

# Approccio immunologico alla valutazione del benessere animale

*Massimo Amadori*

*Centro di Referenza Nazionale per il Benessere Animale  
IZSLER - Brescia*

- 📄 Possibili approcci
- 📄 Problematiche aperte
- 📄 Prospettive
- 📄 Opportunità



# Approcci alla valutazione del benessere animale

- 1) Le funzioni biologiche degli animali (galline ovaiole in Svezia)
  - 2) Gli stati affettivi/sensitivi (trattamenti anestetici per la decornificazione dei bovini)
  - 3) Il repertorio di comportamenti naturali (requisiti minimi degli allevamenti suini)
- Sono approcci non mutualmente esclusivi
- E' necessario un approccio bilanciato tra questi tre poli culturali



# Benessere e adattamento

- 📄 Benessere animale: è la risultante dello stato di adattamento dei soggetti all'ambiente
- 📄 Include l'adattamento alle possibili cause di patologia
- 📄 In tal caso: benessere animale = sanità animale
- 📄 Malattia = assenza di benessere



# Adattamento = Benessere ?

- ☞ Un certo adattamento: semplice ed energeticamente poco oneroso, correlabile a buoni livelli di benessere
- ☞ Altri tipi di adattamento: complessi. Richiedono differenti livelli di risposte fisiologiche di emergenza e/o comportamenti abnormi, talora accompagnati da paura o dolore
- ☞ In tal caso, il benessere è scarso, anche se in apparenza il tentativo di adattamento è efficace.



# Parametri che influenzano l'azione di adattamento: i bisogni

- 📄 I bisogni: sedimentati nel cervello, agiscono con meccanismo motivazionale
- 📄 Bisogni di risorse vitali
- 📄 Bisogni di espletare particolari azioni sottese ad ottenere tali risorse vitali
- 📄 Esempio: i suini hanno sì bisogno di cibo, ma hanno anche bisogno di grufolare nel suolo e di manipolare materiale di foraggiata



# CONCETTO DI AMBIENTE PER GLI ANIMALI DA REDDITO

- Qualità dell'aria
- Temperatura/umidità relativa
- Alimentazione
- Qualità dell'acqua di bevanda
- Presenza di agenti patogeni
- Tipologia delle pavimentazioni
- Sistema di allevamento e strutture
- Numero di altri soggetti nel "medesimo spazio" (box, recinto, ecc..)
- Interventi profilattici e/o terapeutici
- Altro... UOMO!! (Stockman's effect)



# Quale ruolo degli indicatori fisiologici?

STIMOLO SU CNS (EMOTIVO)



MINACCIA A OMEOSTASI



DIFESA BIOLOGICA



RISPOSTA BIOLOGICA (strategia 1)



MODIFICA DI FUNZIONI FISIOLOGICHE (strategia 2)



STATO PRE-PATOLOGICO



PATOLOGIA



# Determinazione della risposta biologica e delle funzioni fisiologiche


 **Risposta nulla o trascurabile**




 **Elevato benessere**

 **Risposta notevole e/o prolungata**



 **Stato di turbativa , tentativo di adattamento**



 **Scarso benessere animale (anche senza patologie in corso)**





# Indicatori fisiologici: il sistema immunitario

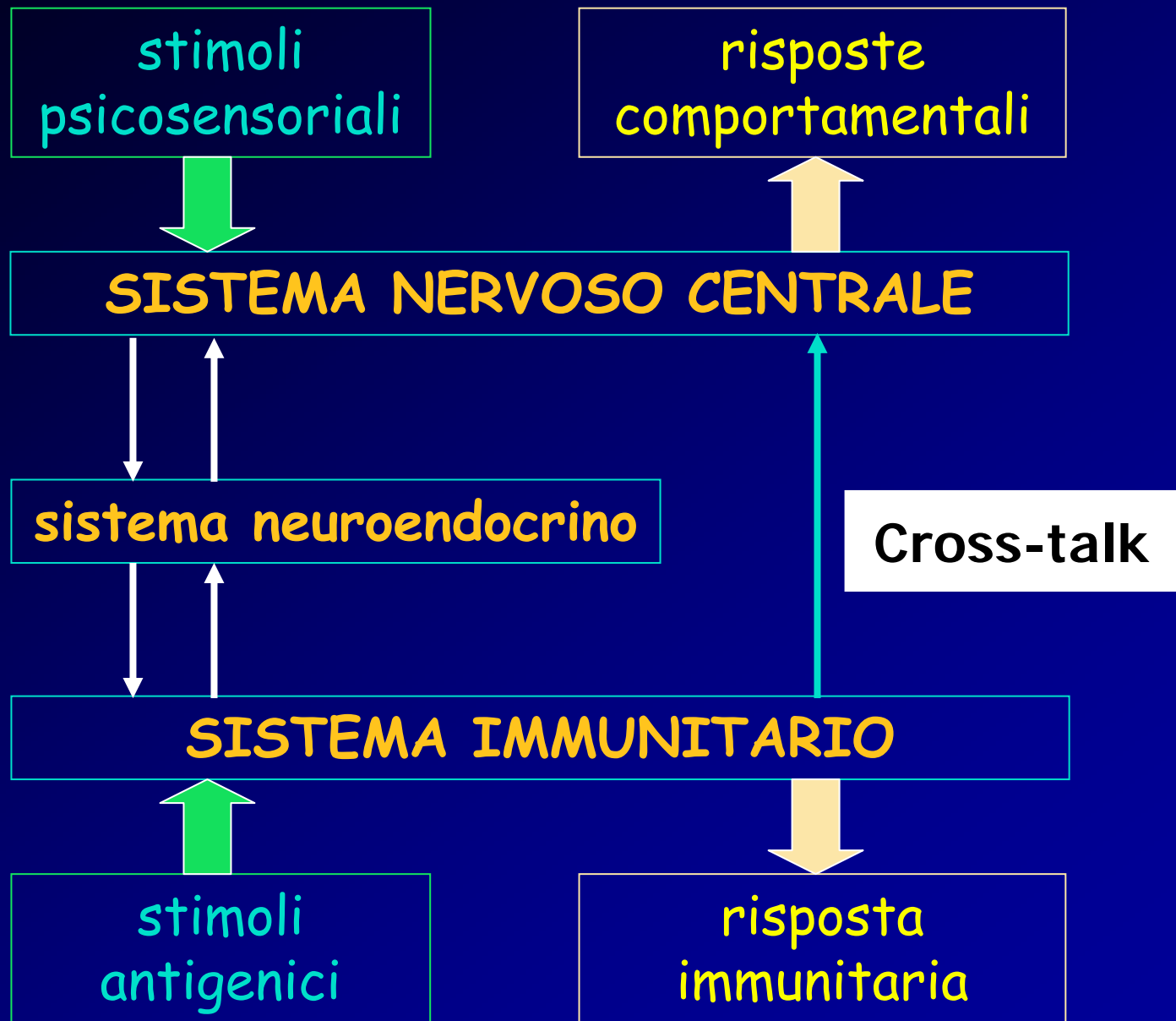
- 📄 Posizione privilegiata: connessione anatomica e funzionale tra sistema immunitario e CNS
- 📄 Percezione neurologica delle infezioni
- 📄 Comportamento da malattia (anoressia, letargia, - comportamento sociale / riprod.)
- 📄 Malattia è il massimo stress
- 📄 Anche in fase precedente: perdita della conversione alimentare
- 📄 Anoressia → → → → sopravvivenza



# SISTEMA IMMUNITARIO E COMPORTAMENTO DA MALATTIA

- 📄 E' un preciso stato motivazionale: diverse priorità comportamentali rispetto ai soggetti sani
- 📄 E' una risposta adattativa ben organizzata alle infezioni
- 📄 Le citochine (IL1 $\beta$ , IL6, TNF $\alpha$ ) prodotte dai leucociti inducono tale comportamento
- 📄 Le citochine trasmettono il messaggio al cervello per via umorale e neurale (n. vago)





# Benessere e Sanità Animale

📄 Tre fondamentali correlazioni:

📄 1) Attivazione cronica del “coping”:  
immunosoppressione → malattia

📄 2) “Coping” comportamentale → posture  
anomale → lesioni

📄 3) Selezione genetica per alta produttività +  
nutrizione correlata → stress metabolico  
malattie da produzione (vedi somatotropina  
bovina)

📄 I meccanismi (1) e (2) agiscono ad esempio  
nel corso dei trasporti su strada



# Il controllo neuro-endocrino sul sistema immunitario

- 📄 I sistemi GC/surrenali e catecolamine: regolazione principale (specie animali!)
- 📄 GC: fondamentali le concentrazioni plasmatiche
- 📄 Stress cronico: alta risposta al test ACTH
- 📄 Azione riconosciuta di GH (IGF), Prolattina, ormoni timici (zinco-timulina)
- 📄 Sistema ridondante? No! Infezioni, stato nutritivo, invecchiamento, stress psicologi, ecc.



# Risposta da stress/risposta immunitaria

- 📄 Risposta immunitaria, da stress e infiammatoria: complesso ancestrale di risposte atte alla neutralizzazione di noxae che turbano l'omeostasi dell'organismo animale
- 📄 Meccanismi effettoriali da citochine: simili per stress infettivi e non infettivi
- 📄 Ad esmpio: IL-1 → HPA + NA cerebrale dopo infezione, shock elettrico o contenimento forzato
- 📄 Cervello → IFN- $\alpha$  dopo stimoli infettivi e non infettivi



# Risposta immunitaria e teoria del "pericolo"

- Il paradigma "self / not self" spiega poco
- L'ospite tende a montare una risposta verso ciò che è "pericoloso" (self e non self)
- Ciò spiega il legame funzionale ancestrale con i meccanismi della risposta infiammatoria / da stress
- Teoria del pericolo: i limiti della risposta infiammatoria possono essere valicati solo in caso di gravi minacce alla sopravvivenza dell'ospite



# SISTEMA IMMUNITARIO

Sistema deputato al riconoscimento delle componenti estranee all'organismo animale

## Componenti della "clearance " degli agenti di infezione

Fase	Caratteristiche	Meccanismo
Immediata (<4 ore)	Non specifica Innata Non dà memoria	Attività del SRE Lisozima, complemento, anticorpi naturali, cellule NK
Precoce (4-96 ore)	Non specifica Inducibile Non da memoria	Interferon, cellule NK attivate da IFN
Tardiva(>96 ore)	Specifica, inducibile, dà memoria, Comporta linfociti specifici	Linfociti T Citotossici, interferon, anticorpi specifici





# Risposta immunitaria e produzioni zootecniche

- 📄 Abnorme attivazione del sistema immunitario: notevole dispendio energetico ↓
- 📄 Impiego abnorme della risposta adattativa
- 📄 Pressione infettante ambientale → citochine infiammatorie: azione anoressizzante
- 📄 Più energia alimentare a disposizione dell'accrescimento con: 1) ambienti puliti e 2) aumentata risposta immunitaria innata
- 📄 Minore ricorso alla risposta adattativa



# Alterazioni / deficit del sistema immunitario innato

- 📄 Evidenziabili con semplici test di immunologia clinica (C', lisozima, SBA, elettroferogramma, RFA)
- 📄 Questi indicano il grado di competenza immunitaria verso i patogeni ambientali
- 📄 Evidenziano rotture dell'equilibrio e imminente insorgenza di patologie condizionate
- 📄 Esempio: livelli di C' e SBA e polmonite da *Actinobacillus* nel suino
- 📄 Evidenziano pertanto le fasi critiche dei cicli zootecnici



# QUALE INTERPRETAZIONE DEI DATI ?

## Importante valutare nella immunologia clinica:

- La cinetica temporale delle alterazioni
- La prevalenza delle alterazioni
- La concomitanza di più alterazioni
- L'associazione a parametri di significato prognostico negativo (vedi secrezione di proteine di fase acuta da parte degli epatociti, indotta da citochine linfocitarie)



# Sistemi immunitario e neuro-endocrino

- 📄 I confini canonici tra i due sistemi sono difficilmente riconoscibili in un *continuum* di circuiti di regolazione omeostatica.
- 📄 Una singola funzione effettoriale fa parte di una strategia più ampia di sopravvivenza ed adattamento
- 📄 Alla base: reti di segnalazione multi-direzionale e di regolazione a feedback
- 📄 Mediatori: neuro-endocrini e da immunociti (citochine)



# Come funzionano le citochine?

- 📄 E' molto frequente una curva a campana
- 📄 "Low dose priming, high dose suppression"
- 📄 Esiti radicalmente diversi per concentrazione e fase temporale
- 📄 Down-regulation recettoriale in tessuti con forte reazione flogistica: fondamentale meccanismo di regolazione omeostatica
- 📄 Azioni autocrine/paracrine. "Ormonali" per eventi stressanti maggiori (vedi IL-6 e RFA)



# Sistema immunitario e risposta infiammatoria / da stress

- 📄 Interazione bi-direzionale
- 📄 Il sistema immunitario modula la risposta infiammatoria / da stress
- 📄 Il sistema immunitario è modulato dalla risposta infiammatoria / da stress

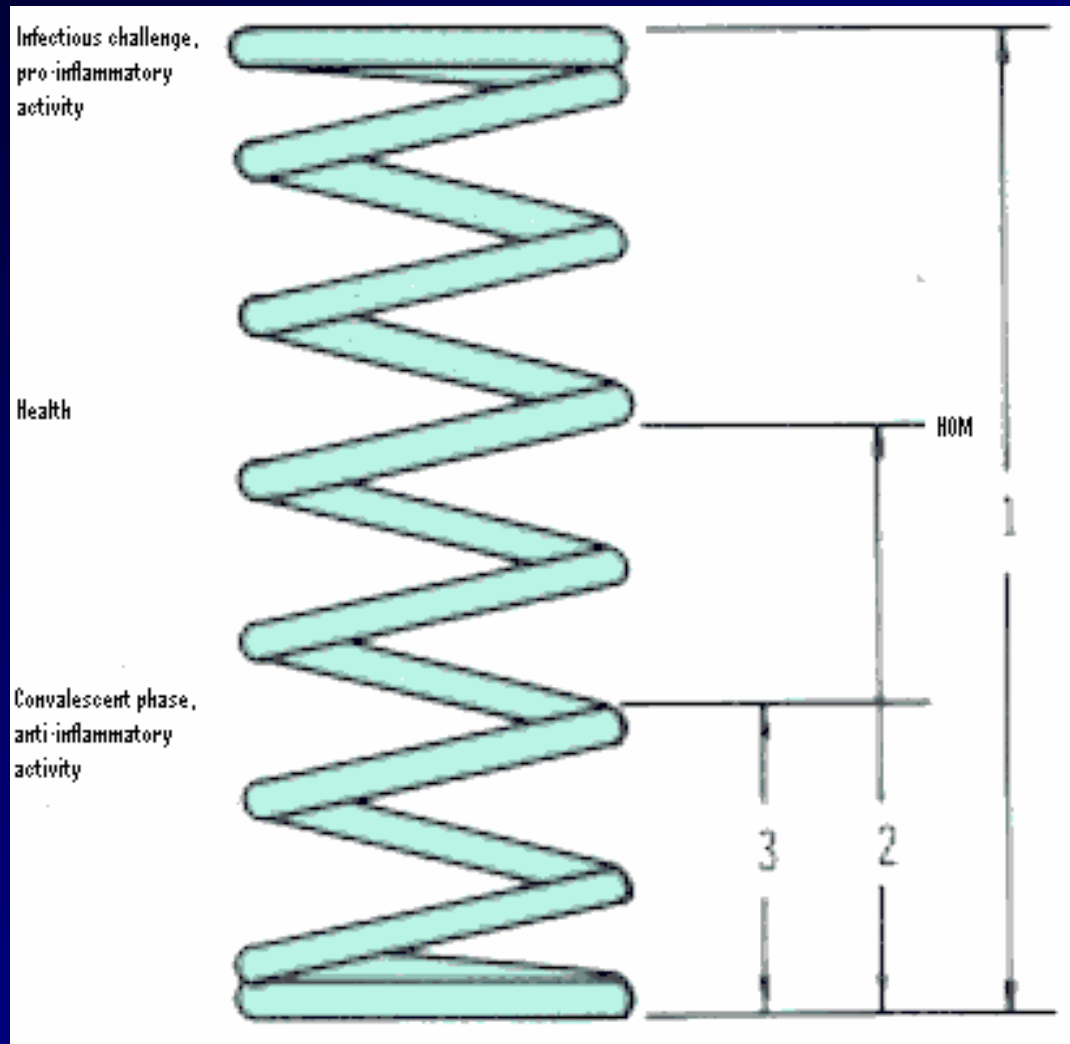


# Il sistema immunitario modula la risposta infiammatoria / da stress

- 📄 Risposta infiammatoria: serve a conseguire migliore capacità di fronteggiare condizioni ambientali avverse (infettive o non infettive)
- 📄 Necessità di modularla ed interromperla al momento giusto per evitare danni tissutali
- 📄 Azioni di controllo precoce: CD4/CD25 Treg cells (modello influenza,  $IFN\alpha$ , IL-10, IL-15)
- 📄 Controllo di citochine infiammatorie (TNF- $\alpha$  rec, IL-1 decoy rec, IL-1Ra)
- 📄 La risposta in IFN di tipo I ( $\alpha$  e  $\beta$ )



# Il meccanismo a "molla" dei sistemi di controllo omeostatici



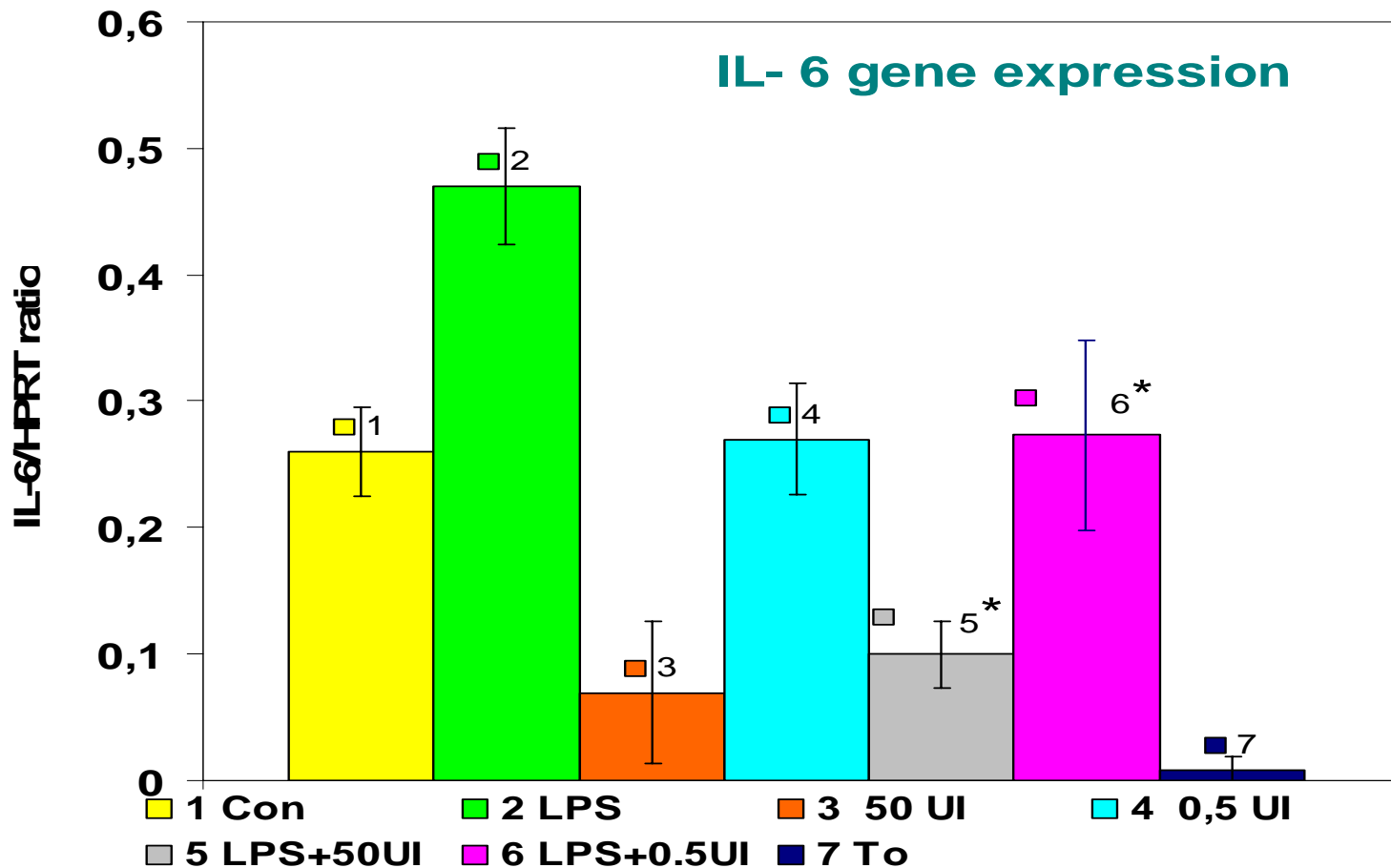


## Attività *in vitro* di IFN- $\alpha$

- Concentrazioni molto basse (0,05 – 5 U/ml) riducono l'espressione di CD14 in PBMC e macrofagi alveolari suini a differenza di concentrazioni più elevate
- Signalling mediante LPS/LPS binding protein viene così inibito
- CD14 libero: potente sistema scavenger per LPS (modello PRRS!!)
- Down-regulation di geni per citochine infiammatorie



# Effetti di IFN- $\alpha$ sull'espressione del gene IL-6 nei PBMC suini



# Il sistema immunitario è modulato dalla risposta infiammatoria / da stress

- 📄 Prolungate reazioni di adattamento ambientale = grave dispendio energetico = depressione del sistema immunitario
- 📄 Reazione evidente per il sistema immunitario innato (immunologia clinica)
- 📄 Maggiore uso del sistema immunitario adattativo, pure condizionato dalle condizioni ambientali (vedi vaccini anti-aftosi in Arabia Saudita)



# Stress acuto / stress cronico

- 📄 Molti stress acuti: non pericolosi
- 📄 Transitori effetti stressanti: migliore risposta immunitaria (vedi stress neonatali, effetto adiuvante naturale)
- 📄 Risposta immunitaria: inibita preferenzialmente dallo stress cronico
- 📄 Conseguenze: adattative nel breve periodo, dannose nel lungo periodo
- 📄 Diverso impatto in funzione delle gerarchie di gruppo (vedi interventi su ipotalamo in roditori)



# Ridefinizione di priorità metaboliche

- Alto fabbisogno di energia: ridefinizione delle priorità metaboliche a scapito della risposta immunitaria
- Modello leptina: assai istruttivo. Digiuno = shut-off = depressione di funzioni immunitarie
- Citochine infiam. → GC = risposta adattativa, es. IL-1 /ACTH, anche inversa
- ACTH test: esiti differenti. Sensibilità a GC?
- Equilibrio flogistico → assetto effettoriale linf. → modulazione Th1/Th2



# Modelli da sviluppare: bovine da latte nel periparto

- 📄 Le “Transition cows” hanno spesso patologie variegata, che portano alla rimozione precoce dalla mandria
- 📄 Queste sono spesso precedute da una risposta di fase acuta del fegato, preceduta da distinti picchi plasmatici di citochine infiammatorie (IL-6)
- 📄 **Come possiamo correlare la risposta in citochine infiammatorie alla insorgenza delle patologie?**
- 📄 **Come possiamo modulare tale risposta in citochine?**



# Modelli da sviluppare: parametri immunologici e QA aziendale

- 📄 La dimostrazione di assetti normo-fisiologici di fondamentali parametri immunologici è funzionale a schemi di QA di filiera: benessere animale e sicurezza alimentare
- 📄 Etichettatura “Welfare Friendly” della UE
- 📄 Supporto a piani BPA (reg. 852/2004)
- 📄 Prognosi di condizioni a rischio per patologie condizionate (infettive e non)



# Modelli da sviluppare: i trasporti

- 📄 Parametri immunologici: funzionali a quantificare lo stress da trasporto
- 📄 Valutazioni: a partire dal giorno +4 in poi
- 📄 Blastizzazione linfocitaria, risposta ai vaccini
- 📄 Aree di ricerca: influsso delle condizioni microclimatiche di trasporto, trasporto dei volatili per periodi > 12 ore.





# Conclusioni

- 📄 Il sistema immunitario modula ed è modulato dalla risposta da stress
- 📄 Alla base: una interazione complessa tra sistema immunitario e sistema neuro-endocrino → comunicazione bi-direzionale.
- 📄 Comunicazione: citochine, ormoni, neuropeptidi
- 📄 L'assetto normo-fisiologico di fondamentali parametri immunologici è un possibile indicatore di benessere animale utilizzabile in diversi contesti



## Ringraziamenti

Dr. ssa Ivonne Laura Archetti, Dr. Paolo Candotti (IZSLER, Brescia), Dr. Gianfranco Brambilla (ISS, Roma), Prof. Erminio Trevisi (Facoltà di Agraria, Piacenza), Prof. Leonardo Nanni Costa (Facoltà di Agraria, Bologna), Prof. Nicola Lacetera (Facoltà di Agraria, Viterbo)

