this dissertation aims to examine and explain the results reached so far.

This study begins with some references to the physiology of fertilization, the embryogenesis, the development of the fetus and its annexes and functions they perform. It proceeds treating the methods of diagnosis and staging of pregnancy, focusing on the development, functioning and composition of amniotic and allantoic fluids. To conclude it makes a comparison between fetal fluids and maternal serum composition, monitoring the variations found during pregnancy.

The composition of fetal fluids in the feline species is finally compared with those of other animal species, based on available information.

Fecondazione

La fecondazione, processo in cui i gameti maschile e femminile si fondono, avviene nella giunzione istmo-ampollare della tuba uterina.

Il periodo di sopravvivenza degli spermatozoi nell'apparato femminile è piuttosto lungo (circa 4-6 giorni)

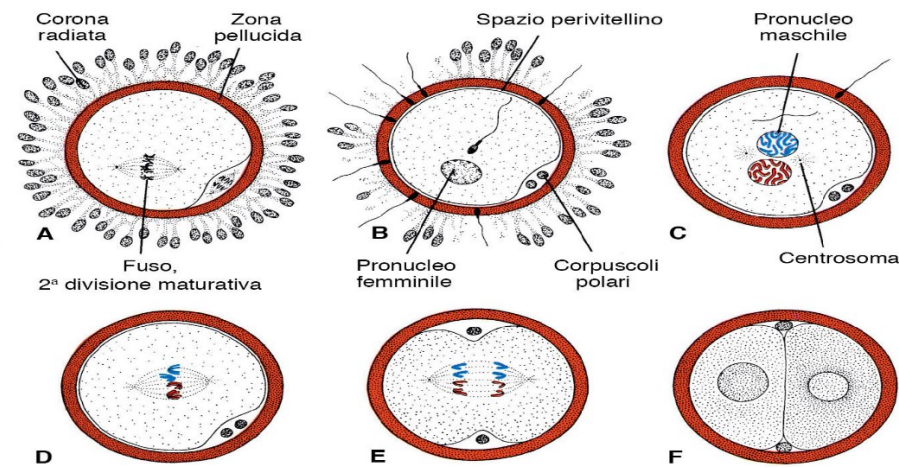
Altre indagini hanno evidenziato una vita fertile di 6-7 giorni dall'accoppiamento ed una motilità persistente sino all'undicesimo giorno (Concannon e coll., 1983)

Gli spermatozoi non sono immediatamente in grado di fecondare l'ocita una volta giunti nelle vie genitali femminili, ma devono andare incontro al processo di capacitazione e reazione acrosomiale per acquisire questa abilità.

La capacitazione è un processo di condizionamento che avviene nella tuba uterina e coinvolge interazioni tra la mucosa e lo spermatozoo, che fanno sì che vengano rimosse dalla membrana plasmatica che riveste la regione acrosomiale dello spermatozoo, una glicoproteina di superficie e le proteine del plasma seminale.

La reazione acrosomiale si verifica in seguito all'avvenuto legame con la zona pellucida dell'ocita, ed è indotta da proteine zonali.

Tale reazione culmina nel rilascio di enzimi necessari a penetrare la zona pellucida.



(Langman's medical embryology)

La fecondazione si sviluppa quindi in 3 fasi:

1. Penetrazione della corona radiata

lo spermatozoo che ha subito il processo di capacitazione passa liberamente attraverso le cellule della corona radiata dell'ovocita

2. Penetrazione della zona pellucida

Il rilascio di enzimi acrosomiali permette allo spermatozoo di penetrare la zona pellucida, entrando a contatto con la membrana plasmatica dell'ovocita.

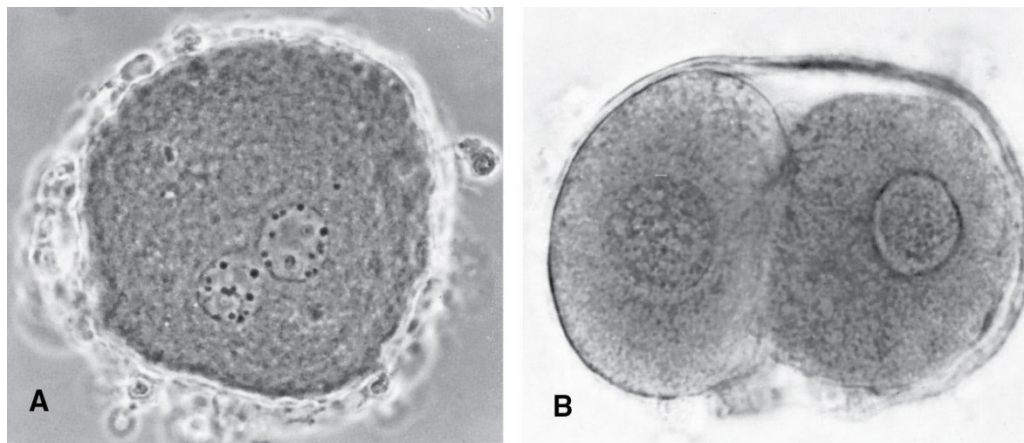
La permeabilità della zona pellucida varia quando la testa dello spermatozoo giunge in contatto con la superficie dell'ovocita.

3. Fusione delle membrane cellulari

L'iniziale adesione dello spermatozoo all'ovocita è mediata in parte dall'azione delle integrine nell'ovocita e dei loro leganti, le disintegrine nello sperma. (Langman, 2020)

Il secondo globulo polare viene espulso dalla cellula uovo dopo la penetrazione dello spermatozoo, dalla cui testa si formerà il pronucleo maschile, mentre dal nucleo dell'oocita, si formerà quello femminile, entrambi aumentati di dimensione.

Quando i due pronuclei giungono a contatto, avviene la cariogamia o singamia: le membrane nucleari si fondono e i due corredi cromosomici si mescolano.



(Langman's medical embryology)

I principali effetti della fecondazione sono quindi i seguenti:

ripristino del numero diploide dei cromosomi, metà materni e metà paterni, perciò lo zigote contiene una nuova combinazione di cromosomi, diversa da entrambi i genitori.

Determinazione del sesso del nuovo individuo: nei mammiferi, uno spermatozoo che trasporta un cromosoma X genera un embrione femminile (XX), e uno spermatozoo che trasporta un cromosoma Y genera un embrione maschile (XY). (Langman, 2020)

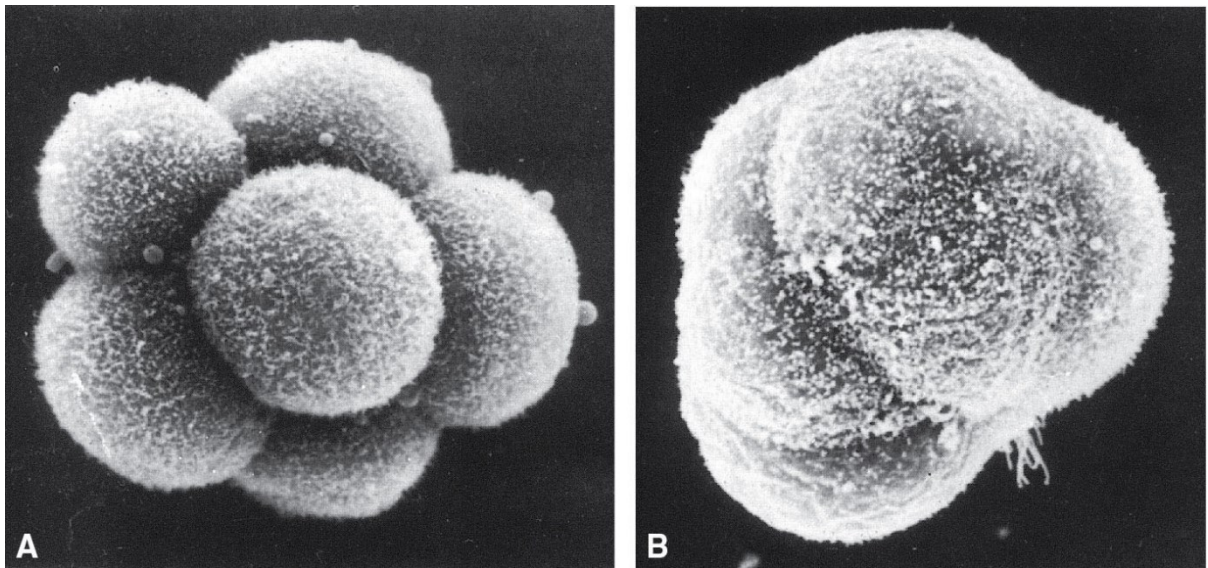
Embriogenesi

Segmentazione

Dalla formazione dello zigote con l'unione dei due gameti maschile e femminile rappresentati rispettivamente dallo spermatozoo e dall'oocita, si passa al processo di segmentazione, in cui una serie di divisioni mitotiche ripartisce l'abbondante citoplasma della cellula uovo in numerose cellule di dimensioni minori, dette blastomeri (Pelagalli,2009)

I blastomeri aumentano numericamente con l'avanzare del processo mitotico, senza inizialmente determinare un aumento di volume dell'embrione, che si avrà solo alla fine del processo di segmentazione.

I blastomeri inizialmente sono lassamente uniti tra loro, fino alla fase di compattazione, in cui raggiunto il numero di 8 blastomeri, questi aumentano il contatto reciproco e formano in seguito una sfera compatta che prende il nome di morula. (Pelagalli, 2009)



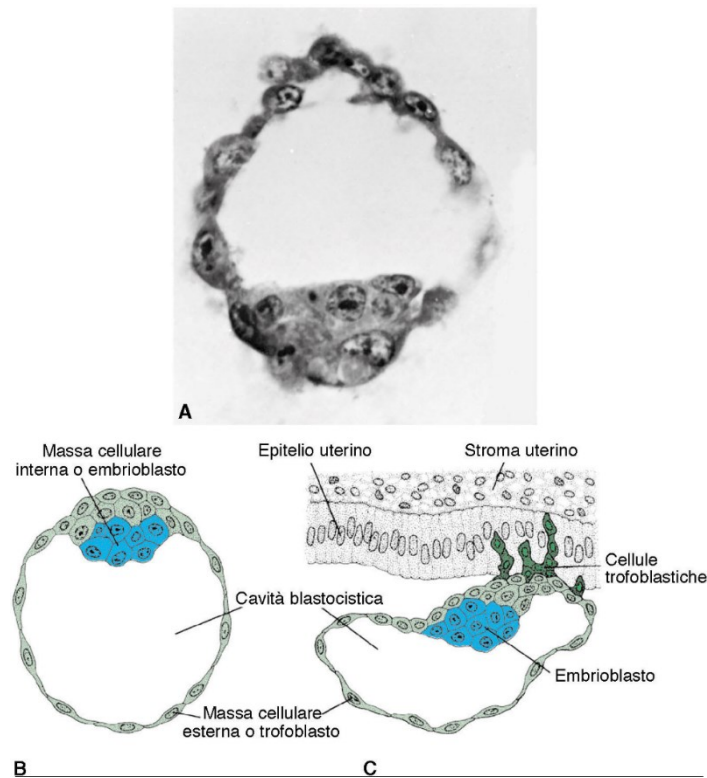
(Langman's medical embryology)

La morula è formata da 16-30 cellule più appiattite in periferia e più globose centralmente (embrioblasto), le prime andranno a formare il trofoblasto, mentre dalle ultime si svilupperà l'embrione.

Il trofoblasto concorrerà alla nutrizione dello zigote e può essere considerato come il primo di tutti gli annessi fetali (R. Barone, 2009)

Con l'ulteriore divisione e con l'orientamento delle cellule, la morula forma una cavità ripiena di liquido, il blastocele, dando luogo alla formazione di una blastocisti di 32 cellule.

Nella gatta la formazione della camera gestazionale con blastocisti si ha verso l'undicesimo giorno dall'avvenuta fecondazione (M. Mastronardi, 1980)



(Langman's medical embryology)

Mentre subisce il processo di segmentazione, l'embrione viene trasportato lungo le tube uterine mediante il movimento delle ciglia dell'epitelio tubarico e la contrazione della parete tubarica.

Una volta raggiunto l'utero, la blastocisti resta libera per un breve periodo nel lume uterino, in cui assorbe liquidi da esso ed aumenta di volume.

Successivamente le cellule del trofoblasto prendono rapporto con la mucosa uterina e comincia l'impianto o annidamento della blastocisti, divenuta idonea grazie all'azione degli ormoni ovarici (estrogeni e progesterone), che determinano proliferazione dell'endometrio e secrezione delle ghiandole uterine.

Il secreto delle ghiandole uterine, detto anche latte uterino, è utilizzato dalla blastocisti nei primi momenti dell'impianto.

La modalità di impianto varia nelle diverse specie, per cui si può parlare di impianto centrale o superficiale, eccentrico e interstiziale. (Pelagalli, 2009)

Nella gatta l'impianto avviene circa al 12 – 13 giorno di gravidanza ed è di tipo centrale: la blastocisti giunta in utero, si espande e si differenzia in modo che la componente extraembrionale si giustapponga all'epitelio uterino.

Gastrulazione

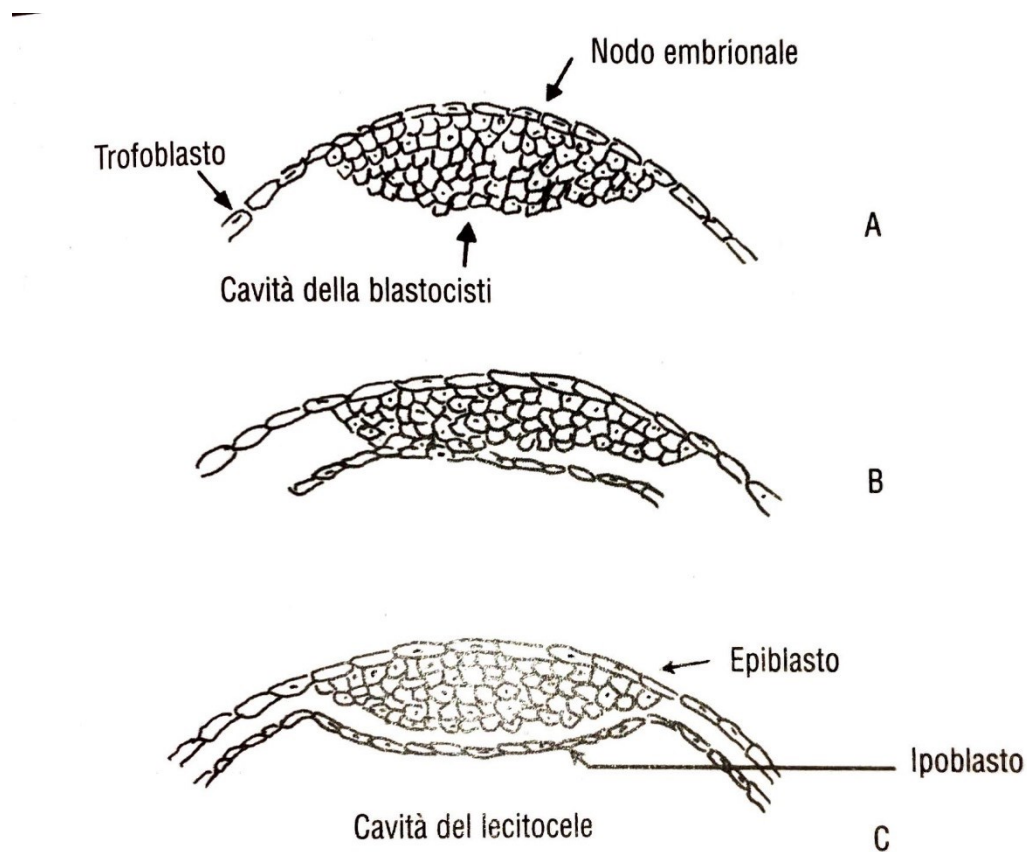
Il primo cambiamento nell'organizzazione della blastocisti si verifica con la gastrulazione, processo in cui i blastomeri vanno incontro ad una serie di movimenti morfogenetici che si concludono con la formazione dei tre foglietti embrionali: l'ectoderma, il mesoderma e l'endoderma.

Da questi si formeranno gli abbozzi primari degli organi.

Dalla porzione inferiore della massa cellulare interna della blastocisti, rivolta verso la cavità del blastocele, si staccano delle

cellule che si organizzano in un foglietto profondo o ipoblasto, mentre le cellule superficiali rimanenti costituiscono l'epiblasto.

Le cellule dell'ipoblasto rivestono internamente la cavità della blastocisti formando l'endoderma.



(Pelagalli, 2009)

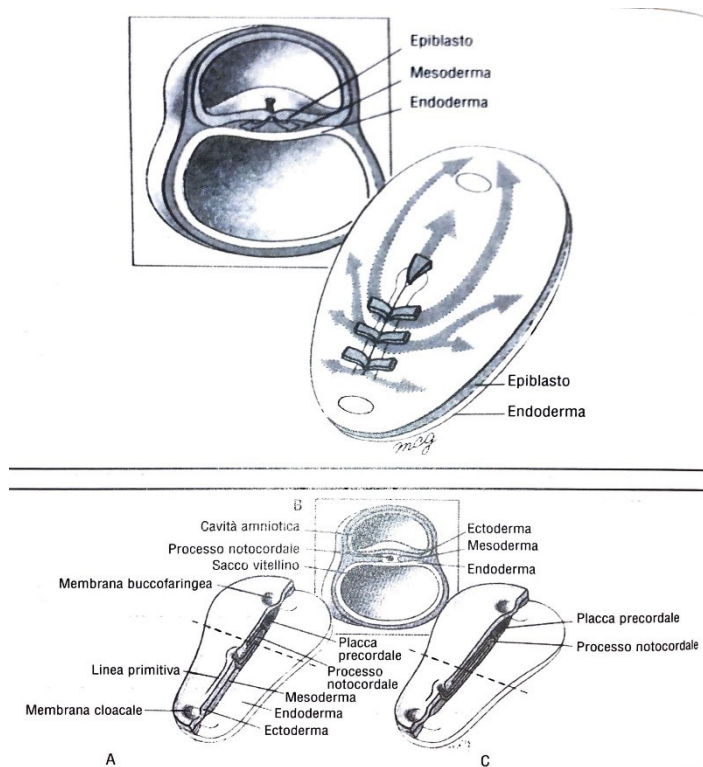
Le cellule dell'epiblasto delimitano una piccola cavità in cui le cellule alla base costituiscono l'epiblasto embrionale, quelle verso il trofoblasto formano il foglietto epiblastico dell'ammios.

Le cellule dell'epiblasto insieme a quelle dell'ipoblasto costituiscono un disco didermico, delimitato dorsalmente dalla cavità amniotica e ventralmente da quella del sacco vitellino.

Da questo momento, il processo di gastrulazione si può visualizzare con la formazione sul margine posteriore dell'epiblasto, di una stria primitiva attraverso cui migrano prima i precursori dell'endoderma e poi quelli del mesoderma.

I precursori dell'endoderma, migrando ventralmente, vanno ad inserirsi nella regione mediana dell'ipoblasto, formando la parete del futuro tubo digerente.

I precursori del mesoderma invece, si portano tra il foglietto epiblastico e quello ipoblastico senza contrarre rapporti con questi ultimi e vanno a costituire quindi il terzo foglietto, che si espande in tutta l'area a disposizione, ad eccezione di due aree circolari poste all'estremità craniale e caudale del disco embrionale, dette rispettivamente area buccale e cloacale.



(Pelagalli, 2009)

Anteriormente alla stria primitiva si forma il nodo di Hensen, attraverso cui passano le cellule dell'epiblasto che formeranno la placca precordale e la notocorda, quest'ultima costituisce il primitivo sostegno assiale del corpo dell'embrione e a sviluppo completo regredisce ed è limitata a nucleo polposo dei dischi intervertebrali.

Le cellule dell'ectoderma si differenziano poi in neuroectoderma ed ectoderma di superficie, il primo andrà a costituire il primordio del sistema nervoso, il secondo continua ad espandersi sia nell'area embrionale che extraembrionale.

Gruppi di cellule marginali tra neuroblasto e epiblasto, la cresta neurale, si rendono indipendenti dalle due componenti e migrano in diversi distretti del corpo.

I foglietti embrionali vanno poi incontro a modificazioni e spostamenti ulteriori ed entrano nella formazione degli abbozzi primari degli organi dell'embrione, mentre nell'area extraembrionale partecipano alla formazione degli annessi embrionali.

Con le successive evoluzioni si formeranno:

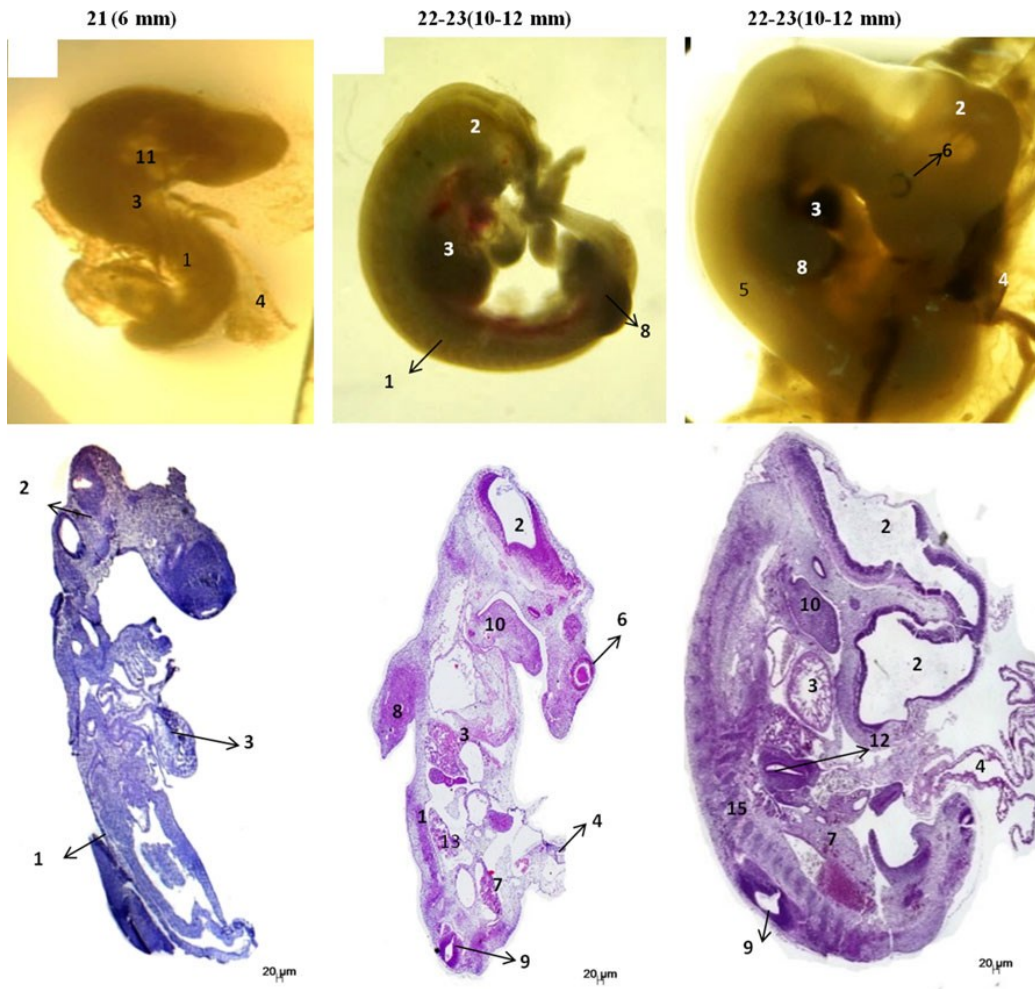
- **Dall'ectoderma** il sistema nervoso, gli organi di senso, cute e annessi cutanei
- **Dal mesoderma** si differenzia la maggior parte dei tessuti di sostegno del corpo, il sistema urogenitale e cardiovascolare
- **Dall'endoderma** il rivestimento epiteliale del tratto gastrointestinale, l'apparato respiratorio, vescica, cavità timpanica e tuba uditiva. (Pelagalli, 2009)

Nelle diverse specie, le tempistiche dell'organogenesi e dello sviluppo dei tessuti variano in base alla durata della gravidanza.

Nella tabella seguente sono riassunte alcune fasi dello sviluppo fetale in relazione ai giorni di gestazione nella specie felina, comparate con la lunghezza del cordone ombelicale

(N.C.G. Pieri, A.F. Souza, et al. 2015)

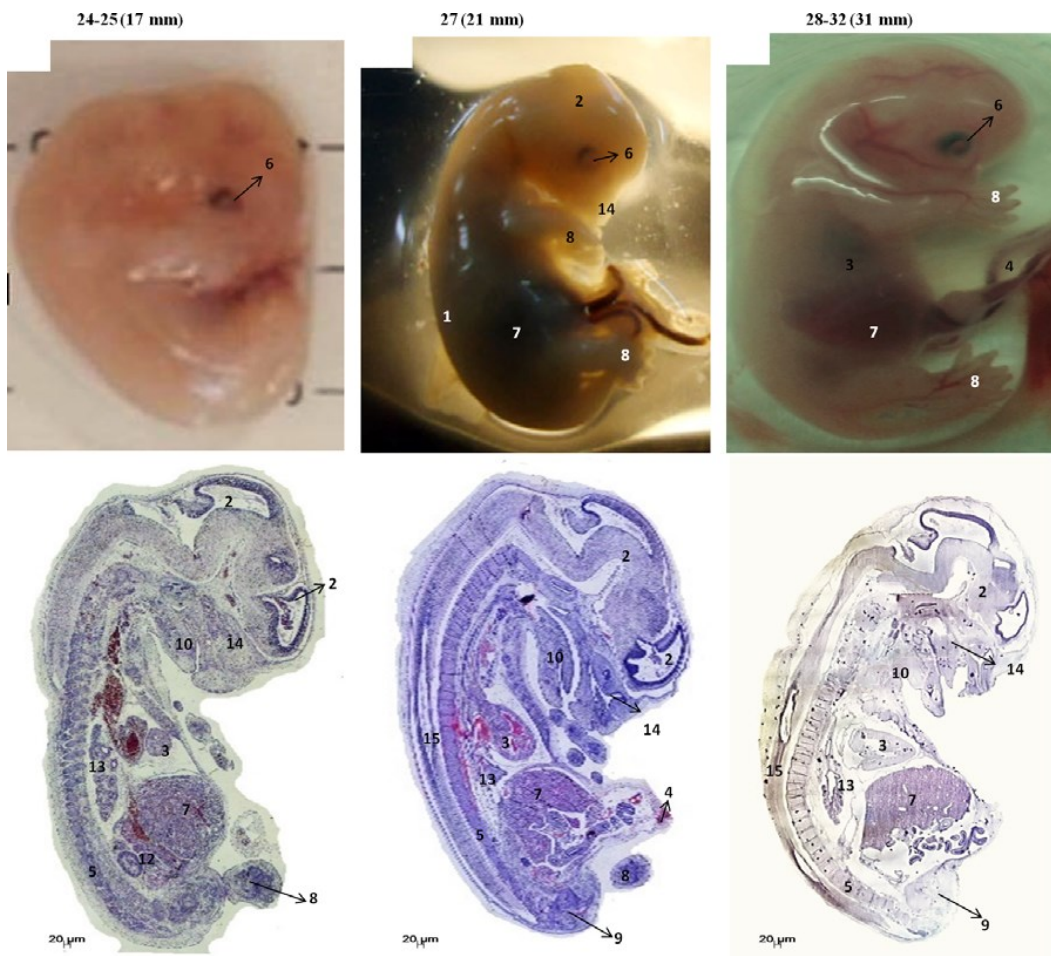
Sviluppo embrionale	Giorni di gestazione	Lunghezza del cordone ombelicale (cm)
Sviluppo del sacco vitellino	21	6-7
Comparsa della stria primitiva	21	
Formazione della placca neurale	21	
Abbozzi del cuore	21-22	
Formazione completa della notocorda	22-25	10-17
Intestino primitivo	22-25	
Demarcazione dei solchi ottici e dei bulbi oculari	22-25	
Sviluppo precoce degli arti anteriori e posteriori	22-25	
camere cardiache	22-25	
Vescicole cerebrali	22-25	
Apparato respiratorio primitivo	22-25	
Mesonefro primitivo	22-25	
Coda e testa	27	20
Cavità orale, lingua, esofago trachea	27	
Apparato respiratorio completo	28-32	22-30
Apparato urogenitale	28-32	
Apparato cardiovascolare completo	32	30-35
Retina	32	
Differenziazione degli organi genitali	35	
Sviluppo completo del feto	35	



Nelle immagini seguenti, raffiguranti un embrione di gatto è possibile valutare la presenza in relazione all'età di gestazione, di diverse strutture embrionali, tra cui:

1. Notocorda
2. Doccia neurale
3. Abbozzi del cuore
4. Annessi embrionali
5. Somiti
6. Bulbi oculari pigmentati

- 7. Apparato urogenitale e abbozzi renali
- 8. Arti anteriori e posteriori
- 9. Tubo neurale
- 10. Mandibola
- 11. Arco faringeo
- 12. Intestino primitivo



- 13. Apparato respiratorio
- 14. Processo nasale
- 15. Mielencefalo

(N.C.G. Pieri, A.F. Souza, et al. 2015)

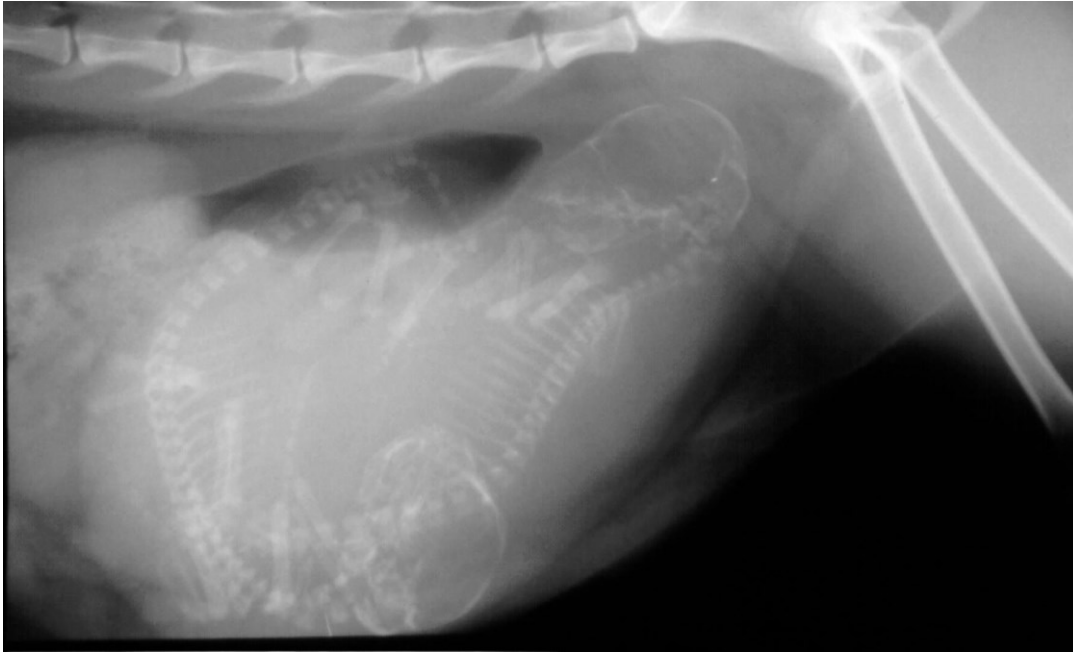
Diagnosi e stadiazione della gravidanza

La diagnosi di gravidanza nella specie felina può essere effettuata per osservazione dei segni clinici, palpazione dell'addome, radiografia e ultrasonografia.

Per quanto riguarda i **segni clinici**, è possibile rilevare la prominenza dei capezzoli dalla seconda settimana di gravidanza, aumento di peso tra la quarta e la sesta settimana, attività fetale apparente e sviluppo delle mammelle nelle ultime 2 settimane.

La **palpazione** ha la maggior probabilità di essere effettuata correttamente tra il 21° e il 25° giorno dall'accoppiamento, quando le vescicole fetali misurano all'incirca 2,5 cm di diametro, mentre dopo il 35° giorno diviene difficoltosa a causa dell'allargamento generalizzato dell'utero dato dalla confluenza delle vescicole.

L'esame radiografico è una metodica tardiva, in quanto le calcificazioni e quindi lo scheletro fetale risultano visibili solo dopo 36-45 giorni dalla fecondazione, inoltre non è completamente innocuo e come per la palpazione non dà informazioni sulla vitalità fetale.



(Università di Parma, Dipartimento di Scienze Medico Veterinarie, Clinica Ostetrica, Prof. E. Bigliardi)

La metodica che consente una diagnosi maggiormente precoce e corretta rimane l'**ultrasonografia**, con la possibilità di valutare lungo il decorso della gravidanza, i parametri di salute fetale e il corretto svolgersi della gestazione, mediante i rilievi biometrici.

Questi ultimi, oltre a confermare la progressiva crescita dei feti, svolgono un importante ruolo nel rivelare l'età gestazionale e la determinazione del giorno del parto.

Rilievi biometrici:

- Diametro delle vescicole
- Diametro longitudinale
- Diametro trasverso dell'addome
- Diametro biparietale del cranio
- Lunghezza del femore

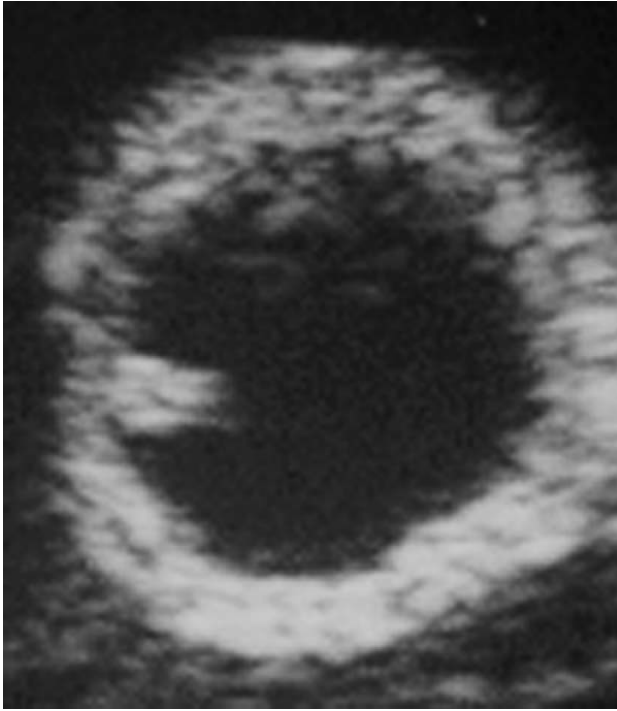
La diagnosi ecografica può essere effettuata dal 10° giorno dalla avvenuta fecondazione, per evidenziazione di una vescicola anecogena di 6,9 cm, la camera gestazionale (C).



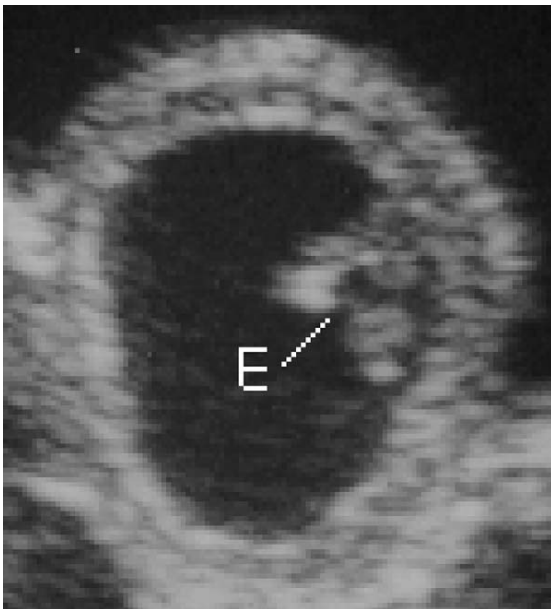
(D. Zambelli, F. Prati, 2006)

A 14 giorni di gravidanza è possibile individuare l'embrione come un inspessimento della parete della camera gestazionale e a 16 giorni quest'ultimo è visibile come una protrusione iperecogena all'interno di essa.

A 16 giorni diviene visibile anche la placenta, contraddistinta da 2 linee iperecogene separate da una linea ipoecogena.

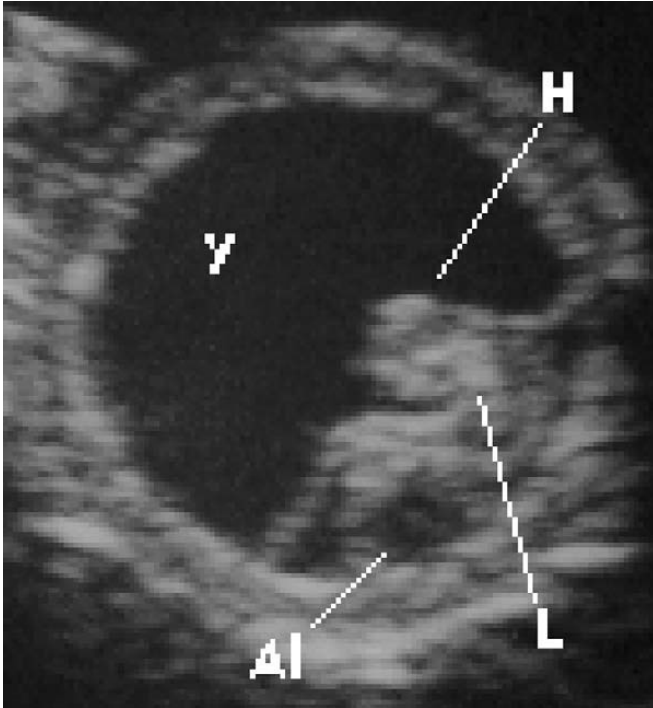


(D. Zambelli, F. Prati, 2006)



Al 17° giorno, l'embrione (E) appare separato dalla parete della camera gestazionale.

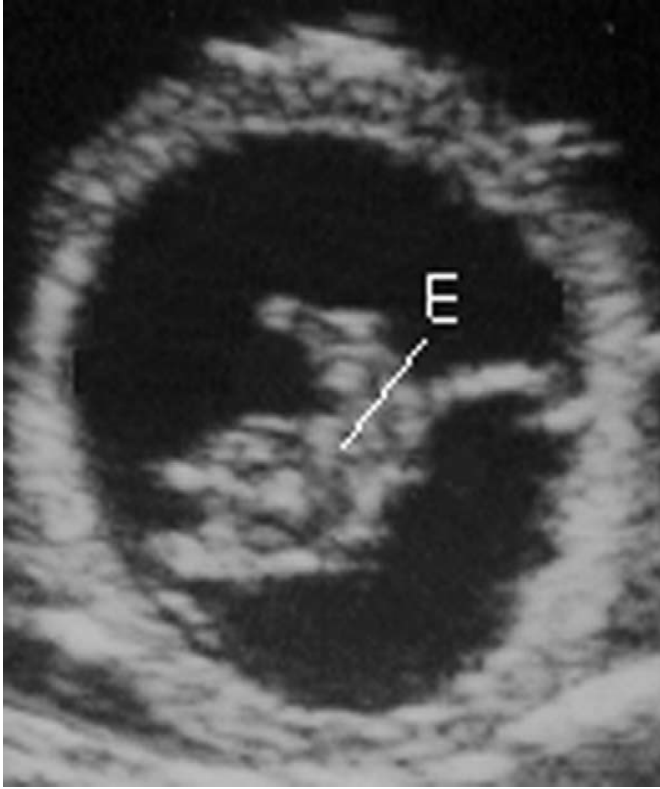
(D. Zambelli, F. Prati, 2006)



Sezione trasversale della camera gestazionale a 18 giorni: l'embrione assume la caratteristica forma a C, data dalla testa (H), tronco e arti toracici (L).

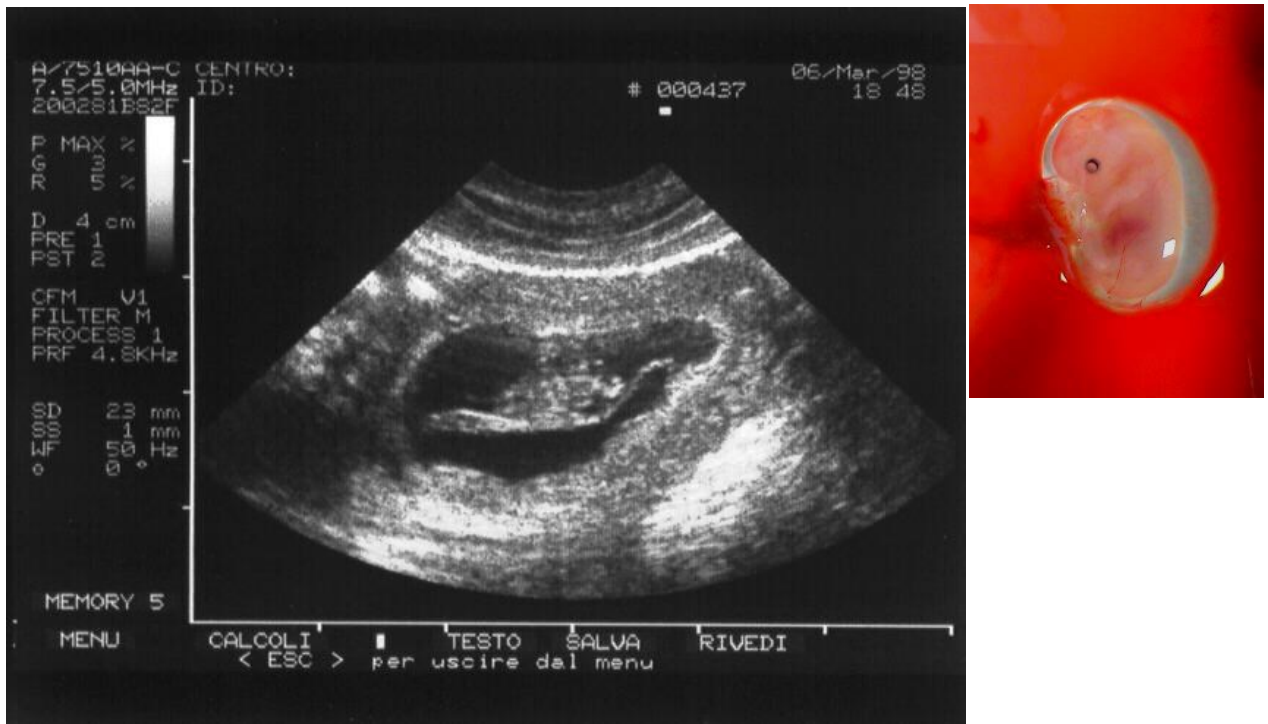
Sono visibili l'allantoide (Al) e il sacco vitellino (Y).

(D. Zambelli, F. Prati, 2006)



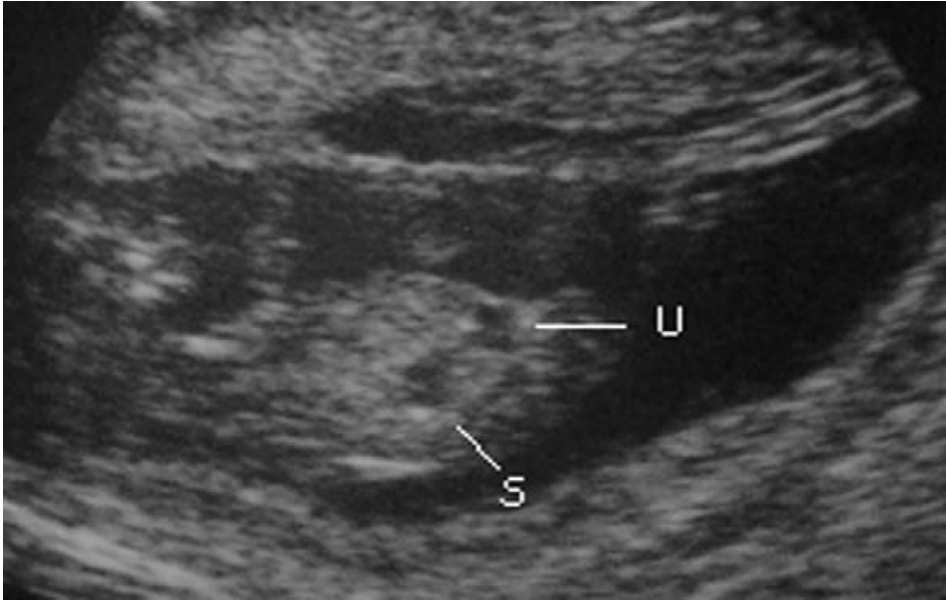
a 20 giorni, l'embrione si posiziona al centro della camera gestazionale.

(D. Zambelli, F. Prati, 2006)



Aspetto ecografico di un feto in sezione longitudinale a 25 giorni, con corrispettiva immagine reale.

(Università di Parma, Dipartimento di Scienze Medico Veterinarie, Clinica Ostetrica, Prof. E. Bigliardi)



A 30 giorni, gli organi fetali divengono visibili ecograficamente. Nell'immagine sovrastante in sezione longitudinale sono evidenziati la vescica urinaria (U) e lo stomaco (S).

Rilievo biometrico: diametro biparietale del cranio in feto di 45 giorni.

(Università di Parma, Dipartimento di Scienze Medico Veterinarie, Clinica Ostetrica, Prof. E. Bigliardi)



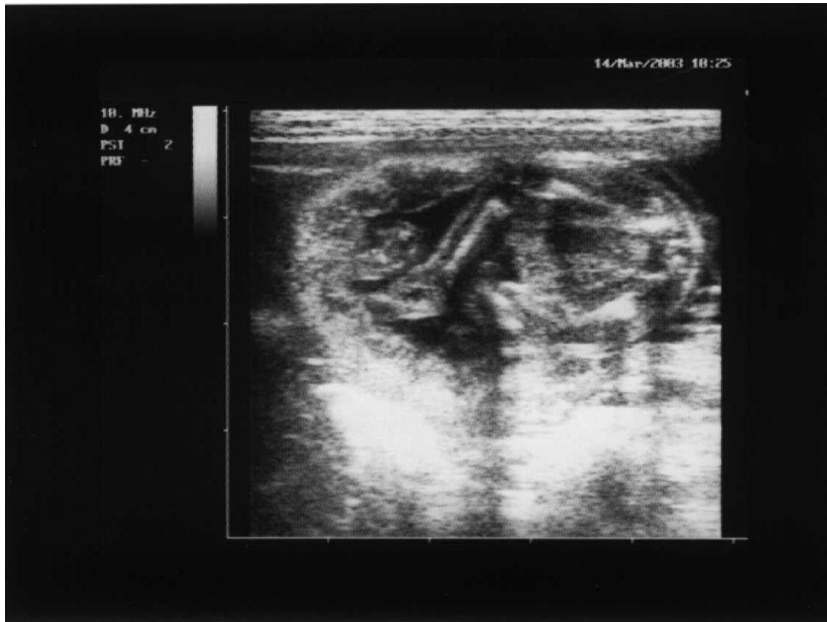
Rilievo biometrico: diametro longitudinale

(Università di Parma, Dipartimento di Scienze Medico Veterinarie, Clinica Ostetrica, Prof. E. Bigliardi)



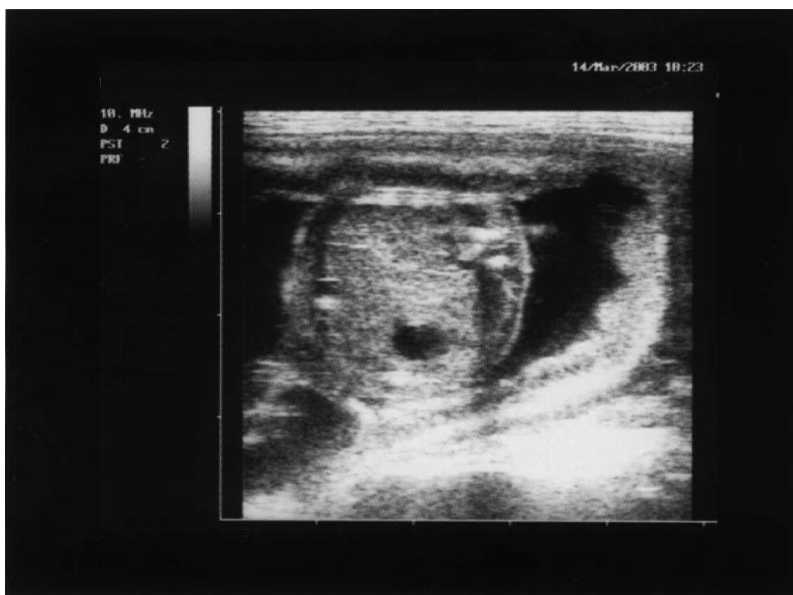
Rilievo biometrico: lunghezza del femore

(Università di Parma, Dipartimento di Scienze Medico Veterinarie,
Clinica Ostetrica, Prof. E. Bigliardi)



Rilievo biometrico: diametro trasverso dell'addome

(Università di Parma, Dipartimento di Scienze Medico Veterinarie,
Clinica Ostetrica, Prof. E. Bigliardi)



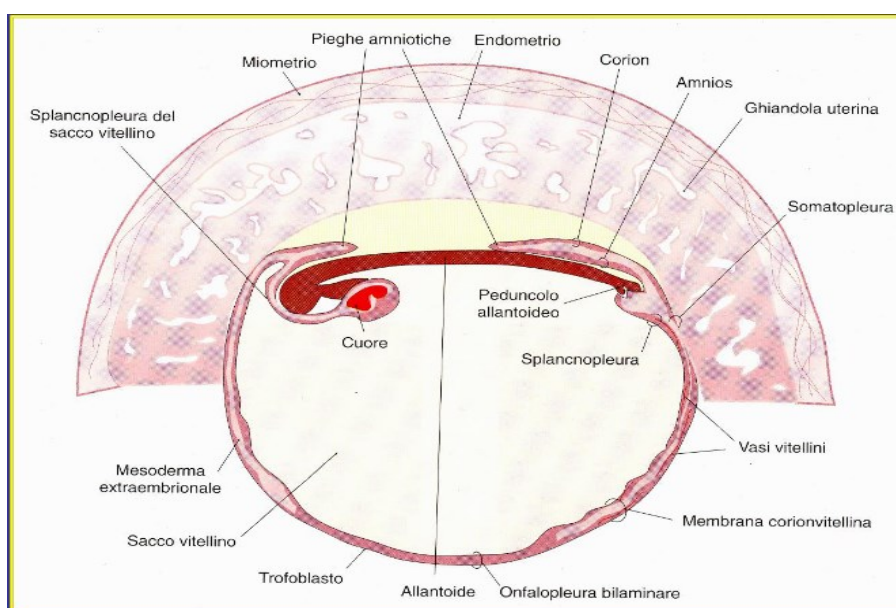
Sviluppo e funzione degli annessi fetali

Dal trofoblasto, quindi dalla componente della blastocisti che non appartiene all'embrione, si svilupperanno gli annessi embrionali, la cui morfologia evolverà nel corso della gravidanza.

Tra essi, due costituiscono dei veri involucri: il più esterno, che occupa la superficie del conceptus è il corion, l'altro, che racchiude l'embrione e in seguito il feto è l'amnios.

Gli altri due annessi, il sacco vitellino e l'allantoide, sono di origine endoblastica e costituiscono ciascuno una vescicola unita all'embrione dal cordone ombelicale.

L'insieme degli annessi embrionali (in particolare il corion) e della mucosa uterina, andrà a costituire la placenta (R. Barone, 2009).



(Università di Parma, clinica ostetrica)

CORION

Questo invoglio embrionale è derivato essenzialmente dal trofoblasto, si forma molto precocemente e circonda tutta la blastocisti.

Durante il suo sviluppo, il trofoblasto, costituito inizialmente da un solo strato di cellule, si sdoppia in due strati:

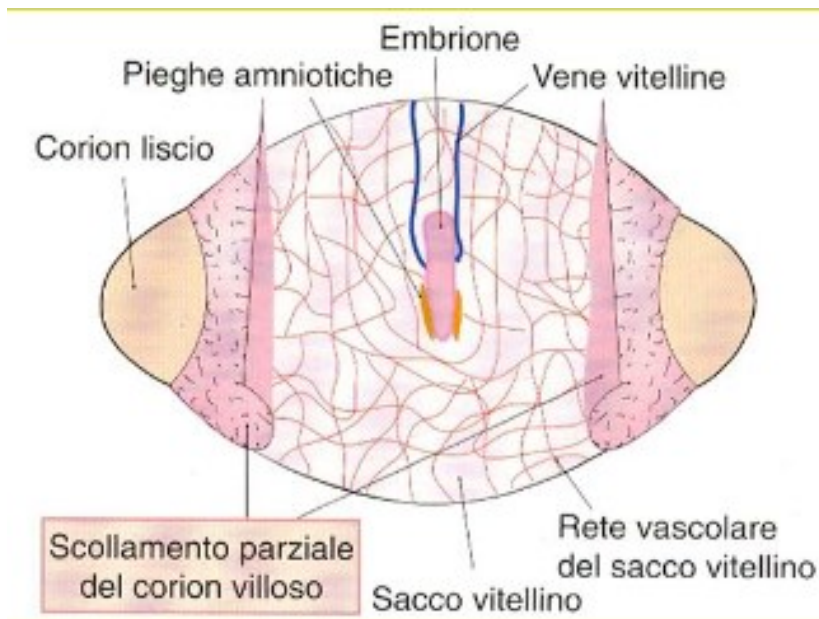
il citotrofoblasto, costituito da un epitelio cubico o cilindrico, e il sinciziotrofoblasto le cui cellule si fondono in una lamina sinciziale talvolta molto ispessita.

Quest'ultimo manifesta un'intensa attività erosiva sull'endometrio.

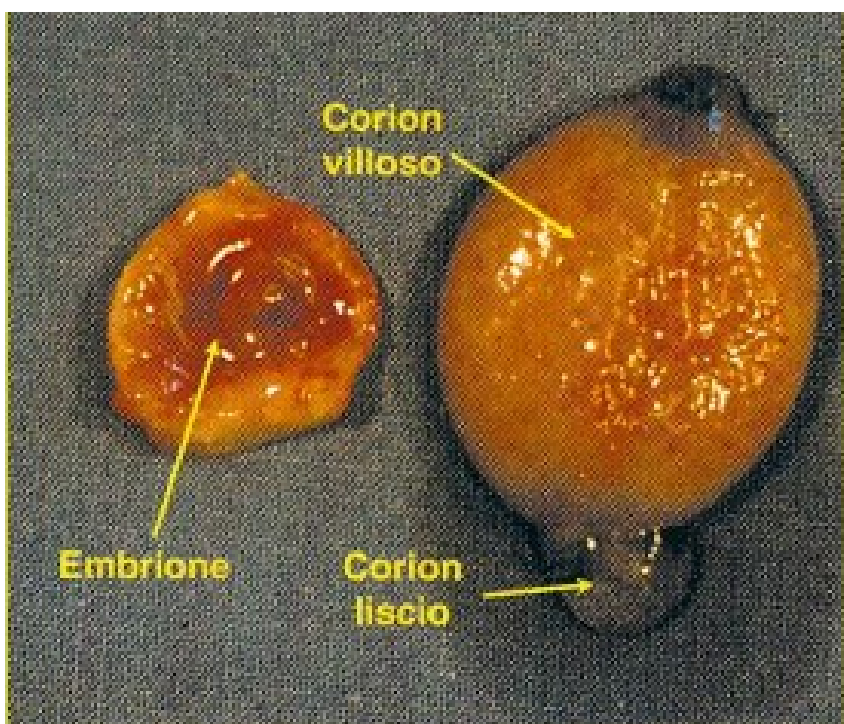
La faccia profonda del trofoblasto verrà rivestita dal mesoblasto e insieme costituiranno infine il corion, così che il celoma extraembrionale diviene una vera e propria cavità coriale.

Il corion contrae rapporti variabili a seconda della specie, con l'amnios e con l'allantoide sottostanti, l'allantoide fornisce le ramificazioni vascolari che arrivano all'embrione attraverso il cordone ombelicale e che alimenteranno la parte fetale della placenta, portata dal ricco sistema di villi che il corion sviluppa sulla faccia esterna (R. Barone, 2009).

I villi si sviluppano con modalità e distribuzione differenti a seconda della specie e del tipo di placenta (A. M. Carter et al, 2006)



(Università di Parma, Dipartimento di Scienze Medico Veterinarie, Clinica Ostetrica, Prof. E. Bigliardi)



(Università di Parma, Dipartimento di Scienze Medico Veterinarie, Clinica Ostetrica, Prof. E. Bigliardi)

AMNIOS

In tutte le specie è un sacco completo che racchiude il feto e la cui parete, di origine epiblastica e rivestita internamente dal mesoblasto, si riflette sulla superficie del cordone ombelicale per congiungersi alla pelle del feto.

Nella maggior parte dei mammiferi domestici, tra cui la gatta, il processo di amniogenesi avviene per pieghettamento, mentre nei primati avviene per cavitazione.

Amniogenesi per pieghettamento:

Durante il processo di amniogenesi, l'embrioblasto si distende in un disco appiattito, in corrispondenza del quale il trofoblasto generalmente si riassorbe per unirsi alla periferia dell'epiblasto.

I margini di questo disco si sollevano formando delle pieghe che a poco a poco si congiungono dorsalmente al disco embrionale avvolgendo poi l'embrione.

Infine le pieghe si salderanno a livello di un "ombelico amniotico", situato dorsalmente all'abbozzo embrionale, chiudendo così completamente la cavità amniotica. (R. Barone, 2009)

Amniogenesi per cavitazione:

l'embrioblasto si presenta come una massa più o meno sferoidale.

Internamente ad esso compaiono delle lacune che disgiungono le sue cellule e confluiscono formando una cavità centrale che fungerà da cavità amniotica.

Al momento della sua delimitazione, l'embrione si invagina letteralmente nell'amnios a cui è unito dal rivestimento del suo cordone ombelicale. (R. Barone, 2009)

(Università di Parma, Dipartimento di Scienze Medico Veterinarie, Clinica Ostetrica, Prof. E. Bigliardi)



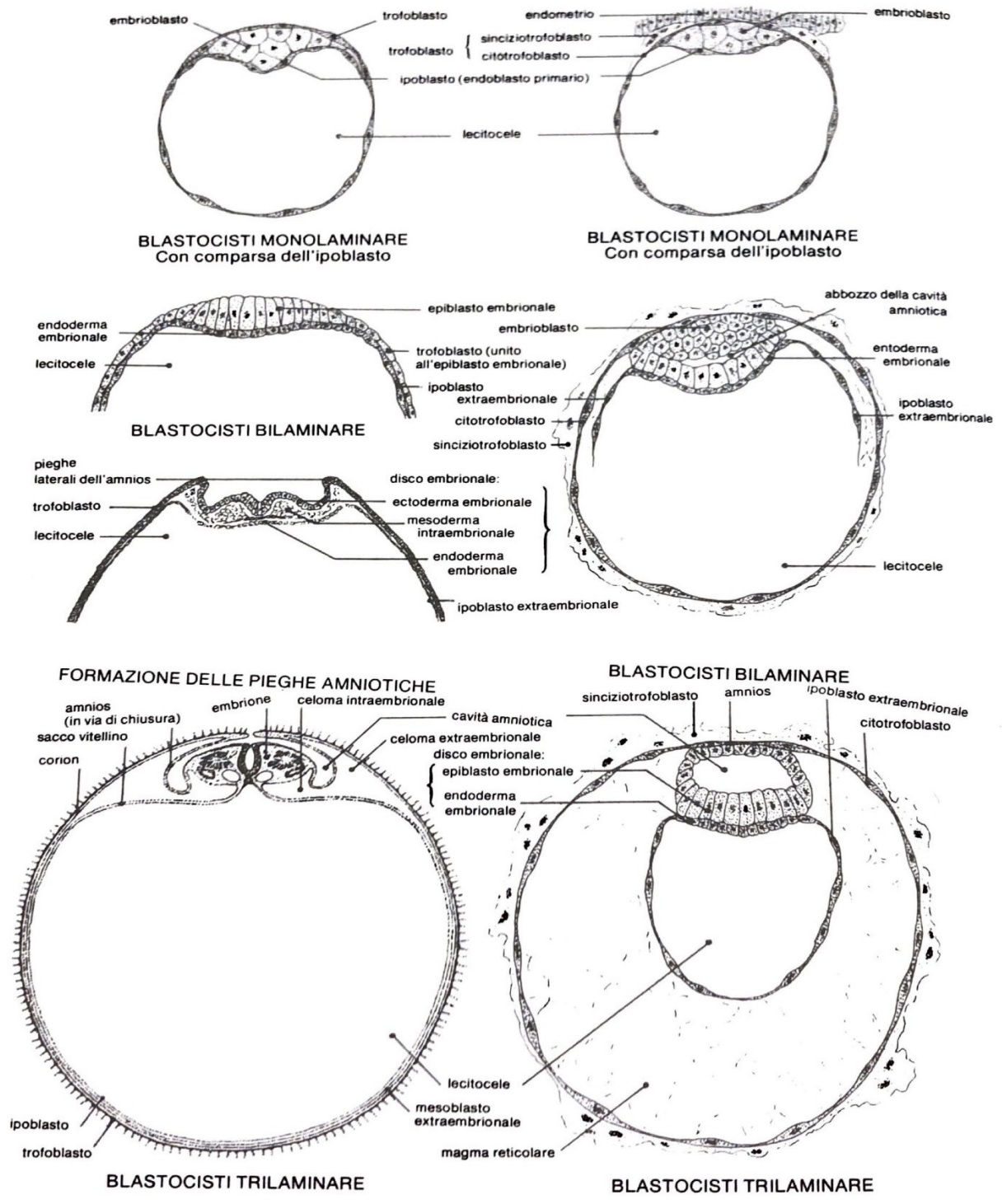


Fig. 158

PROCESSO DELLA FORMAZIONE DELL'AMNIO

432

A sinistra, nella maggior parte dei Mammiferi domestici, per pieghettamento.
 A destra, nei Primati, per cavitazione.
 La formazione dell'amnios è molto più precoce

(R. Barone, 2009)

ALLANTOIDE

È una dipendenza dell'endoderma, rivestita dal mesoblasto extraembrionale.

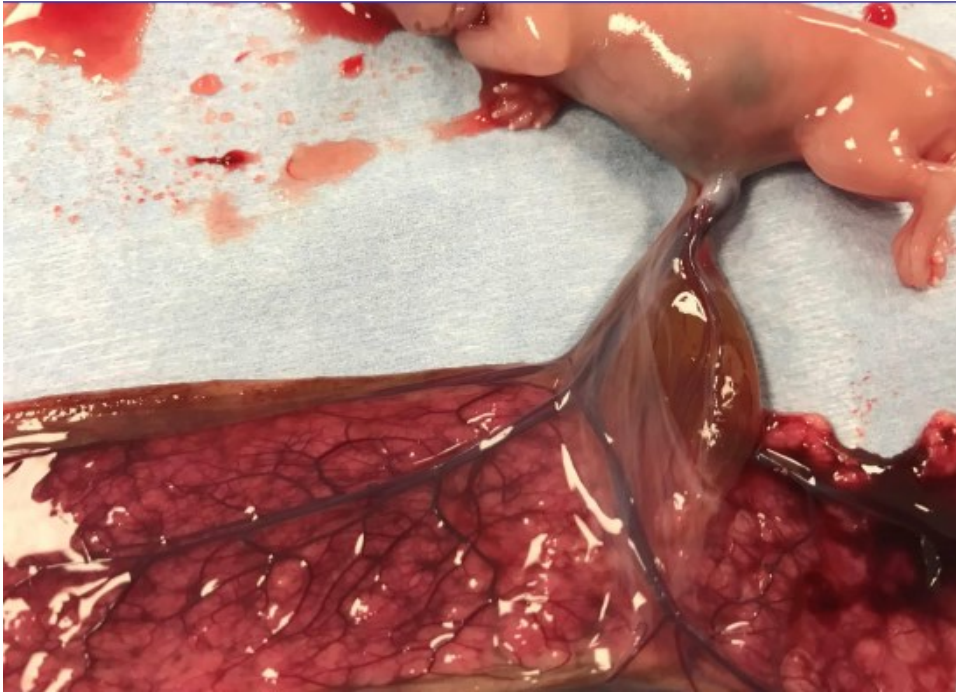
Esso costituisce il supporto della circolazione ombelicale di cui assicura la disposizione e la sua comparsa è quindi precoce.

Prima ancora che inizi la delimitazione dell'embrione, all'estremità caudale del disco embrionale si forma un ispessimento mesoblastico, detto cercine allantoideo, che riceve un diverticolo cavo dal disco stesso.

L'allantoide si allarga e si estende nel celoma extraembrionale, formando così una vescicola cava più o meno ampia, unita all'embrione attraverso il cordone ombelicale mediante un peduncolo allantoideo, scavato da un condotto allantoideo.

Essa persiste fino al parto e nei carnivori avvolge completamente l'amnios, che tiene quindi sospeso nel sacco coriale.

In questo stadio di massimo sviluppo, l'allantoide è quindi disposto come una vasta sierosa, con un foglietto amniotico ed uno coriale (R. Barone,2009).



(Università di Parma, Dipartimento di Scienze Medico Veterinarie,
Clinica Ostetrica, Prof. E. Bigliardi)

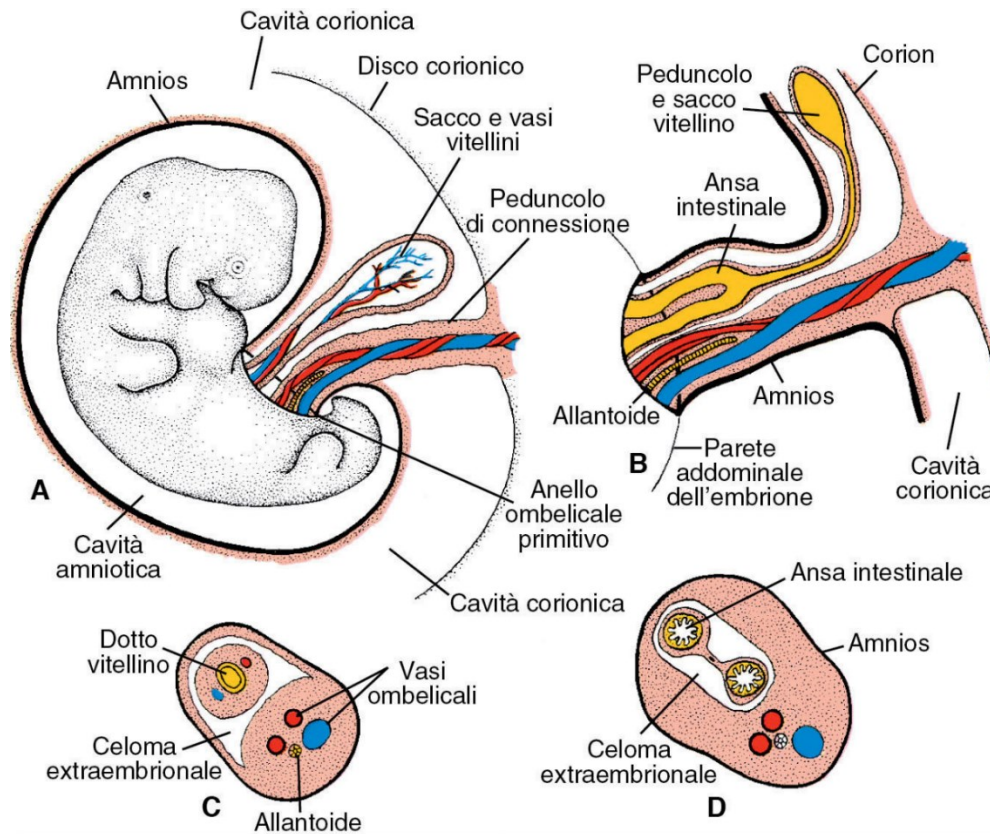
CORDONE OMBELICALE

Deriva dal sollevamento dell'embrione sul sacco vitellino, con la contemporanea comparsa delle pieghe del corpo, che determinano la formazione tra embrione e annessi e tra celoma intra ed extra embrionale, di una strozzatura, chiamata inizialmente ombelico cutaneo.

Questa strozzatura inizialmente ampia, tende ad allungarsi e restringersi formando il cordone ombelicale.

Esso è quindi un annesso a forma di peduncolo, che stabilisce il collegamento tra l'embrione e gli altri annessi embrionali, e permette lo scambio di nutrienti tra madre e feto.

Nel cordone ombelicale transitano il condotto vitellino e quello allantoideo, con i rispettivi vasi (Pelagalli 2009).



(Langman's medical embryology)

SACCO VITELLINO

È un annesso embrionale che deriva direttamente dall'endoblasto extraembrionale e che si sviluppa precocemente.

Inizialmente molto voluminoso rispetto all'embrione, il sacco vitellino cessa presto il suo accrescimento e occupa generalmente uno spazio ridotto.

Nello stesso tempo, si pedunculizza e rimanendo allogato tra l'amnios e il corion è collegato all'intestino dell'embrione mediante il peduncolo vitellino, che persisterà fino alla nascita (R. Barone, 2009).

PLACENTA

È una struttura complessa formata da una componente fetale (corion), e da una materna (mucosa uterina).

Assicura gli scambi respiratori e metabolici tra madre e feto, ha funzione di protezione impedendo, tramite la barriera placentare, il passaggio nella circolazione fetale di sostanze o microrganismi nocivi.

Il sangue fetale non può in nessun caso mescolarsi al sangue materno, per cui gli scambi sono resi possibili dalla permeabilità selettiva del filtro placentare.

Le placente deciduate permettono in minima parte il passaggio degli anticorpi in direzione materno-fetale, contribuendo all'immunità fetale.

La placenta svolge inoltre un'importante funzione endocrina, in quanto produce gonadotropine corioniche, estrogeni, progesterone, prolattina e relaxina. (Pelagalli, 2009)

Nei mammiferi placentati, le placente presentano notevoli differenze, per questo si possono classificare in base a diversi criteri:

- **Origine della vascolarizzazione del corion**

La placenta dei carnivori è definita sulla base della vascolarizzazione del corion, vitellina o onfaloide, coadiuvata da una placenta allantoidea.

Quando, per l'assenza del celoma extraembrionale, la somatopleura del corion è fusa con la splancnopleura del sacco vitellino, il corion viene vascolarizzato da quest'ultima.

Nelle specie in cui l'allantoide si espande nel celoma extraembrionale e si pone in contatto con la somatopleura del corion, questo viene vascolarizzato dalla splancnopleura dell'allantoide, per cui la placenta è definita allantoidea.

- **Distribuzione dei villi sul corion**

Sulla base della distribuzione dei villi sulla superficie del corion, la placenta può essere definita diffusa (suino ed equidi), multipla o cotiledonare (ruminanti), zonata (carnivori) e discoidale (primati).

La placenta dei carnivori è zonata, i villi del corion si dispongono a formare un anello che avvolge la fascia equatoriale del corion, mentre le estremità costituiscono il corion liscio.

- **Rapporto tra corion e mucosa uterina**

La barriera materno-fetale inizialmente è costituita da tre strati extraembrionali fetali (endotelio vasale, connettivo mesodermico ed epitelio del corion) e da tre strati della mucosa uterina (endotelio vasale, connettivo ed epitelio di rivestimento).

Nei carnivori, i villi del corion erodono sia l'epitelio che il connettivo della mucosa uterina, prendendo rapporto con l'endotelio dei vasi materni.

Tale tipo di placenta è perciò definita endotelio-coriale.

Nel suino e negli equini l'epitelio del corion è a contatto con l'epitelio della mucosa uterina, e la placenta è detta epitelio-coriale.

Nei ruminanti la placenta è di tipo sindesmo-coriale, i villi coriali erodono parzialmente l'epitelio della mucosa uterina, per cui l'epitelio del corion, in alcuni punti è in contatto col connettivo della mucosa uterina.

Nei primati, roditori e lagomorfi, la placenta è di tipo emo-coriale, i villi coriali erodono completamente gli strati materni, per cui entrano a contatto con lacune sanguigne localizzate nella mucosa uterina.

- **Comportamento della mucosa uterina al momento del parto**

La mucosa uterina (decidua), può subire modificazioni per consentire l'impianto della blastocisti.

L'entità e l'ampiezza di tali modificazioni sono diverse nelle varie specie:

nelle placenti in cui è presente erosione (endotelio-coriale ed emo-coriale), il distacco del corion con il secondamento può determinare perdite ematiche più o meno imponenti, seguite dall'espulsione della decidua.

Tali placenti, in cui una parte dell'endometrio viene eliminata al momento del parto sono definite deciduate.

La placenta degli equidi e dei ruminanti (epitelio-coriale e sindesmo-coriale), è invece detta adeviduata, in quanto la mucosa uterina non ha subito erosione da parte dei villi del corion, per cui il distacco di questi con il secondamento avviene senza perdite di sangue (Pelagalli, 2009).

Sviluppo dei fluidi fetali

La composizione e formazione dei fluidi fetali non deriva dalla semplice filtrazione del sangue materno, infatti il feto gioca un ruolo importante e attivo all'interno del processo (X.L. Tong, L. Wang et al. 2009).

Allo stadio di blastocisti, le cellule del trofoblasto iniziano a secernere il liquido che permetterà la formazione del blastocoele, precursore della cavità amniotica.

Il liquido formatosi contiene acqua e metaboliti cellulari trofoblastici, che andranno a contribuire alla formazione del substrato nutritivo della massa cellulare interna (bottone embrionale).

(M. Shindler, S.M. Pendzialek et al, 2020)

Durante le fasi successive dello sviluppo fetale, il liquido amniotico origina dalle secrezioni del tratto respiratorio, cavità orale, apparato gastroenterico e cute del feto, prima che avvenga la cheratinizzazione.

Esso ha funzione di protezione meccanica dai traumi, fornisce nutrienti e molecole utili alla crescita del feto, ne mantiene il corretto stato di idratazione, ne favorisce i movimenti e mantiene costante la temperatura corporea.

Durante lo sviluppo, il feto ingerisce piccole quantità di liquido amniotico, che verrà quindi riassorbito dallo stesso, mentre un'altra

piccola percentuale verrà trasferita dall'amnios al circolo sanguigno fetale per gradiente osmotico.

Quest'ultimo fenomeno sembra verificarsi grazie alla presenza su alcune membrane fetali come corion, sacco amniotico, sacco vitellino e sull'endotelio dei vasi placentari, di aquaporine, proteine integrali di membrana coinvolte nel meccanismo di regolazione del volume dei liquidi fetali (M.Aralla, A. Mobasheri et al. 2012)

Il principale meccanismo di accumulo del liquido allantoideo, nelle prime fasi della gravidanza, è il trasporto transmembranario e l'attività secretoria delle membrane extraembrionali.

Negli stadi più avanzati della gravidanza invece, il liquido allantoideo proviene dal mesonefro, metanefro e secrezioni renali, divenendo più simile come composizione, all'urina fetale.

Quando si avvicina il termine della gravidanza, l'urina fetale non viene più riversata nel sacco allantoideo, ma in quello amniotico attraverso l'uretra, con la progressiva chiusura dell'uraco (L.Fresno, J.E. Rodriguez et al, 2012).

Al contrario di quanto avviene nella specie umana, in cui l'allantoide subisce un processo regressivo col progredire della gravidanza, nei carnivori domestici, in particolare nella specie canina, l'allantoide si espande per accumulo di liquido allantoideo che circonda l'amnios (O. Balogh, R. Bruckmaier et al, 2018)

Composizione dei liquidi fetali

È stato dimostrato da studi sulla composizione dei fluidi fetali in diverse specie, tra cui la specie felina, che questa varia in relazione alla diversa età gestazionale del feto, quindi con l'inoltrarsi della gravidanza.

Nella specie felina le sostanze costituenti i liquidi amniotico ed allantoideo, con diversa concentrazione in base ai giorni di gravidanza, sono le seguenti:

- a) Enzimi epatici
- b) Enzimi muscolari
- c) Enzimi pancreatici
- d) Enzimi renali
- e) Lipidi
- f) Elettroliti
- g) Proteine
- h) Glucosio
- i) Lattati
- j) Cortisolo
- k) Acqua

Nella tabella riportata (L.Fresno, J.E. Rodriguez et al, 2012), le componenti dei fluidi allantoideo (AL) e amniotico (AM), con corrispettiva concentrazione, sono messe a confronto con il valore di

riferimento, in questo caso la concentrazione delle stesse sostanze nel siero materno (MS), e la loro variazione al trentesimo (D30), quarantesimo (D40), cinquantesimo (D50) e sessantesimo (D60) giorno di gravidanza.

Albumine (g/Dl)	Valori di riferimento	D30	D40	D50	D60
MS	2,1 - 3,3				
AL		0,03 ± 0,04	0,01 ± 0,04	0,04 ± 0,04	0,07 ± 0,06
AM		0,03 ± 0,05	0,01 ± 0,04	0,07 ± 0,04	0,02 ± 0,04
AST (U/L)					
MS	26-43				
AL		76,07 ± 13,54	4,08 ± 15,14	25,00 ± 14,55	51,33 ± 21,41
AM		30,33 ± 17,48	6,92 ± 14,55	16,44 ± 13,11	16,08 ± 15,14
ALT (U/L)					
MS	6,0 - 83				
AL		1,33 ± 1,83	0,00 ± 7,09	1,92 ± 1,96	4,83 ± 2,89
AM		1,44 ± 2,36	1,00 ± 5,01	1,19 ± 1,77	1,75 ± 2,05
LDH (U/L)					
MS	63 - 273				
AL		258,87 ± 60,21	5,48 ± 52,14	179,36 ± 54,46	535,97 ± 73,74
AM		28,69 ± 63,86	7,78 ± 50,10	1,38 ± 73,74	52,12 ± 52,12
CK (U/L)					
MS	<120				
AL		16,34 ± 30,45	0,98 ± 0,60	14,87 ± 22,52	15,28 ± 19,21
AM		4,68 ± 4,38	0,79 ± 0,78	0,78 ± 0,64	1,00 ± 0,73
Amilasi (U/L)					
MS	570 - 1820				
AL		15,37 ± 63,08	19,20 ± 70,52	31,97 ± 67,76	196,42 ± 99,73
AM		21,93 ± 81,43	17,94 ± 67,76	31,87 ± 61,07	62,83 ± 70,52
Urea (mg/dL)					
MS	42,8 - 64,2				
AL		55,01 ± 2,35	56,88 ± 2,63	57,22 ± 2,52	64,80 ± 3,71
AM		48,27 ± 3,03	56,69 ± 2,52	57,77 ± 2,27	63,13 ± 2,63
Trigliceridi (mg/dL)					
MS	10 - 114				
AL		2,27 ± 2,43	2,00 ± 2,72	2,92 ± 2,61	3,67 ± 3,84
AM		3,78 ± 3,14	2,15 ± 2,61	2,88 ± 2,35	10,92 ± 2,72

Colesterolo (mg/dL)					
MS	95 - 130				
AL		0,83 ± 3,52	0,10 ± 3,05	1,98 ± 2,93	4,58 ± 4,32
AM		0,60 ± 3,74	0,44 ± 2,93	4,86 ± 2,64	2,12 ± 3,05
Colesterolo HDL (mmol/L)					
MS	(-)				
AL		0,06 ± 0,04	0,00 ± 0,05	0,06 ± 0,05	0,05 ± 0,07
AM		0,07 ± 0,06	0,00 ± 0,05	0,08 ± 0,04	0,06 ± 0,05
Colesterolo LDL (mmol/L)					
MS	(-)				
AL		0,01 ± 0,03	0,00 ± 0,03	0,03 ± 0,03	0,05 ± 0,05
AM		0,02 ± 0,04	0,01 ± 0,03	0,11 ± 0,03	0,04 ± 0,03
Fosforo (mg/dL)					
MS	4,5 - 8,1				
AL		6,43 ± 2,47	4,46 ± 2,76	11,30 ± 2,65	14,06 ± 3,90
AM		3,59 ± 3,19	1,85 ± 2,65	4,06 ± 2,55	16,47 ± 2,76
Proteine totali (g/dL)					
MS	5,4 - 7,8				
AL		0,07 ± 0,11	0,13 ± 0,13	0,17 ± 0,12	0,67 ± 0,18
AM		0,09 ± 0,15	0,11 ± 0,12	0,23 ± 0,11	0,19 ± 0,13
Glucosio (mg/dL)					
MS	73 - 134				
AL		80,7 ± 7,00	85,9 ± 7,7	65,6 ± 6,3	75,00 ± 9,9
AM		80,5 ± 7,30	83,4 ± 7,7	59,5 ± 6,3	69,00 ± 8,6
Pressione oncotica (osmol/kg)					
MS	(-)				
AL		301,3 ± 10,8	369,9 ± 12,00	316,5 ± 11,6	335,3 ± 17,0
AM		323,2 ± 18,7	369,5 ± 12,00	315,0 ± 10,4	332,6 ± 2,6

I risultati confermano ciò che è stato precedentemente asserito, ovvero che la composizione dei fluidi fetali non deriva da un semplice filtraggio del siero materno, ma vede l'attiva partecipazione del feto e degli annessi.

Non risultano differenze significative nella composizione dei due fluidi allantoideo e amniotico, questo è probabilmente dovuto al fatto che nonostante durante tutto il corso della gravidanza, l'amnios rimanga scarsamente vascolarizzato, i suoi vasi decorrono parallelamente alla membrana allantoidea, rendendo così possibile il passaggio di sostanze dai vasi allantoidei alle cellule della membrana amniotica. (L.Fresno, J.E. Rodriguez et al, 2012).

Al contrario, studi effettuati nella **specie canina** mostrano differenze significative tra la composizione dei liquidi allantoideo e amniotico, suggerendo che vi siano fattori diversi che concorrono alla formazione di ciascuno. (M.C. Veronesi, B. Bolis et al, 2017)

Inoltre, variazioni di concentrazione che si verificano durante la gravidanza, possono essere attribuite al cambiamento dell'attività metabolica e di trasporto, sia dei tessuti fetali che placentari.

Le variazioni della composizione dei fluidi fetali possono essere quindi valutati come indici di sviluppo fetale e organogenesi:

Ad esempio, la fosfatasi alcalina (ALP), prodotta da diverse tipologie cellulari (fegato, reni, mucosa intestinale e placenta), tra cui le cellule del tessuto osseo, aumenta verso il cinquantesimo giorno di gravidanza, periodo in cui si verifica l'osteogenesi fetale.

Si può altresì valutare la variazione della funzionalità renale in relazione a diversi parametri, come l'abbassamento di sodio e cloro, mentre i livelli di potassio subiscono il processo inverso, aumentando.

Questo suggerisce un aumento dell'attività dell'enzima ATPasi, responsabile del trasporto sodio-potassio all'interno dei tubuli renali, e conseguentemente, un incremento della capacità renale di riassorbimento di sodio e cloro.

I livelli di lipasi e amilasi rimangono bassi rispetto alla concentrazione del siero materno, indice di bassa attività pancreatica, in quanto la funzionalità digestiva occorre solo in minima parte nel feto.

I lattati sono un importante indice di stress fetale e sembrano avere un ruolo nell'attivazione della produzione surrenalica di cortisolo nelle fasi che precedono il parto:

L'accumulo di lattati è infatti indice di ipossia tissutale, dovuta alle aumentate richieste metaboliche del feto a fine gravidanza, inoltre l'accrescimento del feto determina nel tempo, l'esaurimento dello spazio a disposizione all'interno della camera gestazionale.

Questi fattori si traducono in stress, aumento dei lattati e ipossia tissutale, con conseguente rilascio di cortisolo dalle ghiandole surrenaliche, meccanismo che darà inizio alle prime fasi del parto.
(L.Fresno, J.E. Rodriguez et al, 2012)

Allo stesso tempo, altri studi effettuati su specie diverse, mostrano come le variazioni nella composizione del siero materno, influenzino la composizione dei fluidi fetali: uno studio effettuato sulla **coniglia** evidenzia come in corso di diabete mellito insulino - dipendente della madre, le importanti variazioni metaboliche che ne conseguono si riflettano in modo importante sul feto nel periodo di preimpianto, determinando la modificazione di circa 66 tipologie di metaboliti all'interno dei fluidi fetali. (M. Shindler, S.M. Pendzialek et al, 2020)

Studi effettuati sulla **specie canina**, allo scopo di individuare precocemente possibili patologie fetali che si riflettano in variazioni della composizione dei fluidi allantoideo e amniotico, non hanno dato invece risultati di conferma positiva, non evidenziando differenze significative tra i liquidi appartenenti a feti sani e feti malati.

Sono invece emerse differenze significative a carico dei fluidi fetali tra specie canine in base alla taglia e al sesso del nascituro, per quanto riguarda amilasi, calcio, colesterolo, glucosio e fosforo. (M.C. Veronesi, B. Bolis et al, 2017)

Altra conferma ai risultati mostrati dallo studio di L. Fresno et al., proviene da uno studio dell'Università di Parma (Università di Parma, Dipartimento di Scienze Medico Veterinarie, Clinica Ostetrica, Prof. E. Bigliardi), che ha lo scopo di determinare la composizione biochimica dei liquidi amniotico e allantoideo, comparandolo con la composizione del siero materno in differenti periodi della gravidanza.

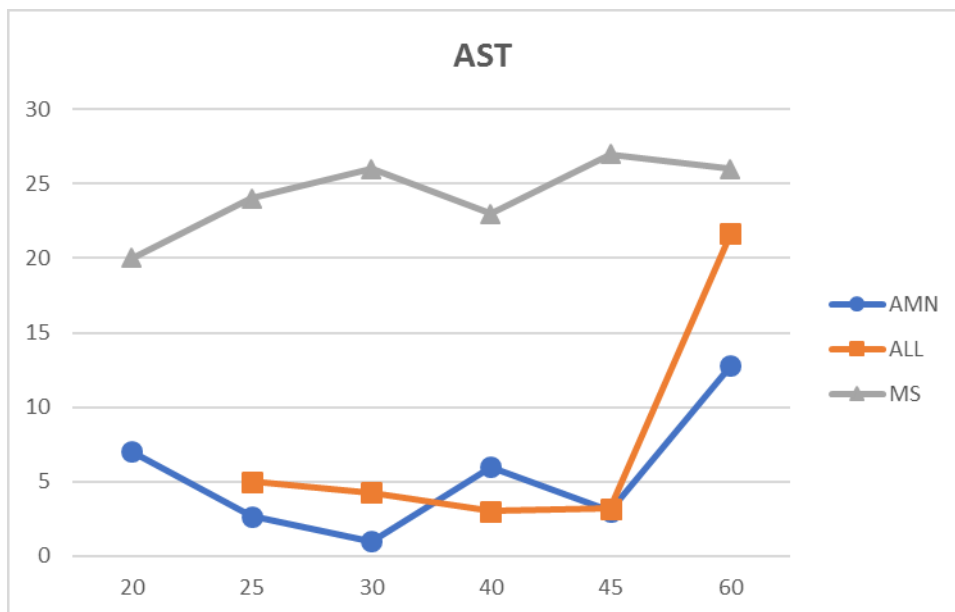
Nel suddetto studio sono stati analizzati i liquidi amniotico e allantoideo di 7 gatte gravide, giunte in ospedale veterinario per la sterilizzazione da programma di controllo della popolazione felina, dalle quali sono stati raccolti in totale 22 campioni di liquido amniotico e 17 di liquido allantoideo, in 6 differenti periodi della gravidanza:

al 20°(D20), 25°(D25) e 30°(D30) giorno della gravidanza, individuati con misurazione delle vescicole embrionali con ultrasonografia, al 40°(D40) giorno di gravidanza utilizzando come parametro di riferimento l'aspetto dell'apparato gastroenterico e la divisione vertebrale del feto, e infine al 45°(D45) e 60°(D60) giorno utilizzando come rilievo biometrico il diametro trasverso dell'addome del feto.

I parametri biochimici analizzati, la cui concentrazione è stata confrontata in siero materno, liquido amniotico e allantoideo sono:

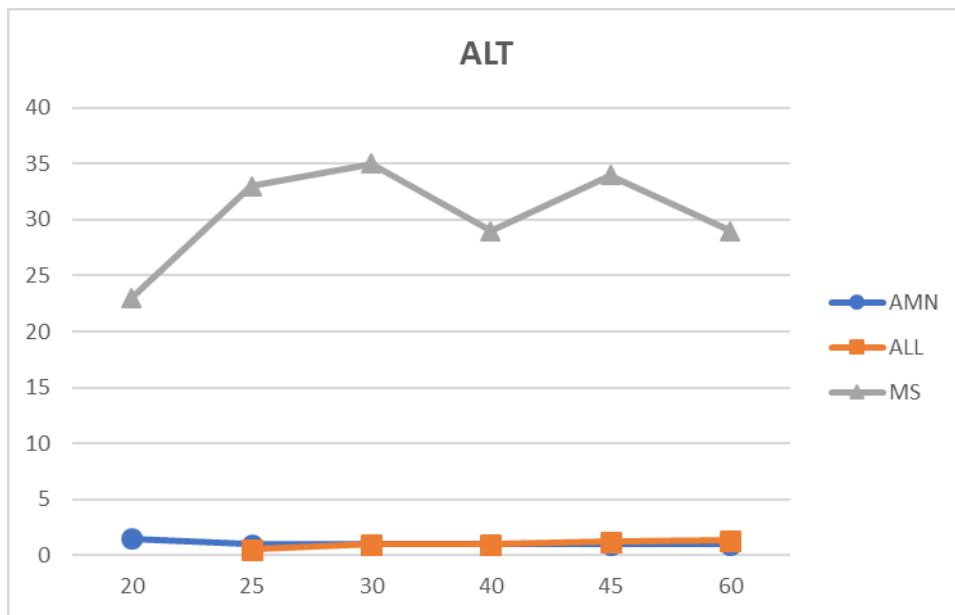
Enzimi epatici:

le AST (aspartato aminotransferasi) mostrano valori di concentrazione più bassi nel liquido allantoideo (ALL) e nel liquido amniotico (AMN), rispetto al siero materno (MS), soprattutto fino al 45° giorno di gravidanza, in cui si assiste ad un picco che porta la concentrazione dell'enzima ad aumentare nel liquido amniotico, ma non significativamente quanto nel liquido allantoideo, in cui eguaglia i valori raggiunti nel siero materno.



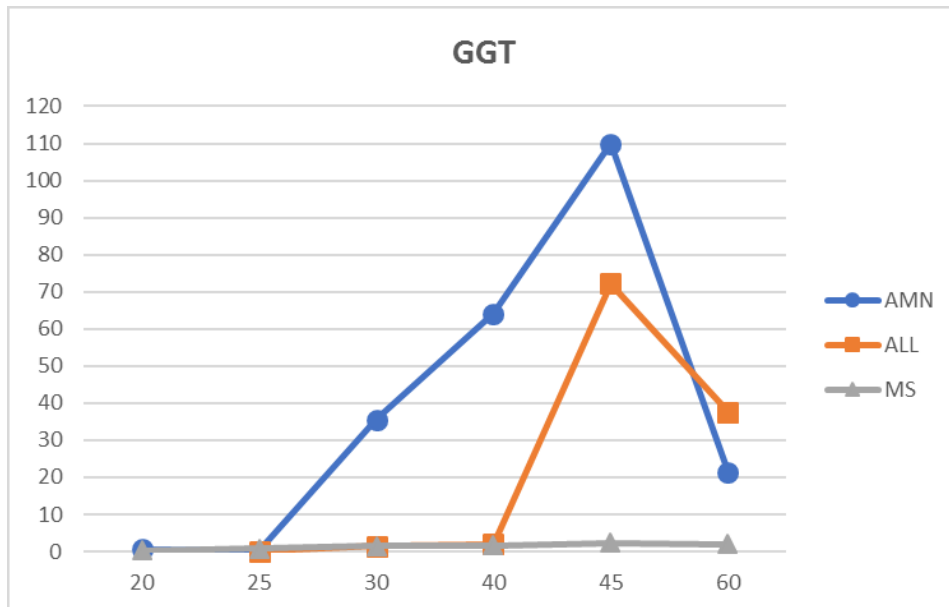
(Università di Parma, Dipartimento di Scienze Medico Veterinarie, Clinica Ostetrica, Prof. E. Bigliardi)

Le ALT (alanina aminotransferasi) non mostrano significanti variazioni sia nel liquido amniotico che in quello allantoideo durante le diverse fasi della gravidanza e si mantengono a livelli molto più bassi di quelli riscontrati nel siero materno.



(Università di Parma, Dipartimento di Scienze Medico Veterinarie, Clinica Ostetrica, Prof. E. Bigliardi)

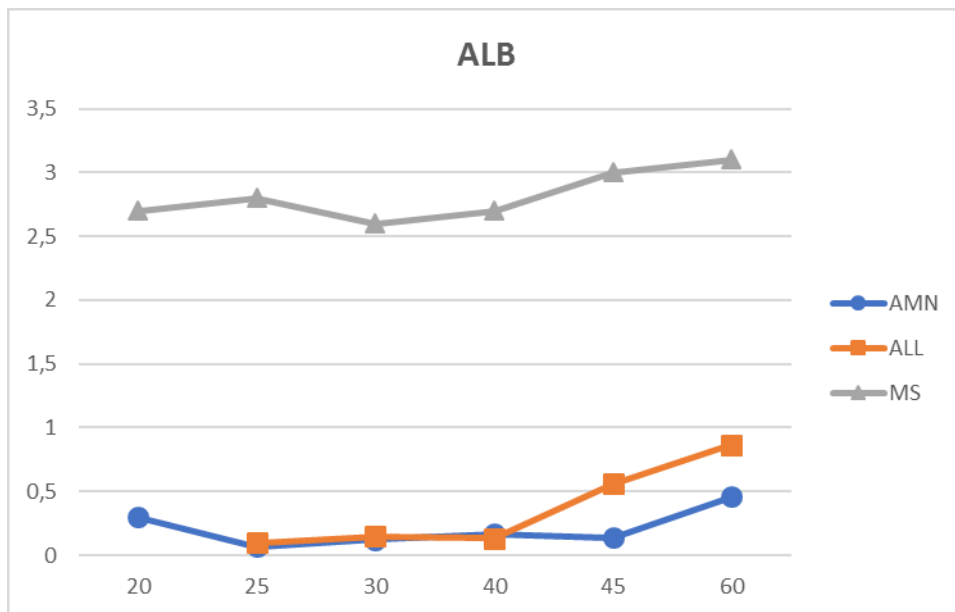
La concentrazione di GGT (gamma-glutamil transferasi) è comparabile a quella del siero materno fino al 25° giorno di gravidanza, in cui si osserva una significativa crescita nel liquido amniotico e lo stesso accade a 40 giorni nel liquido allantoideo.



(Università di Parma, Dipartimento di Scienze Medico Veterinarie, Clinica Ostetrica, Prof. E. Bigliardi)

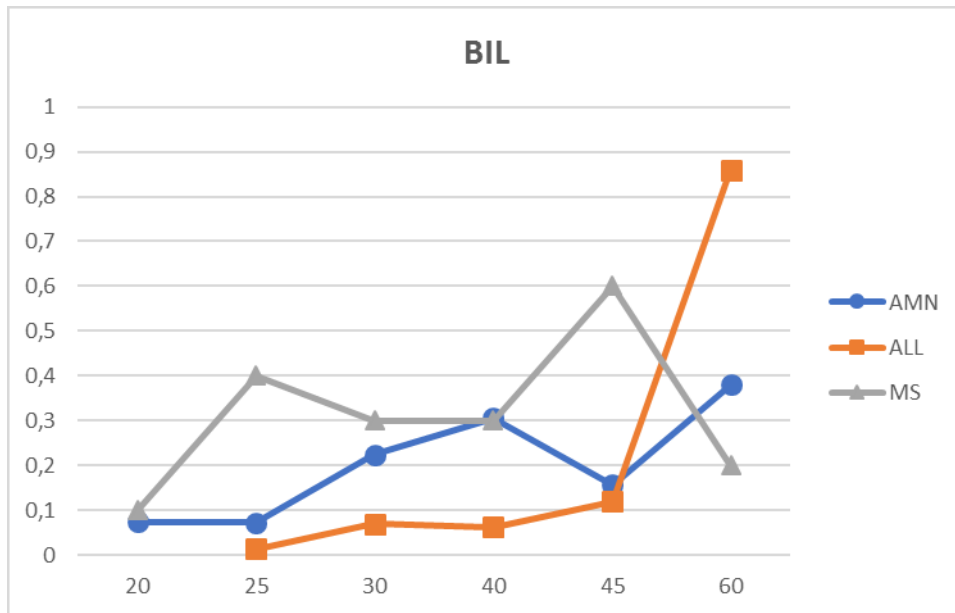
In entrambi i fluidi, il valore delle GGT raggiunge il picco al 45°giorno, per poi diminuire notevolmente, fino a mostrare differenze significative al termine della gravidanza.

Le ALB (albumine) non mostrano importanti variazioni e si mantengono notevolmente più basse nei liquidi fetali rispetto al siero materno per tutta la durata della gravidanza.



(Università di Parma, Dipartimento di Scienze Medico Veterinarie, Clinica Ostetrica, Prof. E. Bigliardi)

I livelli di BIL (bilirubina) mostrano variazioni significative sia nel siero materno che nei fluidi fetali: nel siero materno quest'ultima mostra due picchi di crescita, dal giorno 20 al giorno 25 e dal giorno 40 al 45, per poi diminuire gradualmente fino al 60°giorno.

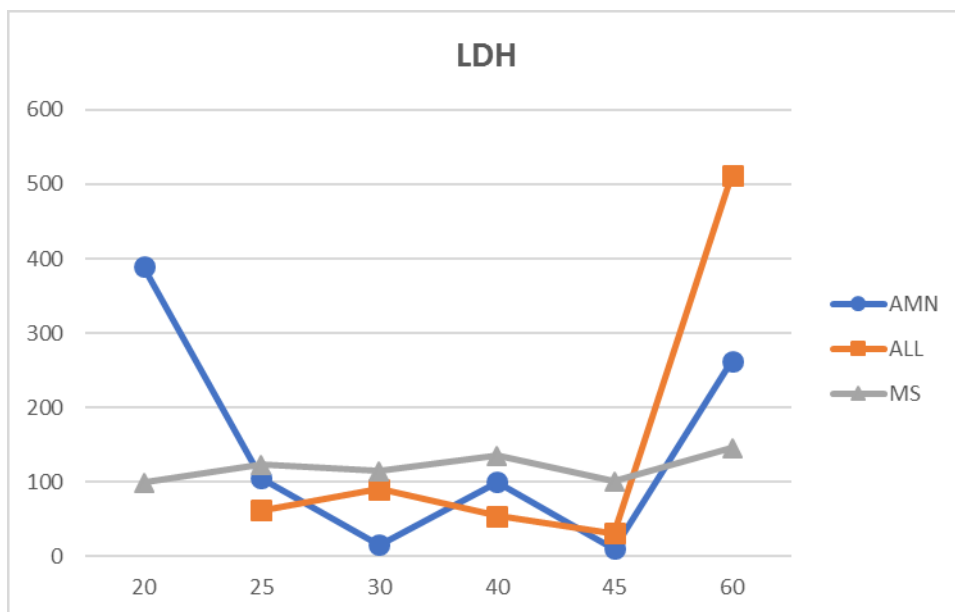


(Università di Parma, Dipartimento di Scienze Medico Veterinarie, Clinica Ostetrica, Prof. E. Bigliardi)

Nel liquido allantoideo cresce gradualmente fino al 45°giorno, in cui inizia lo sviluppo di un picco che lo porterà a superare i valori raggiunti nel siero materno al 60° giorno.

Anche i livelli di BIL nel liquido amniotico aumentano fino a raggiungere il picco al 60°giorno, ma in misura minore.

L'LDH (lattato deidrogenasi) mantiene livelli pressochè costanti nel siero materno per tutta la durata della gravidanza, nel liquido allantoideo presenta un picco di crescita che inizia al 45°giorno e si conclude al 60°, mentre le variazioni più significative si hanno nel liquido amniotico, in cui l'LDH ha già raggiunto il suo picco massimo a 20 giorni, per poi decrescere con piccoli rialzi dal 30° al 45° giorno, momento in cui si verifica un ulteriore aumento, che lo porterà a superare la concentrazione del siero materno al 60° giorno di gravidanza.

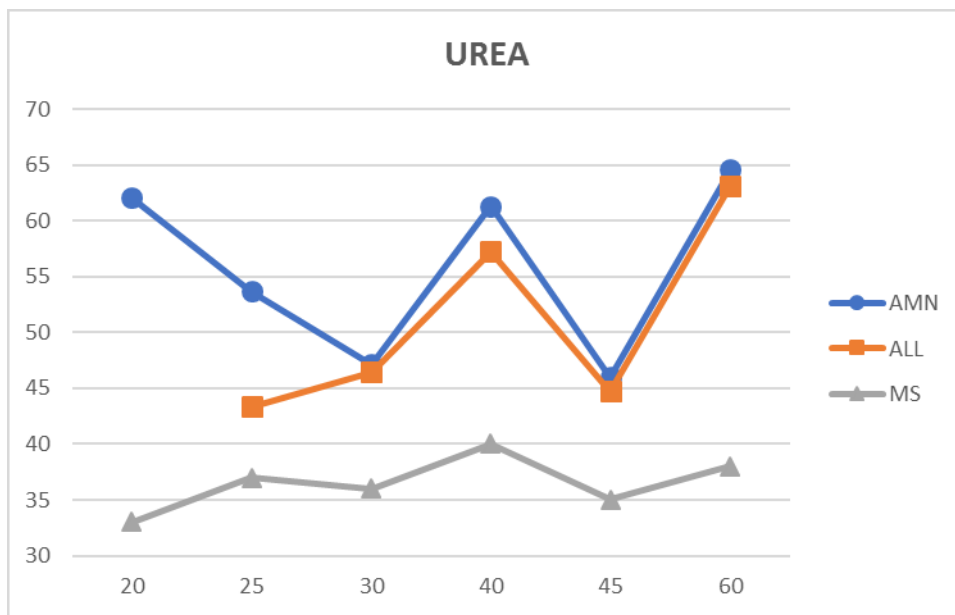


(Università di Parma, Dipartimento di Scienze Medico Veterinarie, Clinica Ostetrica, Prof. E. Bigliardi)

Enzimi renali:

i livelli di UREA rimangono pressochè inalterati durante tutto il corso della gravidanza nel siero materno e si mantengono più bassi rispetto ai fluidi fetali.

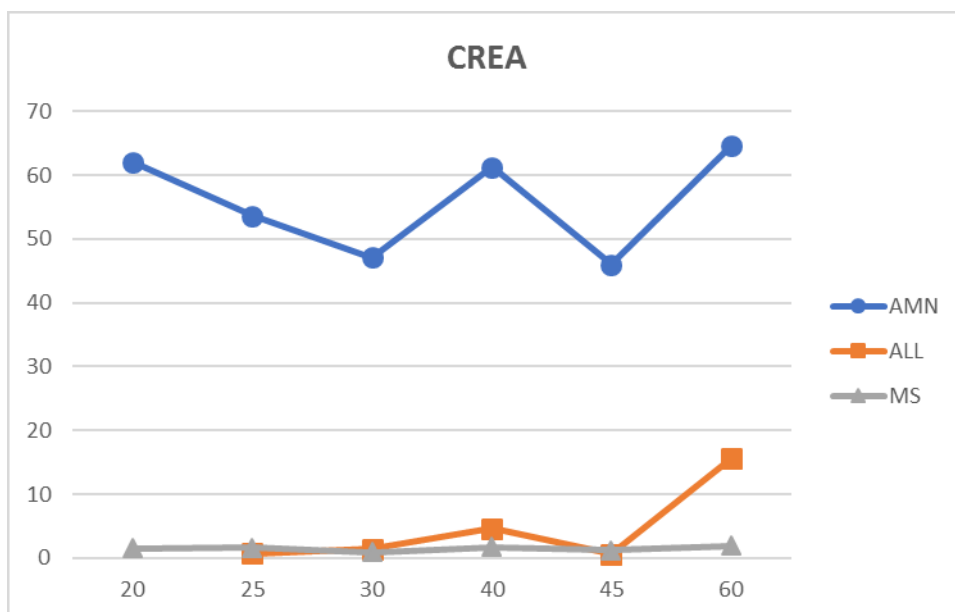
Fino al 30°giorno, l'andamento a livello di liquido allantoideo e amniotico è contrapposto, infatti la concentrazione di UREA aumenta nel liquido allantoideo, mentre diminuisce nel liquido amniotico, per poi seguire un decorso simile, con un aumento al 40° giorno, forte decremento al 45° e infine un nuovo aumento al 60° giorno.



(Università di Parma, Dipartimento di Scienze Medico Veterinarie, Clinica Ostetrica, Prof. E. Bigliardi)

La CREA (creatinina) ha valori di concentrazione simili nel siero materno e nel liquido allantoideo, almeno fino alla fine della gravidanza, in cui si assiste ad un aumento in quest'ultimo, i livelli nel liquido amniotico invece si mantengono sempre notevolmente superiori ad entrambi i precedenti.

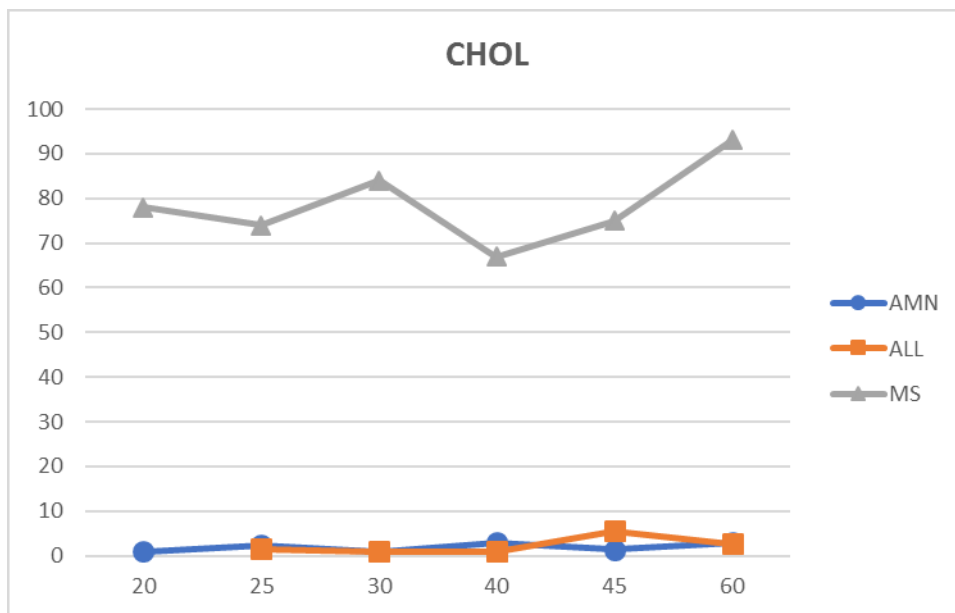
Nel liquido allantoideo la CREA aumenta lievemente anche al 40° giorno, nel liquido amniotico invece si hanno decrementi al 30° e 45° giorno, mentre i livelli si elevano al 40° e infine al 60° giorno, momento in cui entrambi raggiungono un picco.



(Università di Parma, Dipartimento di Scienze Medico Veterinarie, Clinica Ostetrica, Prof. E. Bigliardi)

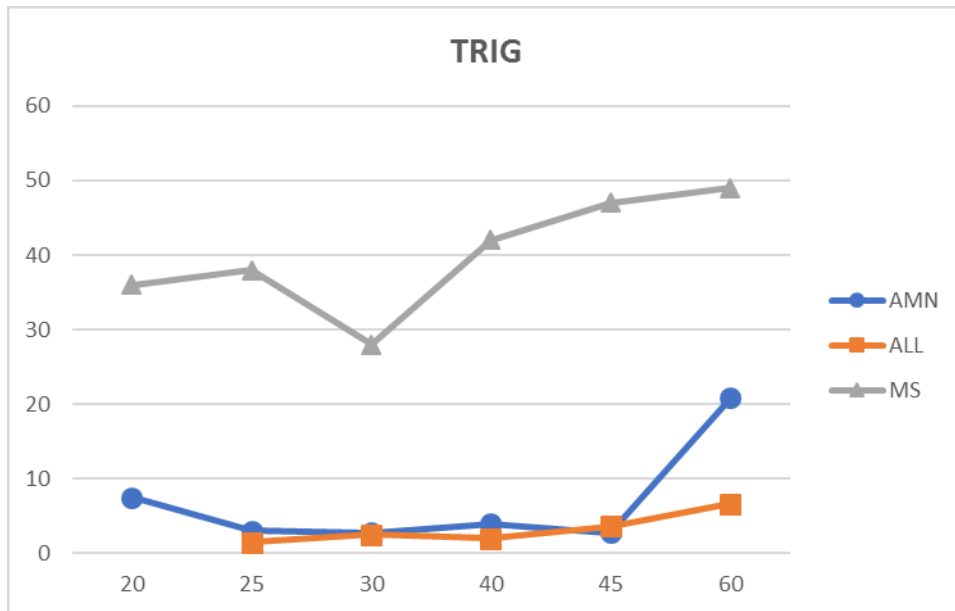
Enzimi del metabolismo lipidico:

il CHOL (colesterolo) si mantinene a livelli pressochè costanti nei liquidi fetali per tutta la durata della gravidanza e molto inferiori a quelli del siero materno, senza significative variazioni.



(Università di Parma, Dipartimento di Scienze Medico Veterinarie, Clinica Ostetrica, Prof. E. Bigliardi)

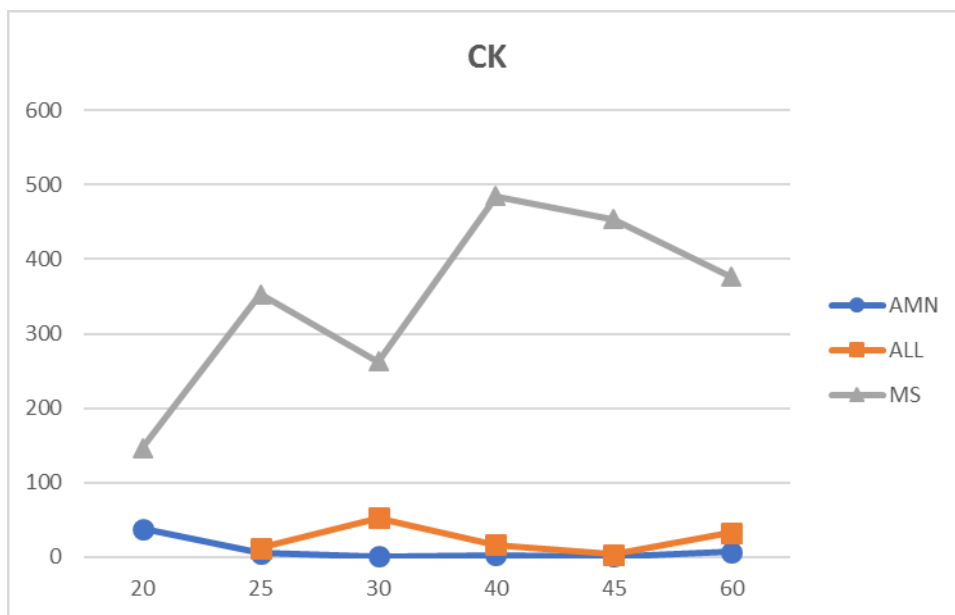
Anche i TRIG (trigliceridi) mantengono livelli notevolmente più bassi nei fluidi fetali rispetto al siero materno, ma entrambi subiscono un rialzo significativo dal 45°giorno, fino a raggiungere un picco al 60°, più elevato nel liquido amniotico.



(Università di Parma, Dipartimento di Scienze Medico Veterinarie, Clinica Ostetrica, Prof. E. Bigliardi)

Enzimi muscolari:

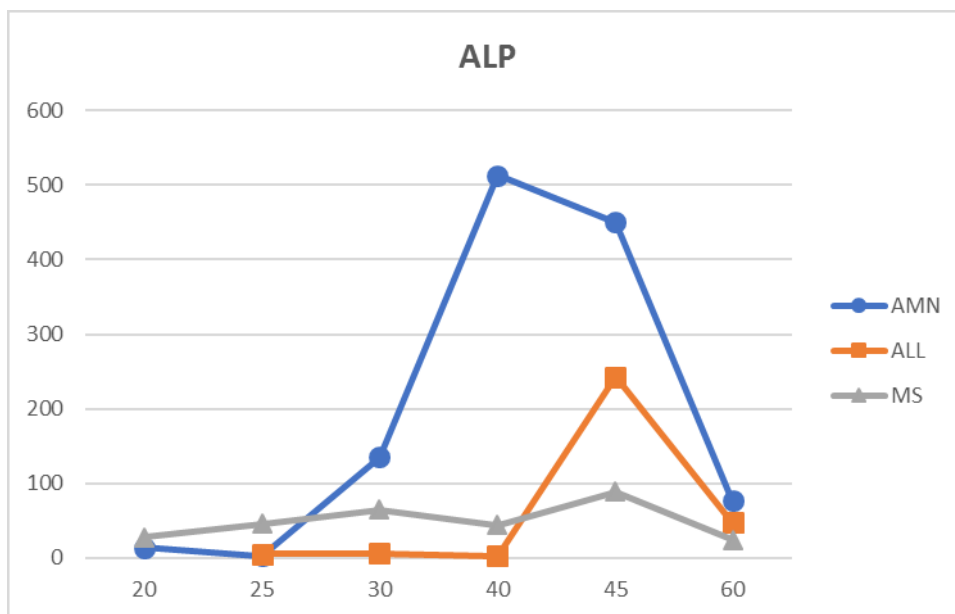
CK (creatin chinasi) mantengono livelli notevolmente minori nei liquidi fetali rispetto al siero materno e non mostrano variazioni significative durante il corso della gravidanza.



(Università di Parma, Dipartimento di Scienze Medico Veterinarie, Clinica Ostetrica, Prof. E. Bigliardi)

Le ALP (fosfatasi alcalina) mostrano un andamento crescente fino al 40°giorno nel liquido amniotico e raggiungono il picco al 45° giorno nel liquido allantoideo, anche se in quest'ultimo la concentrazione rimane più bassa rispetto al liquido amniotico.

I livelli contenuti nel siero materno rimangono pressochè costanti e vengono superati nel liquido amniotico dopo il 25°giorno e nel liquido allantoideo dopo il 40°, per poi eguagliarsi (con piccole variazioni) al 60°giorno.



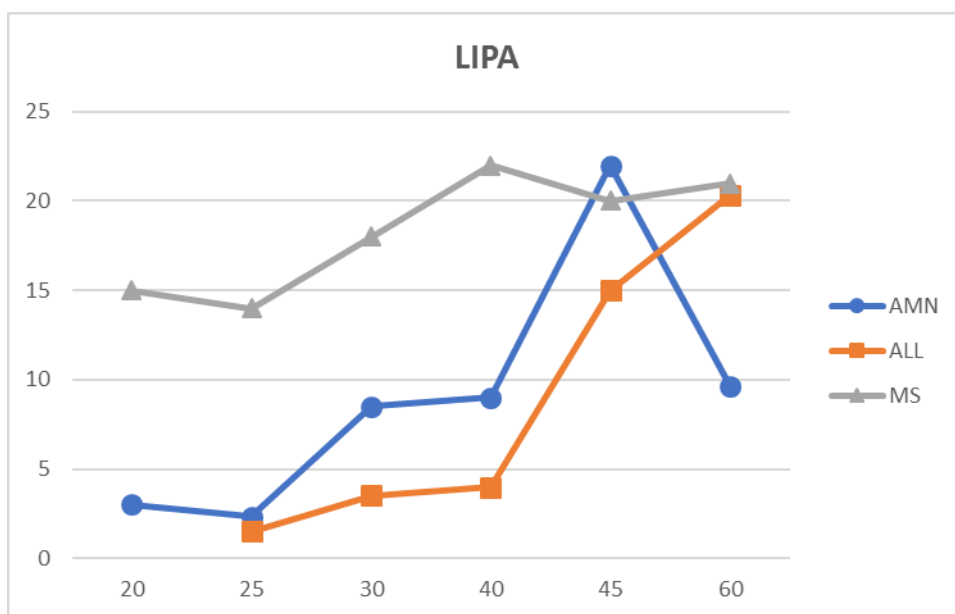
(Università di Parma, Dipartimento di Scienze Medico Veterinarie, Clinica Ostetrica, Prof. E. Bigliardi)

Enzimi pancreatici:

le LIPA (lipasi) mostrano un forte incremento sia nel liquido amniotico che allantoideo durante lo sviluppo della gravidanza.

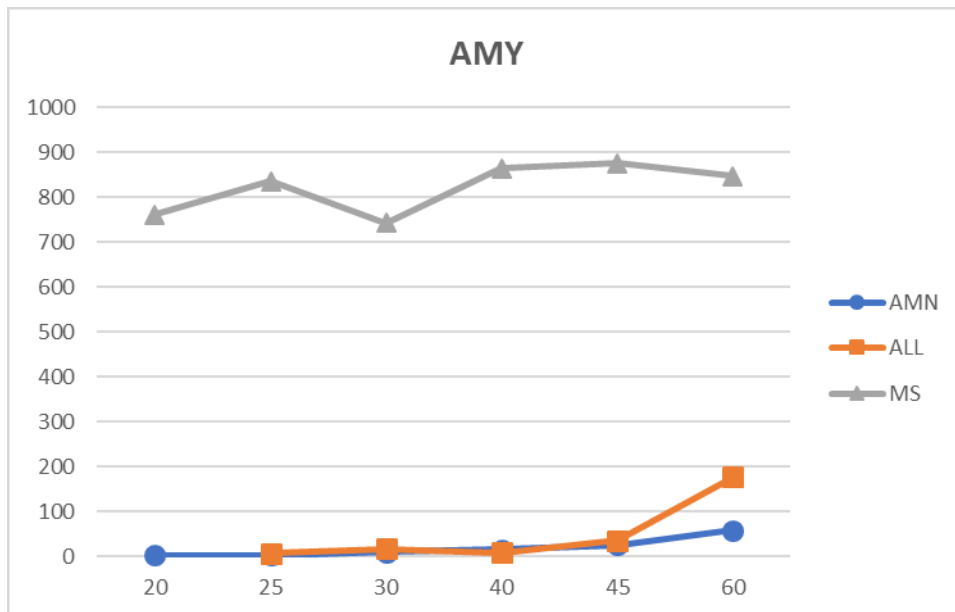
In entrambi i fluidi, la crescita ha inizio al 25°giorno, per poi raggiungere il picco nel liquido amiotico a 45 giorni e nel liquido allantoideo a 60 giorni.

Al 45°giorno, successivamente al picco si assiste ad un decremento dei livelli di LIPA nel liquido amniotico fino al termine della gravidanza, che si porta a livelli inferiori a quelli contenuti nel siero materno, mentre al 60° giorno, la concentrazione nel liquido allantoideo eguaglia quella del siero materno.



(Università di Parma, Dipartimento di Scienze Medico Veterinarie, Clinica Ostetrica, Prof. E. Bigliardi)

Le AMY (amilasi), mantengono livelli significativamente più bassi nei liquidi fetali rispetto al siero materno e subiscono variazioni solo al 45° giorno, in cui si assiste ad una crescita dei valori che perdura fino al termine della gravidanza, più accentuata nel liquido allantoideo che in quello amniotico.

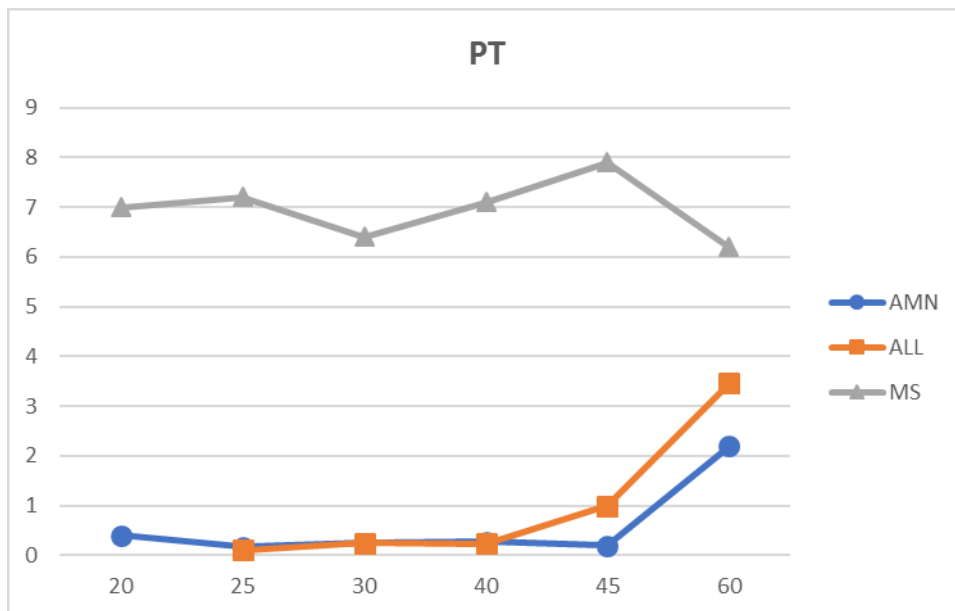


(Università di Parma, Dipartimento di Scienze Medico Veterinarie, Clinica Ostetrica, Prof. E. Bigliardi)

Proteine totali, glucosio e globuline:

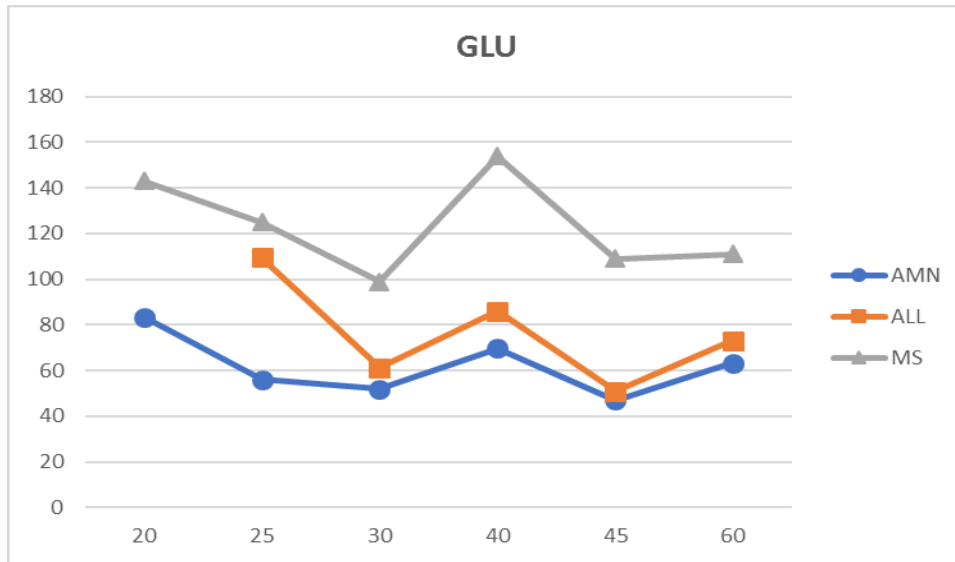
le PT (proteine totali), mostrano livelli stabilmente inferiori a quelli del siero materno, senza importanti variazioni fino al 40°giorno, in cui si assiste ad un aumento dei livelli nel liquido allantoideo e al 45° nel liquido amniotico.

La crescita continua fino al 60°giorno, in cui raggiunge il picco.



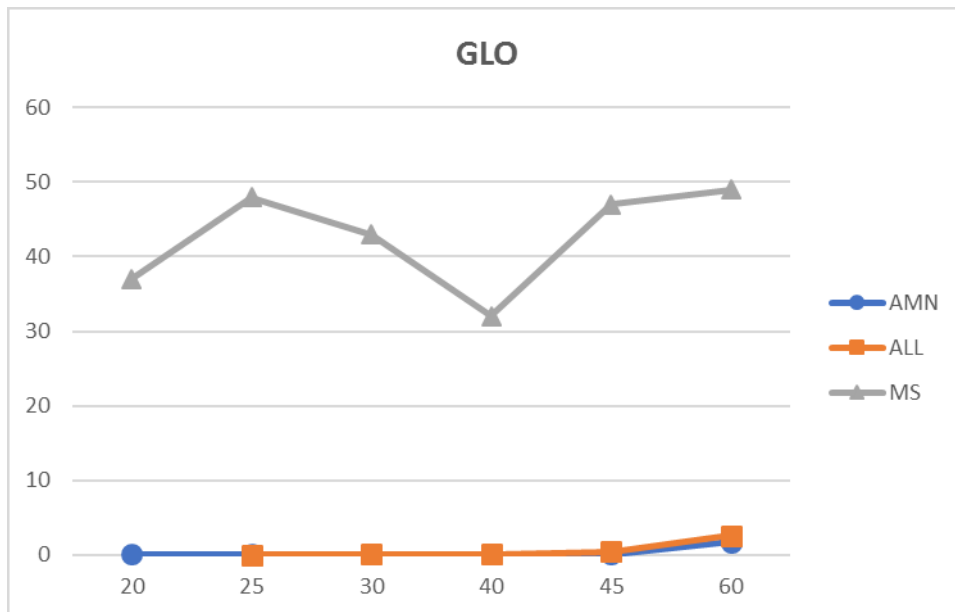
(Università di Parma, Dipartimento di Scienze Medico Veterinarie, Clinica Ostetrica, Prof. E. Bigliardi)

Il GLU (glucosio) nei fluidi fetali segue l'andamento e le variazioni del siero materno, diminuendo gradualmente fino al 30°giorno, aumenta fino al 40° per poi decrescere fino al 45° e infine si incrementa fino al 60°giorno.



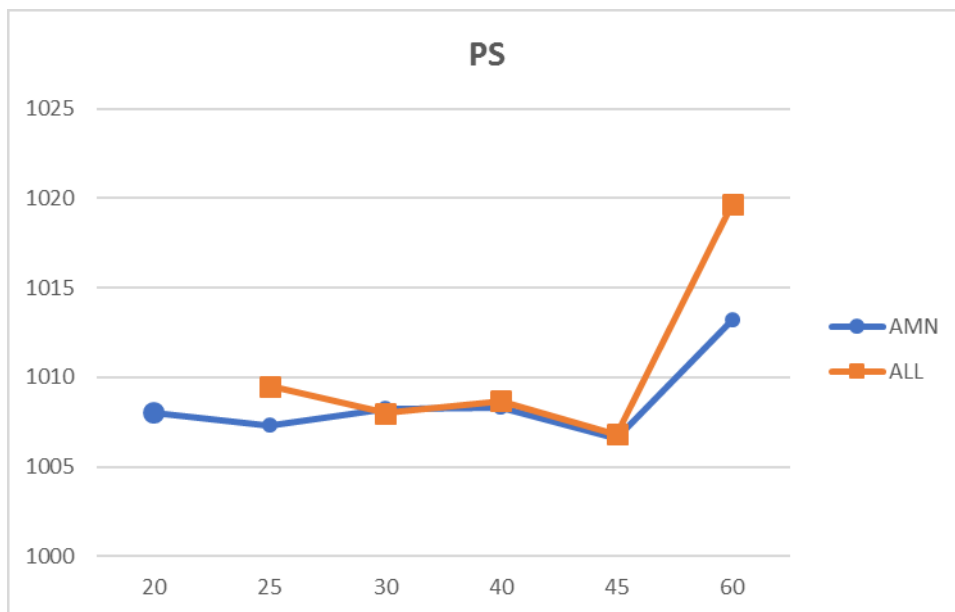
(Università di Parma, Dipartimento di Scienze Medico Veterinarie, Clinica Ostetrica, Prof. E. Bigliardi)

Le GLO (globuline), si mantengono pressochè costanti e a livelli molto inferiori a quelli del siero materno nei liquidi fetali, per tutta la durata della gravidanza, con un leggero rialzo dal 45° fino al 60°giorno.



(Università di Parma, Dipartimento di Scienze Medico Veterinarie, Clinica Ostetrica, Prof. E. Bigliardi)

Infine il PS (peso specifico), inizialmente mostra valori con differenze significative tra liquido amniotico e allantoideo (valori maggiori), per poi seguire un andamento pressochè costante fino al 45°giorno, momento in cui inizia la fase di crescita che si protrarrà fino al termine della gravidanza.

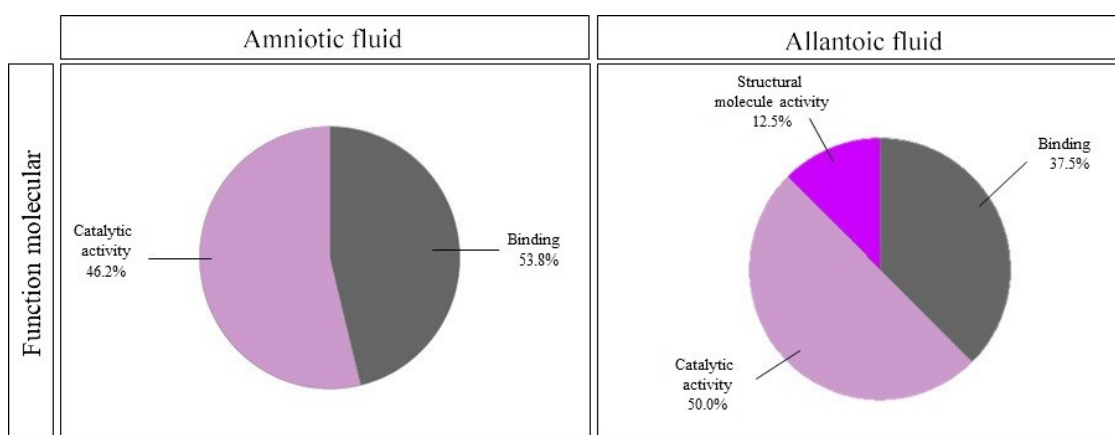


(Università di Parma, Dipartimento di Scienze Medico Veterinarie, Clinica Ostetrica, Prof. E. Bigliardi)

Specie bovina

L'analisi proteomica dei liquidi amniotico ed allantoideo nella bufala (G. Ferreira, V. M. Codognoto et al, 2019), ha mostrato come questi contengano macromolecole, in particolare proteine, che possono suggerire una gravidanza normale o compromessa, inoltre permettono di effettuare la stadiazione e la diagnosi precoce di gravidanza, utilizzo che potrebbe trovare riscontro anche nella specie felina, tuttavia ad oggi occorrono ulteriori studi in merito.

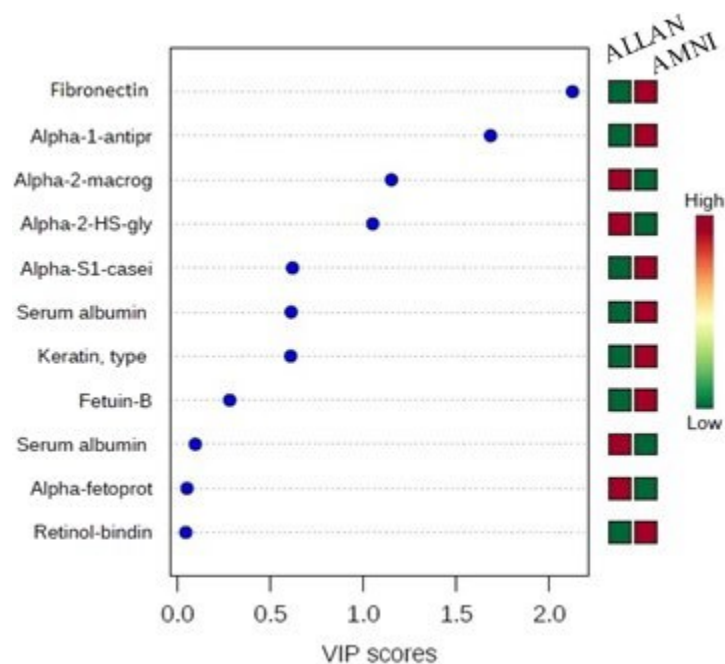
Mentre nella specie felina, le proteine rilevate hanno principalmente funzione metabolica e di trasporto, la funzione principale delle proteine rilevate nei fluidi fetali nella bufala, in questa analisi è risultato essere di adesione e di attività catalitica, come mostrato nel grafico seguente, con una piccola percentuale di proteine a funzione strutturale, esclusivamente a livello del liquido allantoideo.



(G. Ferreira T.B., V.M. Codognoto, et al, 2019)

Nel primo, secondo e terzo trimestre di gravidanza, 50 tipologie di proteine sono state riscontrate nel liquido amniotico, e 21 nel liquido allantoideo, numero molto maggiore di quelle rilevate quindi nella specie felina.

20 di queste mantengono una concentrazione stabile per tutta la durata della gravidanza, mentre 4 presentano importanti variazioni ed hanno un significato clinico rilevante.



(G. Ferreira T.B., V.M. Codognoto, et al, 2019)

Come mostrato dal grafico, tra le proteine rilevate, le 4 che presentano un VIP scores (variable importance projection) maggiore e che sono quindi identificate come rilevanti, sono:

1. Fibronectina (FINC)

Glicoproteina adesiva, presente in plasma e siero e sintetizzata da fibroblasti e mioblasti nel liquido amniotico e dalle cellule dell'epitelio intestinale, non rilevata nella specie felina.

È presente in concentrazione maggiore nel liquido allantoideo nel primo trimestre di gravidanza, per poi aumentare negli stadi successivi nel liquido amniotico.

La proteina ha funzione di aggregazione e adesione cellulare e sembra quindi avere un ruolo nel processo di accrescimento fetale e riparazione tissutale.

2. Alpha-1 antiproteinasi (serpina)

La serpina è una glicoproteina facente parte della famiglia delle inibitrici della serin-proteasi, presente a livello plasmatico.

È una proteina di fase acuta, la cui funzione è di inibire l'elastasi neutrofilica, favorendo la chemiotassi di questi ultimi verso il luogo dell'infezione, inoltre, in corso di risposta infiammatoria, la serpina protegge l'organismo dall'azione dell'elastasi che potrebbe danneggiare la matrice extracellulare e le proteine.

La sua espressione è maggiore nel liquido amniotico piuttosto che nel liquido allantoideo, e la sua funzione è l'inibizione della proliferazione di cellule immunitarie, per garantire la protezione del feto.

È presente anche nei liquidi fetali della specie equina e con eguale funzione, mentre nella specie felina gli studi attualmente disponibili non hanno dato prova della presenza di quest'ultima.

3.Alpha-2 macroglobulina (AMBP)

Proteina facente parte della famiglia delle proteasi-inibitrici, che ha la funzione di proteggere il feto dalla risposta immunitaria e dalle proteasi materne, date dall'individuazione del feto come corpo estraneo.

È presente in maggior concentrazione nel liquido allantoideo e nella donna è coinvolta nella modulazione della risposta immunitaria all'invasione uterina del trofoblasto, mentre non è stata rilevata nei liquidi fetali nella specie felina.

4.Alpha-2-HS-glicoproteina (AHSB)

Conosciuta anche come Fetuina-a, la funzione di questa glicoproteina è la regolazione del metabolismo del calcio, ed è coinvolta quindi nel processo di osteogenesi fetale e trasporto placentare, il cui indicatore nella specie felina è invece rappresentato principalmente dalla concentrazione di ALP (enzimi muscolari).

Essendo quindi un indicatore dello sviluppo fetale, può essere utilizzata come strumento per la diagnosi precoce di gravidanza nella bufala.

(G. Ferreira T.B., V.M. Codognoto, et al, 2019)

L'analisi proteomica dei liquidi fetali nella specie bovina mostra quindi come proteine diverse svolgano ruoli simili nello sviluppo del feto a confronto con la specie felina.

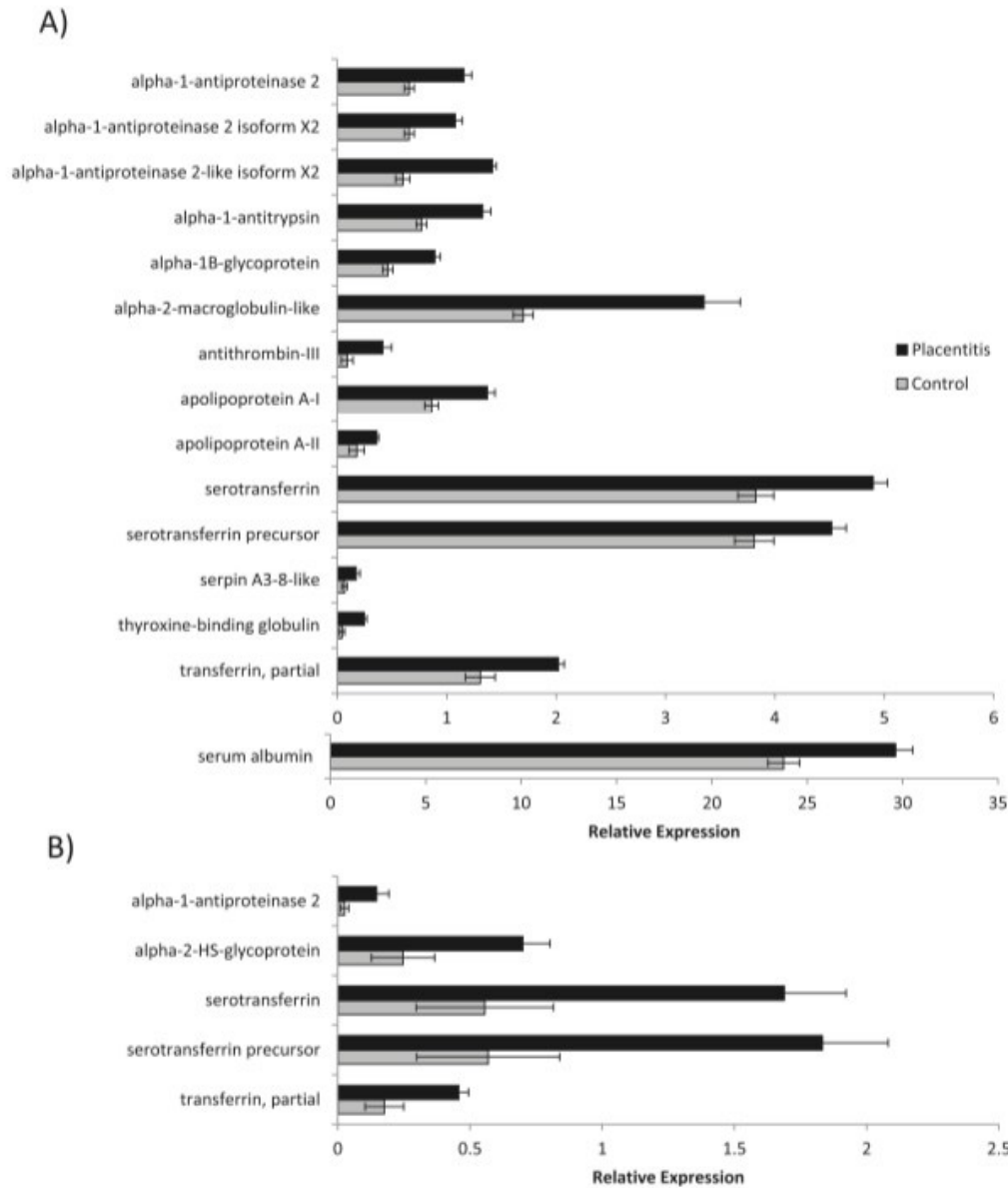
Specie equina

Nella cavalla, lo studio della composizione dei fluidi fetali, in particolare l'analisi proteomica, permette la diagnosi precoce di placentite in base all'up regulation o down regulation di alcune proteine nelle diverse fasi della gravidanza (S.C. Loux, B.A. Ball, 2018).

Non vi sono invece studi equivalenti nella specie felina che dimostrino la possibilità di ottenere una diagnosi precoce di placentite sulla base della composizione dei liquidi fetali.

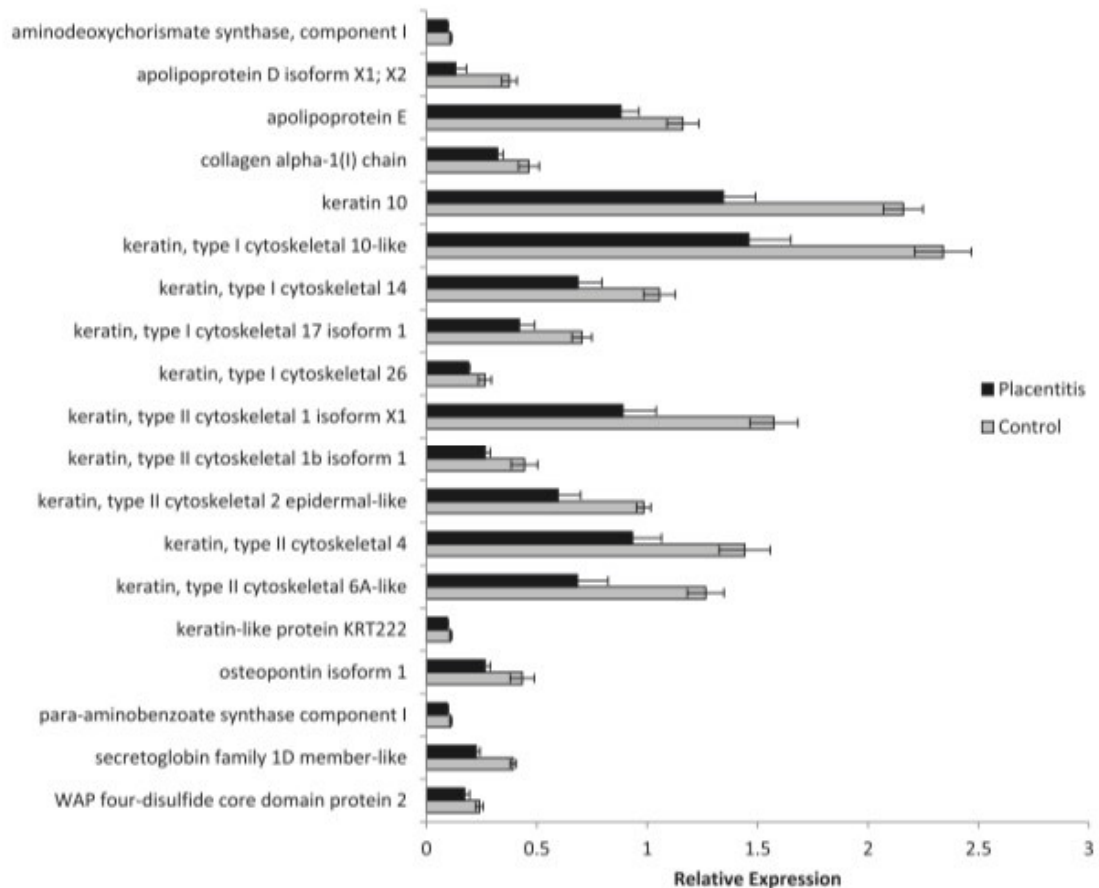
Nello studio della composizione dei fluidi fetali nella specie equina, sono state riscontrate in totale 130 proteine, di cui 3 sono risultate presenti esclusivamente nel liquido amniotico delle cavalle con placentite e non nelle cavalle del gruppo di controllo: aptoglobina, plasminogeno isoform-X2 e plasminogeno-like isoform 1.

In aggiunta a queste 3 proteine, presenti solo in corso di placentite, è stata individuata una up-regulation, ovvero un incremento della concentrazione di alcune proteine normalmente presenti anche nelle cavalle sane, rispettivamente nel liquido amniotico (A) e allantoideo (B), come mostrato nel grafico:



(S.C. Loux, B.A. Ball, 2018)

Al contempo, l'analisi mostra anche una down-regulation, ovvero un decremento nella concentrazione di altre proteine, ma unicamente a carico del liquido amniotico, mentre non vi sono variazioni significative nel liquido allantoideo:



(S.C. Loux, B.A. Ball, 2018)

Le modificazioni sono risultate più significative, sia per il numero di proteine coinvolte, che per l'entità della variazione di concentrazione di queste ultime, nel liquido amniotico piuttosto che in quello allantoideo, vi sono infatti 37 proteine totali che subiscono up o down regulation, a confronto delle 5 proteine che variano all'interno del liquido allantoideo in corso di placentite, questo rende il liquido amniotico uno strumento potenziale nella diagnosi precoce di gravidanze patologiche. Si ipotizza che il risultato possa essere dovuto in parte alla diversa origine dei 2 fluidi, prevalentemente dal tratto urinario per il liquido allantoideo, e da polmoni, epidermide, vasi sanguigni e reni fetali per il liquido amniotico, che

influenzerebbe quindi la maggiore o minore concentrazione delle diverse proteine, sia in cavalle sane, che con placentite, così come si ipotizza possa verificarsi anche nella specie felina, in cui sembra esistere inoltre un meccanismo che consenta in parte il passaggio di sostanze tra il liquido amniotico e allantoideo e l'instaurazione quindi di un'equilibrio nella concentrazione a livello dei due fluidi fetali.

Come per la bufala, anche nella cavalla è presente la Serpina, che sembra avere il medesimo ruolo di indicatore di sviluppo fetale e che subisce modificazioni in corso di gravidanze patologiche, come ad esempio, nella pre-eclampsia.

(S.C. Loux, B.A. Ball, 2018)

Specie umana

Nella donna, tra le 10 e le 20 settimane di gestazione, i fluidi fetali assumono composizione simile al plasma fetale, ciò è dovuto agli scambi bidirezionali che avvengono tra la cute fetale non ancora cheratinizzata, la placenta e il cordone ombelicale.

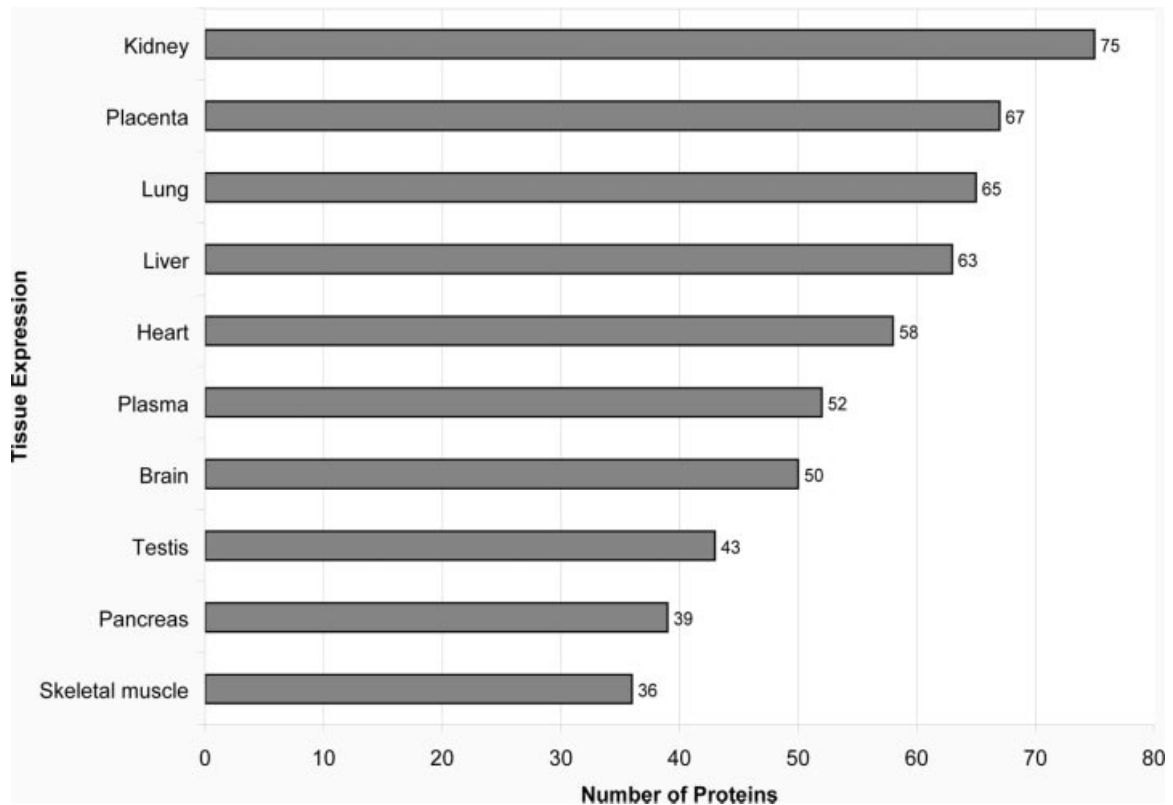
Nella specie felina il confronto tra la concentrazione delle sostanze presenti nel siero fetale e nei liquidi fetali non è stato preso in esame dagli studi attualmente disponibili, mentre sono note le differenze relative alla composizione tra siero materno e fluidi fetali.

Tra le 19 e le 20 settimane di gestazione, a seguito della cheratinizzazione dell'epidermide fetale, le variazioni a carico della composizione dei fluidi possono rivelare informazioni sulla condizione del feto, così come accade anche per la specie felina.

(C.K.J. Cho, S.J. Shan, et al. 2007)

Dall'analisi proteomica sono state individuate 842 proteine, prodotte da 754 differenti geni. Per la maggior parte si tratta di proteine extracellulari (42%) e di membrana (26%) e di queste 842, solo 304 sono state riscontrate anche nel plasma fetale.

Esse hanno espressione prevalentemente in 10 differenti tessuti fetali, in cui esse sono state riscontrate, tra cui reni, placenta, fegato, polmone, cuore, plasma, cervello, testicoli, pancreas e muscolatura scheletrica, in diversa percentuale, come mostrato dalla tabella seguente:



(C.K.J. Cho, S.J. Shan, et al. 2007)

Nella specie umana vi sono informazioni riguardanti la funzione delle proteine individuate, che possono essere racchiuse in macrocategorie, in quanto spesso una singola proteina svolge più funzioni all'interno dell'organismo, tra cui: movimento cellulare, sviluppo e funzionalità tissutale e degli organi, proliferazione e crescita cellulare, segnali cell-to-cell, apoptosi, trasporto di sostanze e nutrienti, metabolismo lipidico, risposta infiammatoria e immune.

Le proteine presenti in maggior concentrazione all'interno dei fluidi fetali nella donna (senza distinzione in questo caso tra liquido amniotico e allantoideo), sono quindi 15:

- Albumine
- Immunoglobuline
- FN1 – fibronectina
- TF – serotransferrina
- C3 complemento
- Serpina 1 – alfa 1 antitripsina
- CP – ceruloplasmina
- AFP – alfa fetoproteina
- GC – vitamina D binding protein
- Periostina
- APO A1 – apolipoproteina A1
- Serpina C1 – antitrombina III
- TGFBI
- AMBP – alfa 1 microglobulina
- Plasminogeno

(C.K.J. Cho, S.J. Shan, et al. 2007)

Delle proteine rilevanti citate, solo le albumine sono state riscontrate anche nei liquidi fetali della specie felina, in cui si mantengono a livelli notevolmente più bassi rispetto al siero materno, e non vanno incontro a significative variazioni durante tutto il corso della gravidanza.

Ovini:

Studi effettuati sulla pecora, mostrano come durante la gravidanza il volume dei liquidi fetali aumenti progressivamente, così come nelle altre specie, in particolare, nelle prime fasi della gravidanza aumenta in primis il volume del liquido amniotico, mentre quello allantoideo rimane minore, situazione che viene poi sovvertita dalla diminuzione del liquido amniotico a discapito invece del liquido allantoideo negli stadi successivi della gravidanza.

Tra le proteine individuate vi sono albumine, gamma-globuline, alfa-globuline e beta-globuline, oltre alla alfa-fetoproteina e IgG.

La concentrazione delle proteine individuate nei fluidi fetali della pecora risulta pressochè costante, con piccole variazioni durante il corso della gravidanza prevalentemente a carico del liquido allantoideo.

Nel liquido amniotico, i livelli di proteine totali individuate risultano minori sia del plasma fetale che del liquido allantoideo, che mostra quindi una concentrazione di proteine molto maggiore, diversamente da ciò che si verifica invece nella specie felina, in cui la composizione di liquido amniotico e allantoideo è simile.

Questa ultima affermazione porta alla conclusione che il liquido allantoideo non derivi dalla semplice filtrazione del plasma fetale e del siero materno, e che il suo contenuto di IgG non possa essere trasmesso al liquido amniotico e quindi raggiungere il feto per l'impermeabilità selettiva dell'amnios.

La composizione del liquido amniotico nella pecora invece è molto simile a quella dell'urina fetale, come varietà e concentrazione di proteine, per questo sembra derivare dalla filtrazione del plasma fetale.

(I.G.Morris, A.Barron, 1979)

Discussione

Gli studi presi in esame mostrano che la composizione dei liquidi fetali non è solo il risultato della semplice filtrazione del siero materno, ma il feto gioca un importante ruolo in essa per tutta la durata della gravidanza.

Per quanto riguarda la specie felina, non emergono differenze significative nella composizione dei liquidi allantoideo e amniotico e ciò è probabilmente dovuto al fatto che nonostante durante tutto il corso della gravidanza, l'amnios rimanga scarsamente vascolarizzato, i suoi vasi decorrono parallelamente alla membrana allantoidea, rendendo così possibile il passaggio di sostanze dai vasi allantoidei alle cellule della membrana amniotica (L.Fresno, J.E. Rodriguez et al, 2012).

Al contrario, studi effettuati nella specie canina mostrano differenze significative tra la composizione dei liquidi allantoideo e amniotico, suggerendo che vi siano fattori diversi che concorrono alla formazione di ciascuno (M.C. Veronesi, B. Bolis et al, 2017), affermazione che può valere anche per la specie felina, in quanto il liquido amniotico sembra originare dall'accumulo di secrezioni provenienti dal tratto respiratorio, apparato gastroenterico, cavità orale e cute del feto prima che il processo di cheratinizzazione sia concluso, mentre il liquido allantoideo proviene dal metanefro, mesonefro e da secrezioni renali nei primi periodi della gravidanza,

mentre negli stadi successivi, l'urina fetale tende ad accumularsi a livello del liquido amniotico a causa dell'occlusione dell'uraco.

Uno studio effettuato sulla pecora mostra ancora che a differenza di quanto accade nella specie felina, le variazioni più significative nella concentrazione dei fluidi durante la gravidanza si verificano a carico del liquido allantoideo, mentre la composizione del liquido amniotico rimane pressochè costante, affermazione valida per le proteine prese in esame ma probabilmente non per tutte le altre componenti non valutate (I.G.Morris, A.Barron et al, 1979).

L'analisi proteomica dei liquidi amniotico ed allantoideo nella bufala (G. Ferreira, V. M. Codognoto et al, 2019), ha mostrato come questi contengano macromolecole, in particolare proteine, che possono suggerire una gravidanza normale o compromessa, inoltre permettono di effettuare la stadiazione e la diagnosi precoce di gravidanza, ciò può valere in parte anche per quanto riguarda la specie felina, infatti la composizione dei fluidi fetali da indicazioni sullo sviluppo del feto nei vari stadi della gravidanza, anche se questo aspetto necessiterebbe di studi più approfonditi per trovare maggiore riscontro.

Nella specie umana, così come nei felini, la concentrazione della gran parte degli elementi contenuti nei fluidi fetali come ad esempio le proteine totali, le albumine, i trigliceridi, glucosio e colesterolo, si mantiene significativamente più bassa rispetto al siero materno, ciò suggerisce una scarsa importanza nella nutrizione fetale, anche se la

composizione dei liquidi fetali nella donna è molto più documentata rispetto alla specie felina.

Le variazioni di concentrazione che si verificano nei liquidi fetali durante la gravidanza, possono essere attribuite al cambiamento dell'attività metabolica e di trasporto, sia dei tessuti fetali che placentari e possono essere quindi valutati come indici di sviluppo fetale e organogenesi, sia nella specie felina che nelle altre specie, compresa quella umana.

Per quanto riguarda i dati raccolti sulla specie felina, le GGT sembrano avere un ruolo importante nel trasporto transmembrana degli aminoacidi e la più elevata concentrazione dell'enzima all'interno dei liquidi fetali rispetto al siero materno è dovuto all'aumentata richiesta di aminoacidi e proteine da parte del feto durante l'accrescimento.

Anche l'enzima AST è coinvolto nella sintesi proteica a livello fetale e nella produzione di ammoniaca. I livelli di questo enzima tuttavia si elevano nei fluidi fetali solo nell'ultimo quarto della gravidanza quando lo sviluppo renale è completo, è quindi plausibile che il suo principale ruolo sia la conversione dell'ammoniaca in urea.

La bilirubina è sintetizzata a livello epatico dal feto già nelle prime fasi della gravidanza anche se non ha ancora un ruolo nel processo digestivo e inizialmente tende ad accumularsi nel liquido amniotico, per poi passare al liquido allantoideo al 40-45° giorno di gravidanza, quando i reni sono completamente formati.

L'urea sembra accumularsi in entrambi i fluidi fetali in modo uniforme per tutta la durata della gravidanza, il che suggerisce la presenza di meccanismi che garantiscano il passaggio di sostanze in modo equilibrato tra il liquido amniotico e quello allantoideo.

In contrasto con quanto appena affermato invece, la CREA tende a localizzarsi nel liquido allantoideo solo nelle ultime fasi della gravidanza, probabilmente perché l'urina fetale si accumula nella cavità corion-allantoidea, e la creatinina non passa facilmente all'interno del circolo sanguigno materno.

Le ALP sono presenti in concentrazione maggiore nel liquido amniotico a partire dal 25° giorno di gravidanza e dal 40° giorno nel liquido allantoideo, periodi in cui nel feto si verifica il processo di osteogenesi. Questo enzima infatti è presente maggiormente negli animali in accrescimento anche dopo la vita fetale.

Le amilasi e le lipasi infine mostrano livelli notevolmente minori a livello dei fluidi fetali rispetto al siero materno, ciò può essere dovuto alla scarsa importanza del pancreas nei processi digestivi durante la vita fetale.

Tendono ad accumularsi maggiormente nel liquido allantoideo nell'ultimo quarto della gravidanza, probabilmente a causa del completamento dello sviluppo renale (Università di Parma, Dipartimento di Scienze Medico Veterinarie, Clinica Ostetrica, Prof. E. Bigliardi).

Conclusioni

La composizione dei liquidi fetali non può essere considerata unicamente come filtrazione delle componenti del sangue materno, ma per la maggior parte come il risultato dell'attività fisiologica e di accrescimento del feto.

Ad oggi ulteriori studi sono necessari per approfondire e chiarire la correlazione tra la composizione biochimica dei fluidi fetali, i cambiamenti a cui essi vanno incontro durante il corso della gravidanza e il ruolo di ciascuna componente nella maturazione e nello sviluppo fetale.

Bibliografia

- Chan-Kyung J. Cho, Shannon J. Shan, Elizabeth J. Winsor, and Eleftherios P. Diamandis, Proteomics Analysis of Human Amniotic Fluid, 2007.
- G. Ferreira Tavares Boy, Viviane Maria Codognoto, Maria Carolina M. Faleiros-Lima, Paulo Henrique Yamada, Felipe Rydygier de Ruediger, Cristiane S. Paranzini, Proteomic analysis of amniotic and allantoic fluid from buffaloes during foetal development, 2019.
- I.G. Morris, Anne A. Barron, The protein composition of sheep fetal fluids, 1979.
- L. Fresno, J.E. Rodriguez-Gil, T. Rigau, J. Pastor, M.M. Rivera del Alamo, Modulation of the biochemical composition of amniotic and allantoic fluids as a control mechanism of feline foetal development, 2012.
- M. Aralla, A. Mobasher, D. Groppetti, F. Cremonesi, S. Arrighi, Expression of aquaporin water channels in canine fetal adnexa in respect to the regulation of amniotic fluid production and absorption, 2012.
- M. Carter, A. C. Enders, C. J. P. Jones, A. Mess, C. Pfarrer, R. Pijnenborg, H. Soma, Comparative placentation and animal models: patterns of trophoblast invasion, 2006.
- M. Mastronardi, P. Minoa, Ostetricia e riproduzione degli animali domestici, 1980.

- M.C. Veronesi, B. Bolis, M. Faustini, A. Rota, A. Mollo, Biochemical composition of fetal fluids in at term, normal developed, healthy, viable dogs and preliminary data from pathologic littermates, 2017.
- Maria Schindler, Sophia Mareike Pendzialek, Katarzyna Grybel, Tom Seeling and Anne Navarrete Santos, Metabolic Profiling in Blastocoel Fluid and Blood Plasma of Diabetic Rabbits, 2020.
- NCG Pieri, AF Souza, JB Casals, KCS Roballo, CE Ambrosio, DS Martins Comparative Development of Embryonic Age by Organogenesis in Domestic Dogs and Cats, 2015.
- Orsolya Balogh, Rupert Bruckmaier, Stefanie Keller Iris, Margaret Reichler, Effect of maternal metabolism on fetal supply: Glucose, non-esterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate concentrations in canine maternal serum and fetal fluids at term pregnancy, 2018.
- Pelagalli, Castaldo, Embriologia, morfogenesi e anomalie dello sviluppo, 2009.
- R. Barone, Anatomia comparata dei mammiferi domestici, 2009.
- R. De Caro, S. Galli, Langman's medical embryology, 2010.
- S.C. Loux, B.A. Ball, The proteome of fetal fluids in mares with experimentally-induced placentitis, 2018.

- Università di Parma, Dipartimento di Scienze Medico Veterinarie, Clinica Ostetrica, Prof. E. Bigliardi, Evaluation of biochemical composition of amniotic and allantoic fluids at different stages of pregnancy in cats, in fase di pubblicazione.
- Xing-Long Tong, Ling Wang, Tan-Bing Gao, Yu-Guo Qin, Yu-Qiao Qi, Yan-Ping Xu, Potential function of amniotic fluid in fetal development, novel insights by comparing the composition of human amniotic fluid with umbilical cord and maternal serum at mid and late gestation, 2009.
- Zambelli, F. Prati, Ultrasonography for pregnancy diagnosis and evaluation in queens, 2006.

