



Select Breeders Services Italia S.r.l.
V. Argine 39
26046 S. Daniele Po, Cremona, Italy
Tel. 0372/65101 Fax 0372/654042
info@sbsitaliasrl.com
www.selectbreeders.com

Dr. Sandro Barbacini
Dr. Vittorio Marchi
Dr. Denis Necchi
Dr. Gianmaria Postinger

EMBRYO TRANSFER

Denis Necchi, Med. Vet.

Il trapianto embrionale, embryo transfer per gli anglofoni, è una tecnica di riproduzione assistita che riscuote un grande interesse sia nell'ambito scientifico che allevatorio. I progressi legati alla gestione delle cavalle prima, durante e dopo il trapianto embrionale hanno consentito nel tempo un affinamento della tecnica, tale da consentirle di avere un importante valore aggiunto commerciale. Dal punto di vista tecnico l'esecuzione del trapianto embrionale prevede sostanzialmente l'utilizzo di una cavalla "donatrice" dalla quale verranno prelevati uno o più embrioni e di una o più cavalle "riceventi" nella quale gli embrioni verranno trapiantati. In pratica è possibile inseminare una fattrice ed ottenere un puledro utilizzando come "incubatore" l'utero della cavalla ricevente che porterà a termine la gravidanza.

La neo-gestante a questo punto partorerà un puledro con un patrimonio genetico totalmente differente dal suo. È bene specificare che si lavora con embrioni e cioè con gameti ottenuti dalla fecondazione della cellula uovo da parte dello spermatozoo, non con oociti come alcuni erroneamente pensano. Le tecniche che prevedono la manipolazione di cellule uovo sono infatti ben distinguibili dall'embryo transfer sia per come sono definiti che per le tecniche di attuazione impiegate.

QUALI SONO I VANTAGGI DI QUESTA TECNICA RIPRODUTTIVA?

Visto che l'embrione viene prelevato dalla madre vera (genetica) 7-8 gg dopo l'ovulazione, per poi essere trapiantato in una ricevente, la fattrice dalla quale l'allevatore desidera ottenere un prodotto viene praticamente alleviata del peso della gravidanza.

Viene da pensare in primo luogo alle cavalle da show che, se gravide, non potrebbero gareggiare per buona parte della gestazione e per tutto il periodo dell'allattamento fino allo svezzamento del puledro.

Recenti studi hanno dimostrato inoltre la possibilità di ottenere con l'E.T. (embryo transfer) puledri anche da cavalle giovani di due anni, addirittura prima che entrino a far parte del circuito competitivo.

Candidate ottimali per l'embryo transfer sono anche le fattrici con scarsa fertilità come quelle anziane o quelle che hanno sofferto di gravi traumi al parto o che abbiamo avuto più di una interruzione della gravidanza. In generale comunque, possono rientrare in un programma di trasferimento embrionale tutte le fattrici che per motivi o di natura agonistica o di natura fisiologica e anatomica, non possono o non riescono a mantenere o portare a termine una gravidanza.

Altro vantaggio, ma di natura commerciale, è quello che con i primi puledri nati da E.T. nel 2003 si è aperta l'era dei "multiple embryos". Ciò perché l'American Quarter Horse Association permette dal 2002 di registrare anche più di un puledro nato dalla stessa madre durante lo stesso anno. Per ottenere questo risultato si devono solitamente recuperare dalla

donatrice più embrioni in cicli successivi e trapiantarli in diverse riceventi, oppure trapiantarne uno e successivamente inseminare la donatrice e lasciare che questa porti a termine la gravidanza.

COME VIENE ESEGUITO TECNICAMENTE UN EMBRYO TRANSFER?

Dopo un attento monitoraggio del calore della donatrice e della ricevente, la prima viene “coperta” naturalmente od inseminata artificialmente; visto però che il risultato di questa tecnica dipende dal reperimento dell’embrione, l’utilizzo di seme fresco o refrigerato aumenta le probabilità che la fecondazione avvenga e che si formi un embrione. Per ottenere una gravidanza da E.T. e’ comunque possibile utilizzare anche materiale seminale congelato, sempre che questo possieda una buona fertilità.

Per sperare di ottenere buoni risultati e’ essenziale che embrione e ricevente siano sincronizzati ed infatti la cavalla ricevente deve ovulare in un periodo compreso fra un giorno prima e tre giorni dopo l’ovulazione della donatrice. Nonostante esista la possibilità di sincronizzare od indurre farmacologicamente le ovulazioni, e’ abbastanza frequente trovarsi di fronte a cavalle che ovulano in tempi inappropriati. Per questo motivo e’ necessario avere a disposizione almeno due o tre riceventi per donatrice. La possibilità di avere piu’ riceventi a disposizione semplifica il lavoro veterinario, permette al proprietario della donatrice di evitare perdite economiche dovute alla perdita di cicli per mancata sincronizzazione e produce risultati superiori.

Torniamo ora all’esecuzione tecnica dell’embryo transfer. Il recupero dell’embrione si effettua 7-8 giorni dopo l’ovulazione, eseguendo ripetuti lavaggi dell’utero (solitamente 3 o 4) con soluzioni appositamente preparate. Il lavaggio uterino viene effettuato introducendo all’interno dell’utero un catetere la cui estremità termina con un palloncino che viene insufflato con circa 80 ml di aria per chiudere l’apertura cervicale ed impedire l’eventuale reflusso di liquido in vagina. Il liquido viene introdotto nell’utero attraverso il catetere fino ad ottenere una discreta distensione dell’utero e viene poi recuperato utilizzando la stessa sonda. Il liquido di lavaggio viene a questo punto fatto passare in un filtro che trattiene una minima parte di liquido e tutte le particelle con dimensioni simili ad un embrione.

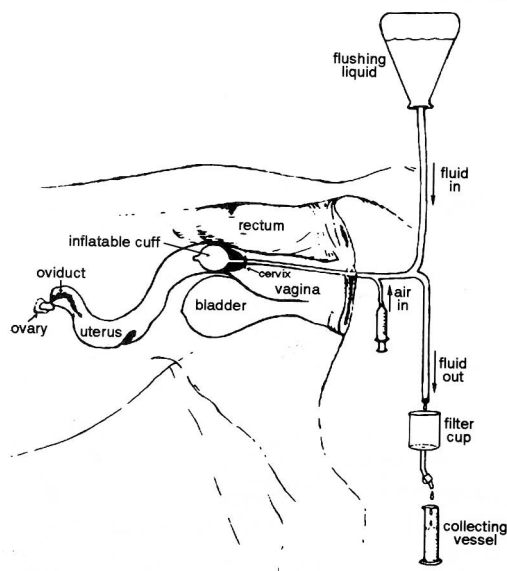


FIG. 1: rappresentazione schematica di un lavaggio uterino per E.T.

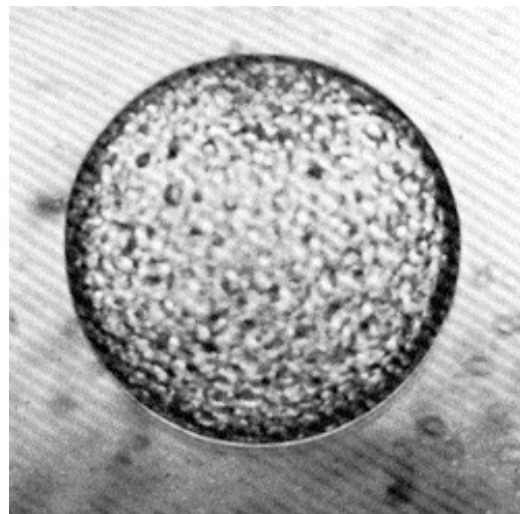


FIG. 2: ingrandimento di embrione di circa 7 giorni.

Una volta terminati i lavaggi, il liquido contenuto nel filtro viene trasferito in una piastra da laboratorio, la piastra viene quindi posta sotto al microscopio ed ha inizio la ricerca vera e propria dell’embrione che e’ visualizzabile come una sfera dal diametro di circa 1/2

millimetro. A questo punto se la ricerca ha dato gli esiti sperati si prospettano due opzioni: la prima consiste nel trasferire non-chirurgicamente l'embrione nell'utero della ricevente utilizzando uno strumento molto simile a quello usata per l'inseminazione dei bovini, mentre la seconda è quella di spedire ad un centro che abbia più riceventi l'embrione opportunamente confezionato in un contenitore abitualmente utilizzato per il seme refrigerato. I progressi fatti dalla ricerca dimostrano che attualmente l'embrione può essere refrigerato e spedito nello stesso modo del seme. La necessità di spedire l'embrione deriva dal fatto che la cavalla donatrice e la cavalla ricevente devono avere, come detto in precedenza, le ovulazioni sincronizzate e più i giorni di asincronia aumentano minori saranno le percentuali di successo. Inoltre, dato il numero di riceventi necessarie, molti proprietari di donatrici preferiscono affittare la ricevente da centri specializzati che solitamente ne detengono una mandria. Infine, una volta che l'embrione è giunto a destinazione si procede al trapianto con la stessa modalità descritta prima.

COSA SUCCEDER UNA VOLTA CHE L'EMBRIONE È STATO TRAPIANTATO?

Innanzitutto bisogna anche considerare la qualità dell'embrione trapiantato visto che purtroppo non tutti gli embrioni sono perfetti. Cavalle anziane o con problemi di fertilità possono infatti produrre embrioni di talmente scarsa qualità da essere al limite della trapiantabilità.

Comunque sia, una volta che l'embrione è stato trapiantato nella cavalla ricevente bisogna attendere 5-7 giorni per verificare se l'embrione ha attecchito dando origine alla gravidanza: il trasferimento è stato infatti eseguito trapiantando un embrione di circa 7-8 giorni. È perciò possibile sapere se l'esito del trapianto è stato positivo 13 -15 giorni dopo l'ovulazione della donatrice.

CI SONO ANCHE DEGLI SVANTAGGI?

Più che di svantaggi dovremmo parlare di limitazioni. La prima potrebbe essere sicuramente la mancata possibilità di avere in Europa farmaci che possano far superovulare le cavalle in modo da poter ottenere più embrioni per ciclo, pratica questa che è invece comune per le bovine. In natura invece le cavalle ovulano solitamente uno, due o in casi eccezionali tre follicoli per calore.

Di conseguenza anche la percentuale di embrioni reperiti per ciclo è inferiore a quella che si osserva nei bovini dove con la superovulazione si arrivano a produrre anche 10-15 embrioni per ciclo.

Altro fattore limitante è la necessità di sincronizzare almeno due o tre riceventi per donatrice. Questo significa che se un proprietario di due cavalle decide di fare degli E.T. dovrà disporre di almeno 4 cavalle riceventi.

Infine, nel caso in cui si lavori su donatrici anziane o con stalloni disponibili solo in seme congelato le percentuali di successo possono risultare molto basse.

QUALI SONO I RISULTATI CHE SI POSSONO OTTENERE?

I risultati ottenibili con questa tecnica riproduttiva dipendono

Ovviamente da molti fattori quali ad esempio l'età della donatrice, la sua fertilità, la qualità del materiale seminale e quella della ricevente come pure l'esperienza dell'operatore che esegue questa tecnica. Se tutte queste variabili sono ottimali è molto realistico aspettarsi di ottenere una gravidanza da trapianto embrionale ogni due tentativi effettuati. Se invece il seme utilizzato è di qualità scadente, la donatrice è anziana oppure le riceventi non sono adeguatamente selezionate è ovvio che i risultati possono essere drammaticamente bassi.

Molto incoraggiante e' comunque osservare l'incremento del numero di trapianti effettuati su Quarter Horses da quando l'AQHA ha permesso di registrare più embrioni. Si e' infatti passati da 875 puledri nati da E.T. nel 2002 a 1530 registrati nel 2003, e le proiezioni per il 2004 danno il valore in ulteriore crescita.

Anche in Italia si e' osservato un deciso incremento dell'impiego di questa tecnica ed infatti negli ultimi quattro anni si e' passati da 67 a 115 donatrici, la maggior parte delle quali di cavalle da salto e Quarter Horses.

Numeri:

	Donatrici	Cicli	Embrioni	DGr 14	Gr Ottobre
2001	67	162	75	39	33
2002	73	161	86	56	46
2003	103	208	116	71	60
2004	115	312	153	111	100

Recupero embrioni, gravidanze 14 gg e ottobre (%):

	Embrioni	Gr. 14gg	Gr. Ottobre
2001	46%	52%	85%
2002	53%	65%	82%
2003	54%	64%	85%
2004	49%	73%	90%

Per i dati contenuti nelle tabelle si ringrazia il prof. Francesco Camillo dell'Università di Pisa.