

Impiego del lisato piastrinico nel trattamento rigenerativo della mastite bovina (PRC2016/15)

ABSTRACT

Inquadramento della tematica. La mastite rappresenta un problema di salute e benessere animale, una questione di sicurezza alimentare e genera perdite economiche negli allevamenti colpiti. La mastite si presenta frequentemente in forma cronica subclinica determinando comunque una diminuzione della produzione di latte, una riduzione della sua qualità e della resa casearia e un aumento dei costi per la gestione dell'animale e per la sua eventuale eliminazione. *Staphylococcus aureus* è responsabile della maggior parte delle forme di mastite subclinica a livello mondiale. Il controllo delle mastiti si basa sul contenimento delle nuove infezioni tramite un corretto management di allevamento e di mungitura, riforma dei soggetti con mastite cronica e terapia antibiotica mirata. Inoltre, al momento della messa in asciutta della bovina, la terapia antibiotica intramammaria è eseguita di routine con l'obiettivo di eliminare le infezioni presenti e di impedirne di nuove. La letteratura scientifica riporta che una parte significativa delle mastiti deriva da infezioni contratte durante l'asciutta e si manifesta entro i primi mesi dopo il parto, e che la profilassi antibiotica all'asciutta riduce del 40% questo problema. Negli ultimi anni, si sta assistendo alla diffusione di fenomeni di antibiotico-resistenza che coinvolgono anche la salute pubblica. Tale evidenza e le condizioni di rischio per la bovina rendono urgente sviluppare rimedi alternativi che possano sostituire o coadiuvare quelli attualmente in uso. Durante la mastite, il calo della produzione è dovuto alle lesioni indotte dagli agenti patogeni, ma anche dalle reazioni immunitarie dell'ospite e dagli enzimi lisosomiali e prodotti ossidativi rilasciati dai fagociti durante la fagocitosi. Da uno studio di Sheffield (1997) si è osservato come l'infezione della mammella della bovina induca una serie di cambiamenti nell'espressione di alcuni geni. Si verifica, infatti, la riduzione dell'espressione dei geni delle proteine del latte e l'aumento della espressione di numerosi fattori di crescita tra cui insulin-like growth factor-I (IGF-I), epidermal growth factor (EGF), fibroblast growth factor (FGF) e transforming growth factor- β (TGF- β). Questi ed altri fattori di crescita agiscono in sinergia per aumentare l'infiltrazione di neutrofili e macrofagi, per promuovere angiogenesi, fibroplasia, deposizione di matrice e ripitelizzazione.

Pertinenza strategica. Lo studio di Sheffield ha suggerito l'idea di un diverso approccio alla cura della mastite attraverso la stimolazione della rigenerazione del tessuto ghiandolare tramite l'apporto di una sostanza ricca di fattori di crescita per potenziare sia la riparazione del tessuto sia la protezione delle cellule dall'ambiente infiammatorio. La sostanza presa in esame è il lisato piastrinico (LP), ossia, una sostanza costituita da una concentrazione sovra-fisiologica di piastrine che contengono numerosi fattori di crescita oltre alle chemochine che svolgono azione chemiotattica e di supporto alle cellule della linea bianca. Questo progetto è volto a un trattamento endomammario a base di LP per verificare se i fattori di crescita liberati dalle piastrine possano avere un effetto sul ripristino della *functio laesa* della ghiandola mammaria e sul recupero qualitativo della produzione di latte riducendo al minimo l'utilizzo di antibiotici. Questo intervento potrebbe risultare strategico nella fase dell'asciutta quando nella mammella si ha un turnover delle cellule epiteliali mammarie in preparazione alla sintesi e secrezione di latte nella successiva lattazione.

Obiettivi. La ricerca si articolerà secondo tre obiettivi sviluppati parte in laboratorio e parte in allevamenti da latte. 1) Ottimizzazione e standardizzazione di produzione del LP e sua valutazione qualitativa per i seguenti aspetti: i) livello di piastrine ii) livelli di globuli bianchi iii) livelli di TGF- β 1, platelet derived growth factor (PDGF), and IGF-I. Questi livelli saranno valutati per ottimizzare la produzione del LP con un range standard. 2) Studi in vitro dell'efficacia del LP su cellule epiteliali mammarie stressate con lipopolisaccaridi (LPS) per una comprensione dell'azione del LP in vivo nella risposta all'intrusione batterica e nella modulazione del processo infiammatorio. L'espressione di geni pro- e anti-infiammatori ed il rilascio di differenti citochine sarà valutato in presenza o assenza di LP. 3) Valutazione in vivo della somministrazione di LP in diverse categorie di animali al momento della messa in asciutta: i) animali affetti da mastite cronica, ii) animali affetti da mastite cronica indotta da *Staphylococcus aureus*, iii) animali sani. Per ogni categoria saranno studiati e comparati diversi gruppi: 1) gruppo controllo costituito da animali trattati con antibiotico, 2) gruppo trattato costituito da animali trattati con LP, e 3) gruppo trattato costituito da animali trattati contemporaneamente con antibiotico e LP.

Bibliografia. 1) Sheffield Lewis G, 1997, Mastitis increases growth factor messenger ribonucleic acid in bovine mammary glands *Journal of Dairy Science* 80;9. 2) Lange-Consiglio A, Spelta C, Garlappi R, Luini M, Cremonesi F. (2014) Intramammary administration of platelet concentrate as an unconventional therapy in bovine mastitis: first clinical application. *J. Dairy Sci.* 2014 Oct;97(10):6223-30. 3) Lange-Consiglio A, Cazzaniga N, Garlappi R, Spelta C, Pollera C, Perrini C, Cremonesi F (2015) Platelet concentrate in bovine reproduction: effects on in vitro embryo production and after intrauterine administration in repeat breeder cows. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2015 Jun 19;13:65.