

OSSERVAZIONI SULLE CELLULE SECERNENTI BOMBESINA NEGLI STOMACI DI POLLI DI LINEA LEGGERA E PESANTE *

V. Grieco¹, T. Rampin¹, P. Persico¹, C. Domeneghini²

¹Istituto di Anatomia Patologica Veterinaria e Patologia Aviaria, Università degli Studi, Milano

²Istituto di Anatomia degli Animali Domestici con Istologia ed Embriologia, Università degli Studi, Milano

Parole chiave: pollo, bombesina, proventricolo, ventriglio, immunohistochimica.

Observations on bombesin secreting cells in gizzard and proventriculus of broilers and layer pullets

Key words: chicken, bombesin, proventriculus, gizzard, immunohistochemistry

Summary: Bombesin is an hormone participating in food intake regulation. Immunohistochemistry for proventricular and ventricular bombesin secreting cells was performed in broilers and layer pullets. No difference was observed in morphology and distribution of bombesin cells in the two chicken types examined. However the bombesin cells number was always higher in layer pullets than in broilers. The significance of these results is discussed.

Correspondence: Rampin T. Istituto di Anatomia Patologica Veterinaria e Patologia Aviaria, Facoltà di Medicina Veterinaria – Via Celoria 10 – 20131 Milano.

Introduzione

Nel tratto alimentare vengono rilasciati circa una dozzina di peptidi che hanno effetti diretti sulla funzionalità dell'apparato digerente e/o azione a livello del Sistema Nervoso Centrale, tra cui la bombesina (BBS); questi peptidi sono stati studiati con tecniche di immunohistochimica nei diversi tratti del digerente del pollo (9). La BBS stimola il rilascio di gastrina, agendo anche sulla secrezione pancreatica e la motilità intestinale (5). Inoltre insieme alla colecistochinina la BBS viene considerata come uno dei fattori che regolano a livello centrale il senso di sazietà nei mammiferi (4). Anche negli uccelli entrambi i peptidi causano una soppressione dell'assunzione di alimento, che risulta essere dose dipendente (10).

L'azione della BBS a livello centrale è stata confermata anche nel corso di prove sperimentali con somministrazione per via intracerebroventricolare in tacchini (2) ed è stato visto che si verificava un'alterazione del comportamento alimentare che portava i soggetti ad una diminuzione dell'assunzione di cibo. Sempre in tacchini adulti risulta che la BBS provoca diminuzione dell'assunzione di alimento ed acqua agendo sia a livello periferico (apparato digerente) che a livello di Sistema Nervoso Centrale (3).

Nella bibliografia concernente la BBS che fa riferimento alla specie pollo non viene mai riportata la linea genetica degli animali utilizzati nella sperimentazione, nonostante le grandi differenze comportamentali tra polli di linea leggera e pesante proprio riguardo l'assunzione di alimento (1, 7, 8). Infatti, la produzione di BBS, in quanto fattore di regolazione del senso di sazietà, potrebbe variare tra polli di linea pesante e polli di linea leggera. Scopo del presente lavoro è proprio verificare se esistano differenze per quanto riguarda numero, aspetto e distribuzione delle cellule produttrici BBS tra le due diverse linee produttive e se queste differenze siano tali da spiegare la diversità di comportamento alimentare.

Materiali e metodi

Sono stati utilizzati 12 pulcini di sesso maschile di due linee, una leggera e una pesante, schiusi in incubatoi commerciali e alloggiati in isolatori Montair fino alla fine delle osservazioni. Acqua di bevanda e mangime

erano forniti *ad libitum*. L'alimento era costituito da un mangime del commercio primo periodo broiler, per i soggetti di linea pesante, ed un mangime del commercio primo periodo pollastra, per i soggetti di linea leggera. A 2, 5, 12, 19, 26 e 33 giorni di vita sono stati sacrificati un soggetto leggero (L) ed un soggetto di linea pesante (P) rispettivamente. Tutti gli abbattimenti sono sempre stati eseguiti alla stessa ora del giorno e gli animali avevano modo di alimentarsi fino al sacrificio. Ogni soggetto veniva pesato e sacrificato mediante dislocazione delle vertebre cervicali e sottoposto a necropsia, durante la quale si prelevava una sezione longitudinale di stomaco muscolare e di stomaco ghiandolare. Gli organi prelevati venivano fissati in formalina tamponata al 10% a temperatura di refrigerazione per un periodo di 24 ore ed inclusi in paraffina. Per ciascun campione venivano tagliate sezioni longitudinali a tutta lunghezza della mucosa del proventricolo e del ventricolo di 4 micron di spessore sia per la colorazione con Ematossilina-Eosina (EE) sia per l'esame immunohistochimico.

L'esame immunohistochimico è stato effettuato applicando la metodica avidina-biotina-perossidasi (ABC) (6). Quale siero primario è stato impiegato un anticorpo policlonale (Peninsula UK, IHC 7113 Rabbit anti-bombesin serum-Lot.n.° 029875-2) prodotto in coniglio e specificatamente diretto contro la bombesina di anfibio (*Hyla bombina*). L'anticorpo è stato usato alla diluizione di 1:28.000. Sulla base di un primo esame delle sezioni, si è proceduto alla conta delle cellule bombesina-positive di tutti i campioni a 250 ingrandimenti. La valutazione dei campioni è stata fatta alla cieca ed in ordine casuale. Nella conta sono stati considerati, per ogni campione, 6 campi per il proventricolo (3 campi di ghiandole superficiali e 3 campi di ghiandole profonde) e 3 campi per il ventriglio, dove le ghiandole sono collocate solo superficialmente.

Risultati

Nel corso del periodo di osservazione nei due gruppi non sono stati osservati sintomi clinici e gli animali abbattuti non hanno mai presentato alterazioni viscerali macroscopicamente rilevabili. Nell'ingluvie e negli stomaci degli animali sacrificati era sempre presente materiale alimentare. L'andamento dei pesi

dei soggetti delle due linee è riportata in figura 1. L'esame istologico delle sezioni colorate con EE del proventricolo e del ventriglio di tutti i soggetti considerati non ha evidenziato alterazioni. L'esame immunostochimico è risultato positivo per ciascuno dei 12 campioni esaminati. La positività era rappresentata da una colorazione brunastra a carico del citoplasma delle cellule contenenti bombesina. La morfologia delle cellule BBS positive pareva variare con l'età. Infatti, nei primi 2 prelievi (2 e 5 giorni di vita), queste erano di volume ridotto e con poco citoplasma, mentre nei soggetti di età maggiore apparivano ovali, lievemente più grandi delle cellule epiteliali e con citoplasma stipato di secreto positivo. Nel proventricolo le cellule positive erano riconoscibili sia all'apice che alla base dei rilievi della mucosa frammiste alle cellule epiteliali, in maniera sparsa e discontinua. Nelle ghiandole profonde le cellule BBS positive erano evidenziabili presso la cavità centrale, frammiste alle cellule epiteliali secernenti. Nel ventriglio le cellule BBS positive erano poste, in maniera sparsa, sia alla base che all'apice dei rilievi della mucosa. In entrambi gli stomaci, le cellule BBS positive erano del tipo "chiuso", orientate cioè con l'asse maggiore perpendicolare o leggermente obliquo rispetto a quello delle cellule epiteliali che invece è decisamente orientato verso il lume. L'immunoistochimica, ha evidenziato anche la presenza di sottili prolungamenti cellulari, ripieni di granuli immunomarcati, e rivolti verso le cellule epiteliali, segno di attività di tipo paracrino delle cellule BBS produttrici. In figura 2 sono riportati i risultati delle conte delle cellule BBS positive. Come si può notare, tutti i soggetti di linea leggera avevano un numero di cellule BBS positive sempre più elevato rispetto ai soggetti di linea pesante. Ciò è stato riscontrato non solo riguardo al numero complessivo rilevato nei due stomaci, ma anche per i totali parziali di proventricolo e ventriglio e, a livello di proventricolo, per i due tipi di ghiandole considerati (superficiali e profonde).

Discussione

Dalle presenti osservazioni è possibile seguire l'evoluzione delle cellule BBS positive nelle prime 3 settimane di vita: si assiste ad un progressivo aumento del loro numero in entrambi gli stomaci e dal secondo prelievo (5 giorni di vita) si modifica anche la loro morfologia, la loro forma diventa decisamente rotondeggiante od ovale e il citoplasma più abbondante e più ricco di granuli immunomarcati. Questi cambiamenti quantitativi e qualitativi sono verosimilmente in rapporto con l'assunzione di alimento e l'attività funzionale dell'apparato digerente. Dal confronto delle 2 linee produttive diverse non sono emerse differenze per quanto riguarda morfologia e distribuzione anatomica delle cellule BBS, invece dal punto di vista quantitativo le conte permettono di rilevare una differenza costantemente presente in entrambi gli stomaci tra leggeri e pesanti. L'entità di questa differenza a favore dei leggeri è minima subito dopo la schiusa (2 giorni di vita) e si amplia decisamente nei successivi prelievi. Quindi l'aumento

delle cellule BBS positive riscontrato nelle prime settimane di vita è molto più marcato nei soggetti della linea leggera, pur verificandosi anche in quelli pesanti. Alla differenza nel numero delle cellule BBS fa verosimilmente riscontro una differenza nella produzione gastrica di BBS tra polli leggeri e polli da carne. Non è possibile dare un significato preciso a questa differenza o metterla in un sicuro rapporto causale con le differenze di comportamento alimentare tra i 2 tipi produttivi. Indubbiamente l'entità stessa del divario tra le cellule BBS positive dei polli leggeri e pesanti è verosimile che non sia casuale ma risponda a specifiche esigenze fisiologiche delle 2 specializzazioni produttive. Queste ultime possono condizionare non solo la produzione di BBS ma anche degli altri peptidi dotati di funzione di regolazione sia sul tratto gastroenterico sia sul sistema nervoso centrale. I risultati aprono nuove prospettive di indagine su tale argomento e consigliano di tener conto della specializzazione produttiva della linea genetica utilizzata negli studi che riguardano aspetti morfofunzionali dell'apparato digerente della specie pollo. L'ipotesi che la maggior produzione di BBS nei polli di linea leggera possa contribuire a spiegare il moderato comportamento alimentare che questi mostrano in confronto ai pesanti potrebbe essere suffragata da analoghe osservazioni a carico della colecistochinina, che con la BBS viene considerata un fattore regolatore dell'appetito a livello centrale.

Bibliografia

- 1) Barbato G.F., Cherry J.A., Siegel P.B., Van Krey H.P. (1980) "Quantitative analysis of the feeding behavior of four populations of chickens" *Physiol. Behav.* 25, 885-891.
- 2) Denbow D.M. (1985) "Food intake control in birds" *Neurosci Bioheav. Rev.*, Summer; 9, 223-232
- 3) Denbow D.M. (1989) "Centrally and peripherally administered bombesin decreases food intake in turkeys" *Peptides* Mar-Apr. 10, 275-279.
- 4) Gibbs J., Smith G.P. (1986) "Satiety: the roles of peptides from the stomach and the intestine" *Fed. Proc.* Apr; 45, 1391-1395.
- 5) Hill K.J. (1983) "Physiology of the digestive tract" in: Freeman B.M.: *Physiology and biochemistry of the domestic fowl.* vol. 4, Academic Press, London, 33-35.
- 6) Hsu S., Raine L., Fanger H. (1981) "Use of Avidin-Biotin-Peroxidase Complex (ABC) in Immunoperoxidase Techniques: a Comparison between ABC and Unlabeled (PAP) Procedures" *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 29, 577-580
- 7) Masick B., Wood-Gush D.G.M., Duncan I.J., Mc Corquadale C., Savory C.J. (1974) "A comparison of the feeding behavior of young broiler and layer males" *Brit. Poultry Sci.* 15, 499-505
- 8) Nir I., Nitran Z., Dror Y., Shapira N. (1978) "Influence of overfeeding on growth, obesity and intestinal tract in young chickens" *Brit. J. Nutr.* 39, 27-35
- 9) Rawdon B.B. (1984) "Gastrointestinal hormones in birds: morphological, chemical and developmental aspects" *J. of Exp. Zool.* 232, 659-670
- 10) Savory C.J. (1999) "Temporal control of feeding behaviour and its association with gastrointestinal function" *J. Exp. Zool.* 283, 339-347.

Figura 1: Pesi dei soggetti
Figure 1: Weight of the chickens

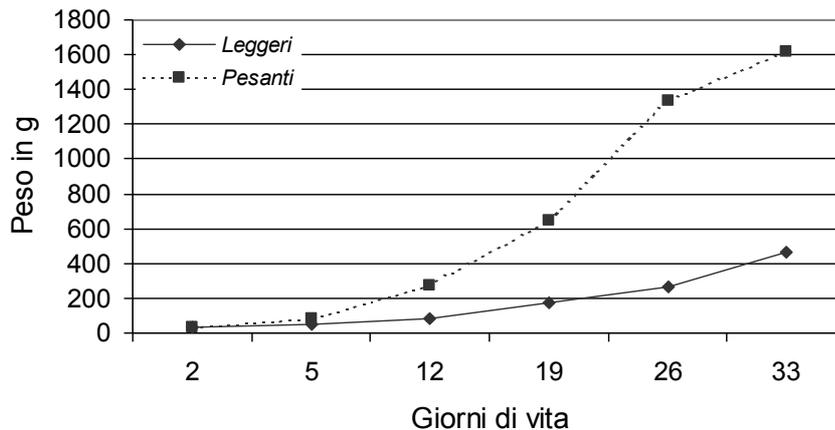
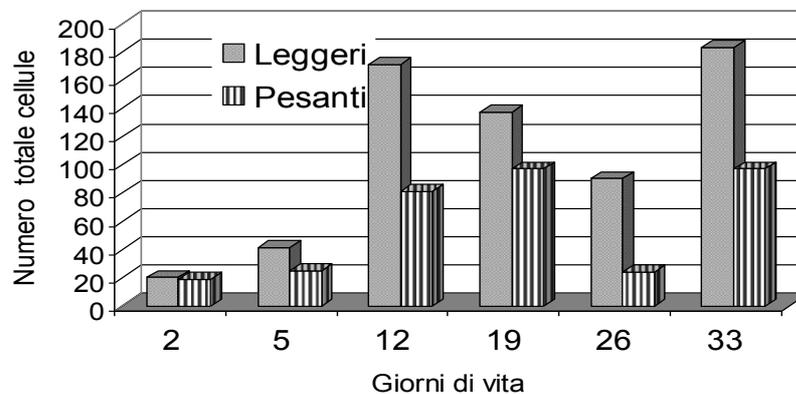


Figura 2: Risultati delle conte delle cellule bombesina positive
Figure 2: Results of bombesin cells counting



COMUNICAZIONE 5

INDAGINE SULLA PRESENZA DI *CAMPYLOBACTER* spp. IN ALLEVAMENTI AVICOLI DEL NORD ITALIA

A. Borrelli¹, S. Cerruti Sola¹

¹Dipartimento di Produzioni Animali, Epidemiologia ed Ecologia, Università degli Studi di Torino

Parole chiave: broiler, faraona, galletto livornese, *Campylobacter* sp., isolamento

Survey on the incidence of *Campylobacter* spp. infections in flocks in Northern Italy

Key Words: broiler, guinea fowl, cockerel, *Campylobacter* sp., isolation

Summary: 1131 cloacal swabs obtained from poultry (broilers, Guinea fowl, cockerels) bred in Northern Italy were tested for the presence of *Campylobacter* spp.. *Campylobacter* was never isolated from birds younger than 3 weeks, whereas in older birds the percentage of recovery was 80% in broilers, 53% in Guinea fowl and 76% in cockerels. 89% of the isolates belonged to the species jejuni.

Correspondence: Cerruti Sola S., Dipartimento di Produzioni Animali, Epidemiologia ed Ecologia, Via Nizza 52, 10126 Torino, Italia

Introduzione

Campylobacter spp. è un microrganismo presente in una grande varietà di specie animali ed è un patogeno emergente nelle infezioni gastroenteriche dell'uomo. Indagini compiute in diversi paesi hanno dimostrato che le infezioni da *Campylobacter* sono comuni nel pollo al momento della macellazione. In Italia la presenza di *Campylobacter jejuni* è stata segnalata

nell'apparato riproduttore di galline ovaiole in deposizione.(2)

Scopo di questo lavoro è stato verificare la presenza di infezioni da *Campylobacter* spp. nei volatili allevati nel Nord-Italia e stabilirne la specie di appartenenza.

Materiali e metodi

Campionamento. Tutti gli uccelli, oggetto della nostra indagine, provenivano da allevamenti del Nord Italia di