Biblioteca Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche
Webzine Sanità Pubblica Veterinaria: Numero 72, Giugno 2012 [http://spvet.it/] ISSN 1592-1581

Effetti dello stato fisiologico e di una dieta ricca di acidi grassi polinsaturi (PUFA) sulle funzioni immunitarie degli ovini - Effects of the physiological state and a rich in polyunsaturated fatty acids (PUFA) diet on the immune system of sheep

Moscati L., Pela M., Cagiola M., Antolini A., Acuti G.,Trabalza Mariucci M.

Abstract. Several investigations have studied the influence of polyunsaturated fatty acids on the immune function of ruminants but many contradictory observations have been reported in this field. The aim of this study was to evaluate the influence of an extruded linseed dietary supplementation on the immune response and oxidative stress in the transition dairy ewe. The experiment was performed using 58 Sarda pluriparous ewes, 42 pregnant (T) and 16 non-pregnant and non-lactating (NP). Both groups were fed an isoenergetic and isonitrogenous diet from 60 d before to 15 d after lambing of the T ewes. Within each physiological state, one sub-group received a commercial pelleted concentrate (CTR) and the other an extruded linseed-enriched (10 g/100 g) concentrate (EL). Blood samples were collected from all animals at -28, -21, -14, -7, +3 and +15 days to parturition, based on expected date of lambing of the T ewes, to evaluate the innate immunity, the acquired immunity and the oxidative stress. The dietary supplementation with extruded linseed did not markedly influence the innate immunity response of the animals. The antibody production against Salmonella enterica subsp. enterica serovar Abortusovis was shown to be increased by the linseed-enriched diet in the T ewes (2.37 vs. 2.19 log10 for the T and the NP ewes, respectively). As for the cell-mediated immunity, no differences between dietary treatments were observed. The extruded linseed-enriched diet was able to induce a transitory overproduction of oxidants in the NP ewes, whereas no effects were observed in the T ewes. In conclusion, under the adopted experimental conditions, the use of extruded linseed in the diet did not greatly affect the oxidative state and the immune response of the transition ewe

Riassunto. Diverse ricerche hanno studiato l'influenza di acidi grassi polinsaturi sulla funzione immunitaria dei ruminanti ma spesso si è giunti a risultati contradditori. Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare l'influenza di una integrazione con lino estruso sulla risposta immunitaria e lo stress ossidativo nella pecora sia gravide che non gravide. L'esperimento è stato eseguito utilizzando 58 pecore di razza Sarda pluripare, 42 gravide (T) e 16 non-gravide ma in allattamento (NP). Entrambi i gruppi sono stati alimentati con una dieta isoenergetiche e isoproteica da 60 a 15 prima giorni dopo il parto delle pecore T. All'interno di ogni stato fisiologico, un sotto-gruppo ha ricevuto un concentrato commerciale pellettato (CTR) e l'altro un estruso di lino arricchito concentrato (EL). I campioni di sangue sono stati raccolti da tutti gli animali a -28, -21, -14 giorni, -7, +3 e +15 al parto, in base alla data prevista del parto delle pecore T, per valutare l'immunità innata , l'immunità acquisita e lo stress ossidativo. I risultati ottenuti indicano che la supplementazione dietetica con semi di lino estruso non influenzerebbe in modo significativo la risposta dell'immunità innata degli animali. La produzione di anticorpi contro la Salmonella enterica subsp. enterica sierotipo Abortusovis ha dimostrato di essere aumentata dalla dieta arricchita di semi di lino nelle pecore T (2,37 vs 2,19 log10 per la T e le pecore NP, rispettivamente). Per quanto riguarda l'immunità cellulo-mediata, nessuna differenza tra i trattamenti dietetici è stata osservata

Introduzione

Introduzione Gli effetti derivanti dall'utilizzazione di lino (Linum usitatissimum L.) nell'alimentazione degli animali da reddito sono stati oggetto di numerose sperimentazioni, pervenute talvolta a risultati discordanti. Alcuni autori hanno valutato il suo impiego nella dieta di ovini in gestazione o in lattazione senza riuscirne a spiegare la modalità di azione; altri hanno avuto risposte molto positive nel bovino nei riguardi delle funzioni immunitarie. Questa sperimentazione ha avuto come obiettivo la valutazione dell'effetto degli acidi grassi polinsaturi nei riguardi dell'immunità aspecifica, della risposta anticorpale nei riguardi di Salmonella abortus ovis e nei confronti dei linfociti e delle sotto-popolazioni linfocitarie CD4+ e CD8+.

Materiali e metodi

Per la prova sono state impiegate 58 pecore di razza sarda suddivise in 2 gruppi omogenei (controllo, CTR e trattato, LIN). In ogni gruppo erano presenti pecore al periparto nonché pecore in asciutta non gravide. Tutti gli animali sono stati alimentati con fieno di II taglio di erba medica; il gruppo LIN riceveva un mangime, isoenergetico ed isoproteico a quello del gruppo CTR ma contenente semi integrali di lino estruso quale fonte di acidi grassi omega-3.

Sono state eseguite le seguenti prove di immunità aspecifica: titolazione del lisozima sierico, determinazione della battericidia sierica, titolazione semiquantitativa del complemento sierico dello stato ossidativo (metaboliti reattivi all'ossigeno, ROM's e potere antiossidante del siero, PAO). Per queste determinazioni sono stati effettuati dei prelievi ematici dalla vena giugulare tramite provetta priva di anticoagulante 7, 14 e 21 giorni prima del parto, 3 e 14 giorni dopo il parto; è stato effettuato un ulteriore prelievo ematico 90 giorni dopo il parto (follow up).

Tutte le pecore sono state vaccinate trentacinque giorni prima del parto per Salmonella abortus ovis con un vaccino spento stabulogeno (fornito dall'Istituto Zooprofilattico dell'Umbria e delle Marche, Perugia); il richiamo è stato effettuato dopo 14 giorni. Il titolo anticorpale è stato valutato 28, 21, 14 e 7 giorni prima del parto mediante siero agglutinazione lenta.

Per la determinazione dei linfociti totali e delle sottopopolazioni linfocitarie CD4+ e CD8+ (in % e come grado di attivazione), è stato effettuato un prelievo venoso per via giugulare tramite provetta eparinizzata al tempo zero (60 giorni prima del parto) nonché per ulteriori 3 prelievi (a 21 e 14 giorni dal parto e nel pre-parto). È stato effettuato un ulteriore prelievo 90 giorni dopo il parto. Le popolazioni linfocitarie sono state ottenute mediante centrifugazione dei campioni di sangue eparinizzato con gradiente Ficoll-Hystopaque 1077 (Sigma Aldrich). I dati sono stati analizzati mediante procedura GLM del software SAS (2001) utilizzando un modello per misurazioni ripetute.

Risultati e considerazioni

I parametri di immunità naturale umorale non mostrano particolari differenze (Tabella 1) dovute al tipo di dieta. Nel caso del complemento libero è stata evidenziata un'interazione significativa (P=0.005) tra dieta e tempo di prelievo. Si può notare anche una tendenza alla diminuzione del PAO e un parallelo aumento dei ROM's nei giorni immediatamente successivi al parto (Tabella 2).

Tabella 1: andamento di alcuni parametri relativi all'immunità aspecifica in dipendenza dal tempo (giorni rispetto al parto) e dalla dieta (medie stimate±ES)

Esami	Gruppi	Giorni pre parto			Giorni post parto			ES
		-21	-14	-7	+3	+14	+90	
Batt	LIN	90.34	58.76	59.02	82.57	78.51	75.52	6.37
	CTR	94.65	64.71	62.25	83.62	79.61	94.03	6.37
Liso	LIN	0.52	2.69	2.13	1.91	1.40	1.45	0.13
	CTR	0.43	2.29	1.78	1.55	1.41	1.47	0.13
Comp	LIN	42.90A	48.23AB	53.20AB	61.97B	41.07A	42.77A	2.72
	CTR	39.96A	43.43AB	48.29AB	53.01AB	52.92AB	39.69A	2.72

Tabella 2: andamento di alcuni parametri relativi allo stress ossidativo in dipendenza dal tempo (giorni rispetto al parto) e dalla dieta (medie stimate± ES)								
Esami	**Gruppi**	**Giorni pre parto**			**Giorni post parto**			**ES**
		-21	-14	-7	+3	+14	+90	
ROM's	LIN	3.97	4.78	4.80	5.37	3.63	3.19	0.12
	CTR	3.84	4.40	4.59	4.82	3.77	3.07	0.12
PAO	LIN	255.12	251.02	223.00	158.69	244.99	242.96	6.16
	CTR	241.40	240.15	219.59	154.85	241.96	251.14	6.16

Per quanto riguarda l'andamento del titolo anticorpale nei confronti della vaccinazione con Salmonella abortus ovis (Grafico 1) si può notare, come atteso, una diminuzione nel tempo della concentrazione di anticorpi nel siero in entrambi i gruppi.

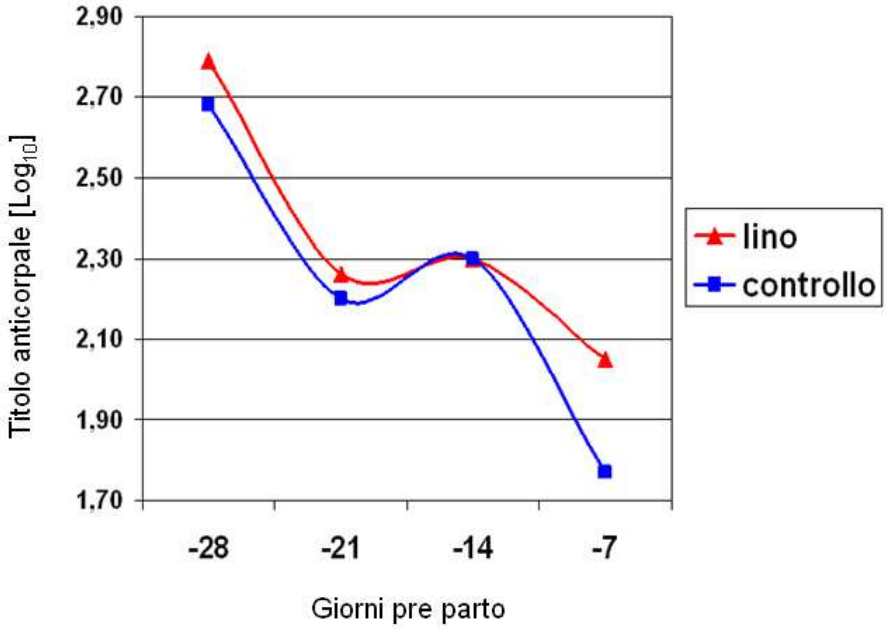

Grafico 1 Andamento del titolo anticorpale (log10) nei confronti di Salmonella abortus ovis in dipendenza dal tempo (giorni rispetto al parto) e dalla dieta (medie stimate ± ES).

È però interessante evidenziare che il gruppo trattato con il lino presenta, a 7 giorni dal parto, un titolo anticorpale maggiore del gruppo controllo (P=0.044). I risultati ottenuti allo studio delle cellule mononucleate del sangue periferico, sono stati rappresentati come dot plot (Fig.1).

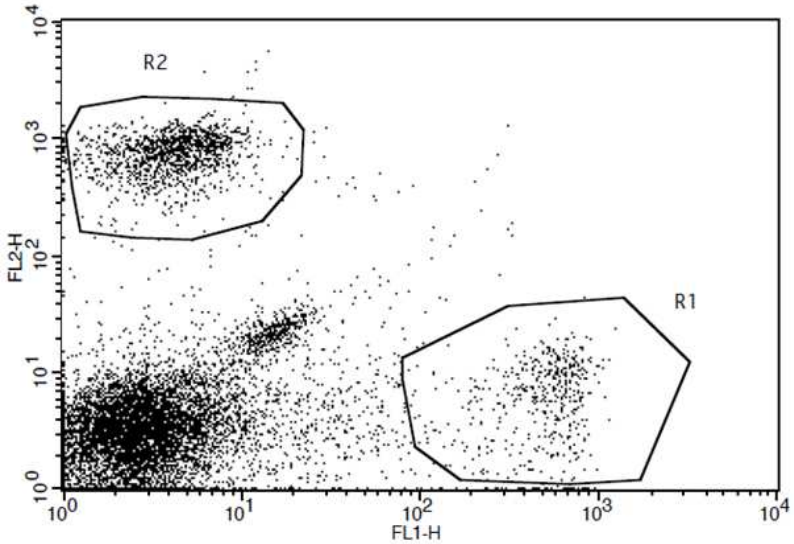

Fig 1: Analisi fenotipica delle sottopopolazioni linfocitarie R2= CD4+ R1= CD8+

Nello specifico nel gate R1 sono state rappresentate le popolazione cellulare CD8(+) mentre nel gate R2 sono state raffigurate le popolazioni cellulari CD4(+). L'analisi fenotipica della popolazione linfocitaria ha evidenziato che la risposta immunitaria cellulare è stata influenzata soltanto dallo stato fisiologico degli animali (aumento del grado di attivazione dei CD8+ a 90 giorni dal parto, P=0.04).

È stato inoltre evidenziato un tendenziale aumento dei linfociti totali e delle sottopopolazioni CD4+ e CD8+ nel corso della prova con un riavvicinamento ai valori basali dopo 90 giorni dal parto.

Analizzando i risultati ottenuti, si può concludere che la dieta non abbia avuto nel complesso una forte influenza sui parametri legati all'immunità naturale, mentre l'effetto positivo nei confronti del titolo anticorpale riscontrato in questa ricerca necessita di ulteriori approfondimenti sperimentali.

Bibliografia

Barta V., Barta O. (1993). In: Barta O., (ed.) Vet. Cl. Imm. Lab., Bar-Lab, Blacksburg, USA.

Dorn W. et al. (1980). Archiv Fur Experimentelle Veterinarmedizin 34, 635-50.

Osserman E.F., Lawlor D.P. (1966). J. Exp. Med. 124, 921-52.

Calder P.C. (2001). Nutr. Res., 21, 309-41.

Caroprese et al. (2006). J. Dairy Sci. 89:562-8.

Caroprese et al. (2009). J. Dairy Sci. 92, 2796-803.

De Pablo M.A., De Cienfuegos A. (2000). Cell Biology, 78, 31-9.

Mele M. et al. (2005). Ital. J. Anim. Sci.; 4, 53-62.

Mughetti L. et al. (2008). Large Animal Review; 14, 209.

SAS Institute Inc. (2001), version 8.2. SAS Institute Inc., Cary, NC.

Zhang R. et al (2006). Small Rumin. Res.; 63, 233-41.

Effetti dello stato fisiologico e di una dieta ricca di acidi grassi polinsaturi (PUFA) sulle funzioni immunitarie degli ovini by Livia Moscati et al. 2012 is licensed under a Creative Commons Attribuzione - Non commerciale 3.0 Italia License. Permissions beyond the scope of this license may be available at http://indice.spvet.it/adv.html.

	Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Via G. Salvemini 1. 06126, Perugia - Italy
Centralino Istituto	Tel. +39 075 3431 - Fax. +39 075 35047
Biblioteca	Tel. / Fax +39 075 343217 e-mail: bie@izsum.it
Rivista SPVet.it ISSN 1592-1581	Tel. +39 075 343207 e-mail: editoria@izsum.it; redazione-spvet@izsum.it http://spvet.it; http://indice.spvet.it
U. R. P.	Tel. +39 075 343223; Fax: +39 075 343289 e-mail: URP@izsum.it