

M. SFORNA<sup>1</sup>, F. RUECA<sup>2</sup>,  
L. MUGHETTI<sup>2</sup>, G. ACUTI<sup>2</sup>,  
C. ANTONINI<sup>2</sup>, S. CAPUCCINI<sup>1</sup>,  
L. MECHELLI<sup>1</sup>,  
M. TRABALZA-MARINUCCI<sup>2</sup>

## Somministrazione di lino estruso e rilievi istopatologici epatici nella pecora in lattazione

PROGRESS IN NUTRITION  
VOL. 14, N. 3, 194-198, 2012

### TITLE

Extruded linseed administration and liver histopathologic findings in lactating dairy ewes

### KEY WORDS

Sheep, extruded linseed, steatosis

### PAROLE CHIAVE

Pecora, lino estruso, steatosi

### Summary

The benefits of linseed administration on acidic composition of animal products are well known. The aim of this work was to study the effects on liver morphology induced by a prolonged administration of linseed enriched diets. Sixty multiparous ewes were divided into 3 groups of 20 animals each. Groups received alfalfa hay as forage and three different concentrate diets: a control diet (CTR) without linseed and two diets supplemented with different levels (10 and 20% as fed, LE-10 and LE-20, respectively) of ground and extruded linseed. Liver samples were collected 80 days *post-partum* from 9 animals per group. The placement of biopsy needle was monitored by ultrasound visualization. The liver specimens were fixed and embedded with paraffin; serial sections were cut and stained with haematoxylin-eosin. The most characteristic finding observed in all but one biopsies coming from group CTR and LE-10 was represented by a diffuse and severe hydropic-vacuolar cell degeneration (no differences were observed amongst the two groups); cell damage in group LE-20 appeared to be lower. No lipid degeneration was virtually detectable in any of the samples; only in one animal from group CTR a moderate steatosis was observed. Our results suggested that prolonged administration of extruded linseed diets during the peripartum period does not adversely affect liver function in lactating ewes.

### Riassunto

Negli animali sono noti gli effetti benefici correlati alla somministrazione di lino sul profilo acido dei prodotti, ma pochi sono i dati disponibili sugli effetti metabolici. Lo scopo di questo lavoro è stato quello di studiare gli effetti della somministrazione prolungata di mangimi contenenti lino estruso sulla funzionalità epatica di ovini in lattazione. Sessanta pecore pluripare sono state suddivise in 3 gruppi da 20 soggetti ciascuno, alimentati con fieno di erba medica e 3 diversi tipi di concentrato: mangime di controllo privo di lino (CTR) e due diete arricchite con diversi livelli (10 e 20% sul totale, rispettivamente LE-10 ed LE-20) di semi di lino macinati ed estrusi. Gli effetti derivanti dalle diverse diete sono stati valutati mediante esecuzione di biopsie epatiche ecoguidate. Sono stati prelevati campioni da 9 animali/gruppo (80 gg dopo il parto) poi

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Biopatologiche ed Igiene delle Produzioni Animali e Alimentari

<sup>2</sup>Dipartimento di Patologia Diagnostica e Clinica Veterinaria, Università degli Studi di Perugia

Indirizzo per la corrispondenza:  
Dr. Massimo Trabalza-Marinucci  
Via S. Costanzo, 4  
06126 - Perugia  
Tel. 0755857687  
Fax: 0755857764  
E-mail: massimo.trabalza@unipg.it

sottoposti ad esame istologico. Il reperto osservato in tutte le biopsie – tranne una – era rappresentato da degenerazione cellulare idropico-vacuolare relativamente grave e diffusa nei gruppi CTR ed LE-10; nel gruppo LE-20 i danni cellulari sono apparsi tendenzialmente di entità inferiore. Nei campioni esaminati non sono state rilevate degenerazioni di tipo steatosico, ad esclusione di un soggetto appartenente al gruppo CTR (danno di media entità). I risultati indicano che la somministrazione prolungata di semi di lino estruso durante il periparto in pecore in lattazione non produce effetti negativi sulla funzionalità epatica.

## Introduzione

Gli effetti benefici sulla composizione acidica di latte e formaggio conseguenti alla somministrazione di lino nella dieta degli animali sono stati riportati da diversi autori (1-4); tuttavia, sono pochi i dati disponibili riguardanti gli effetti che diete addizionate di lino possono avere a livello metabolico, in particolare nella specie ovina.

La somministrazione di diete contenenti lino intero (33 e 110 g/kg di SS in diete *pre-partum* e *post-partum*, rispettivamente) rispetto a diete prive di supplementi lipidici o addizionate con acidi grassi saturi, da 6 settimane prima del parto, è stata utile nell'incrementare la concentrazione epatica di glucosio e nel ridurre quella dei trigliceridi in bovine pluripare dopo il parto (5).

Lo scopo di questo lavoro è stato quello di studiare gli effetti indotti dalla somministrazione prolungata

di mangimi arricchiti con lino estruso sulla funzionalità epatica di ovini in lattazione.

## Materiali e metodi

Sessanta pecore pluripare sono state sincronizzate mediante applicazione di spugne intravaginali impregnate con cronolone e fecondate con monta naturale; circa 20 giorni prima della presunta data di parto, sono state suddivise in 3 gruppi da 20 soggetti ciascuno, stabulati in paddock dotati di accesso all'esterno. I diversi gruppi hanno assunto fieno di medica (proteina grezza: 12,3%; NDF: 53,4% sul tal quale) come base foraggiera e tre diversi concentrati formulati in modo da risultare isoenergetici ed isoproteici (Tab. 1): un mangime di controllo privo di lino (CTR) e due diete arricchite con diversi livelli (10 e 20% sul tal quale, indicate rispettivamente

come LE-10 ed LE-20) di semi di lino macinati ed estrusi. La quantità di mangime assunta dagli animali era compresa tra 400 e 800 g/capo/giorno a seconda del momento fisiologico (fine gravidanza, lattazione).

Al fine di monitorare gli effetti indotti dalla somministrazione a lungo termine di mangimi contenenti lino estruso sono stati raccolti dei campioni di tessuto epatico. I campioni sono stati prelevati in 9 animali per gruppo, 80 giorni circa dopo il parto (20 giorni dopo lo svezzamento degli agnelli).

Il prelievo dei campioni biotici è stato eseguito secondo le pratiche medico-veterinarie comunemente applicate in campo clinico che hanno previsto, dopo la localizzazione mediante ultrasonografia del sito di campionamento nella porzione destra del fegato, l'infiltrazione della cute e dei piani sottostanti con una soluzione di lido-

caina al 2% e la successiva raccolta *trans*-cutanea dei frammenti biop-  
tici mediante ago biopistico per tes-  
suti molli di tipo *tru-cut* (lunghez-  
za 9 cm x 14 gauge).

I campioni sono stati fissati in for-  
malina neutra tamponata al 10% e  
processati secondo le procedure  
standard. Sono state allestite se-  
zioni seriali di 3 µm di spessore  
successivamente colorate con ema-  
tossilina-eosina (E-E).

Sono state sottoposte a valutazio-  
ne istopatologica 27 biopsie epati-  
che, 9 per ogni gruppo sperimen-  
tale. I parametri presi in conside-  
razione hanno fatto riferimento  
alla presenza di lesioni degenerati-  
ve di tipo idropico-vacuolare e  
steatosico e di infiltrati infiamma-  
tori; per la valutazione è stato as-  
segnato un punteggio variabile da  
0 a 3 in base alla gravità del qua-  
dro rilevato.

Gli alimenti somministrati agli  
animali sono stati campionati ad  
intervalli regolari ed analizzati se-  
condo le metodiche ufficiali  
ASPA (6). Il profilo lipidico dei  
mangimi (Tab. 2) è stato determi-  
nato mediante gas-cromatografia  
previa estrazione dei lipidi secon-  
do il metodo descritto da Folch et  
al. (7).

## Risultati e discussione

Il reperto osservato in tutte le biop-  
sie era rappresentato da una dege-

**Tabella 1** - Composizione chimico-centesimale (dati espressi in % sul tal quale) dei mangimi impiegati

Variabile	Mangime		
	CTR	LE-10	LE-20
Umidità	11,84	11,02	10,60
Proteina grezza (N x 6,25)	16,66	16,43	16,75
Lipidi grezzi	3,63	7,53	11,70
Ceneri	6,77	7,23	7,34
NDF	17,38	20,30	26,13
ADF	5,26	6,77	8,97
ADL	1,22	1,62	2,71
Ca	1,39	1,47	1,55
P	0,65	0,68	0,70

NDF: fibra neutro detersa; ADF: fibra acido detersa; ADL: lignina acido detersa

**Tabella 2** - Profilo lipidico delle diete sperimentali somministrate agli ovini (valori espressi in g/100 g di acidi grassi)

Variabile	Mangime		
	CTR	LE-10	LE-20
C16:0	16,51	11,19	9,54
C18:0	2,22	3,00	3,29
C18:1 n-9	23,80	19,71	18,12
C18:2 n-6	51,31	30,75	22,95
C18:3 n-3	4,44	33,12	43,48

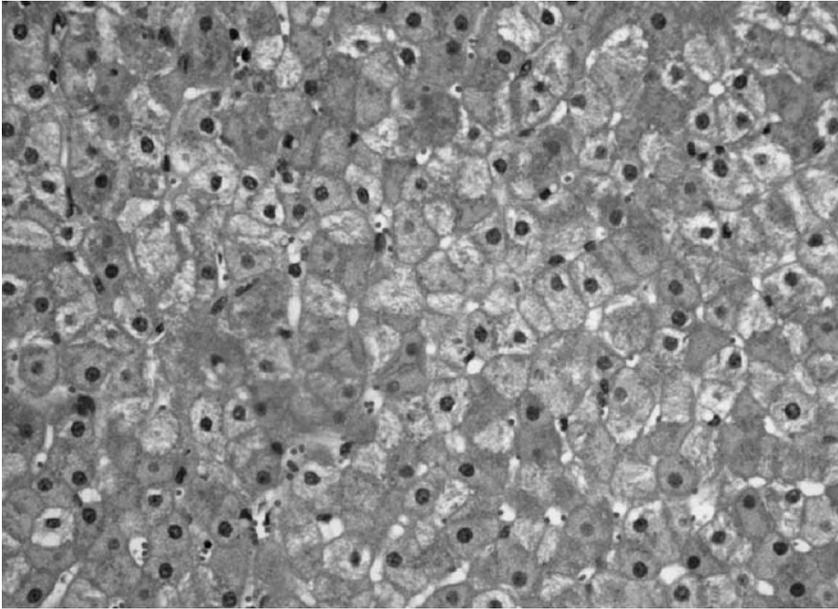
C16:0, acido palmitico; C18:0 acido stearico; C18:1 n-9, acido oleico; C18:1 n-6, acido li-  
noleico; C18:3 n-3, acido linolenico

nerazione cellulare di tipo idropico-  
vacuolare relativamente grave e dif-  
fusa nelle pecore appartenenti ai  
gruppi CTR ed LE-10 (Fig. 1),  
senza possibilità di distinguere nel-  
l'ambito degli stessi delle differen-  
ze; nel gruppo LE-20 i danni cellu-  
lari sono apparsi tendenzialmente  
di entità inferiore (Fig. 2). Nella

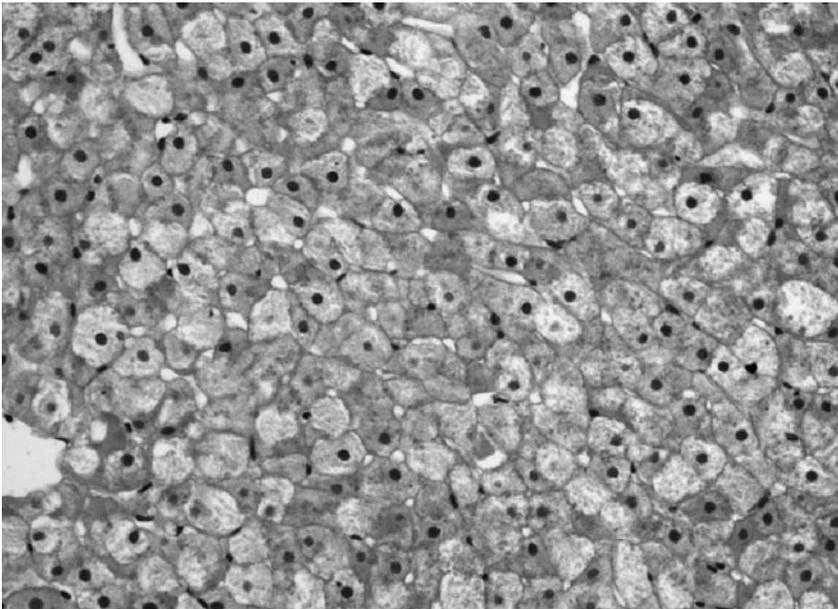
maggior parte dei prelievi non sono  
state rilevate degenerazioni di tipo  
steatosico, con l'esclusione di un  
soggetto appartenente al gruppo  
CTR in cui era presente un danno  
di media entità (Fig. 3). Non sono  
stati osservati eventi infiammatori  
degni di rilievo.

Le indagini istopatologiche hanno

**Figura 1** - Lieve e diffusa degenerazione idropico-vacuolare epatocitaria. Medio ingrandimento, E-E (gruppo LE-20)



**Figura 2** - Grave e diffusa degenerazione idropico-vacuolare epatocitaria. Medio ingrandimento, E-E (gruppo LE-10)



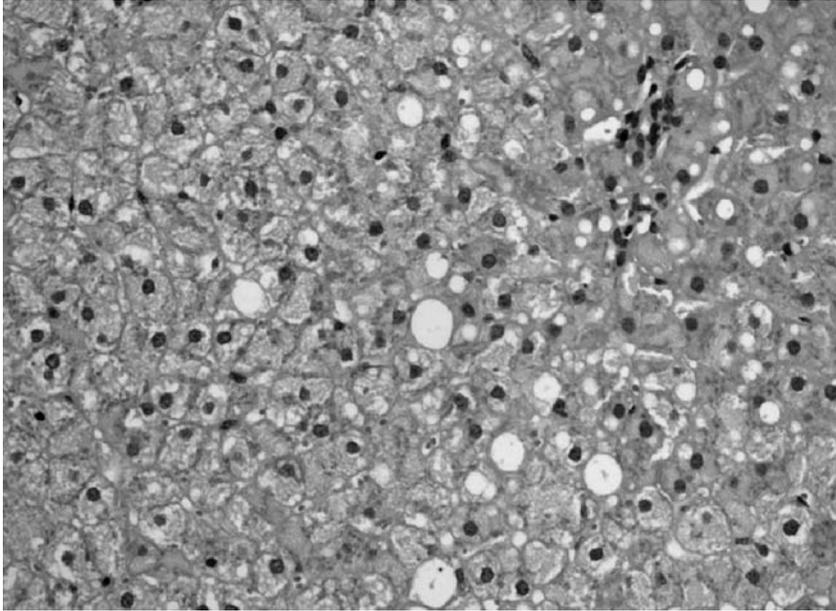
confermato i risultati ottenuti dall'esame dei principali parametri emato-chimici (dati non riportati) che hanno indicato l'assenza di effetti patologici della dieta sul metabolismo lipidico ed epatico degli animali.

In letteratura i dati sperimentali relativi all'effetto della somministrazione di lino sul metabolismo epatico sono contrastanti. Alcuni autori sostengono che la somministrazione di lino (in forma di farina) nella dieta di ratti sia in grado di ridurre l'infiltrazione lipidica del fegato (8). Risultati analoghi sono stati ottenuti anche da Makni et al. (9) in topi ipercolesterolemici in seguito alla somministrazione di semi di lino e zucca; gli acidi grassi linoleico ed alfa-linolenico nel topo sembrerebbero avere, oltre ad una funzione ipolipidemizzante, anche un effetto preventivo nei confronti dell'accumulo di grassi negli epatociti.

Al contrario Gaiva et al. (10) hanno osservato che l'aggiunta di acidi grassi di tipo n-3 nella dieta di ratti Wistar, pur avendo effetto ipolipidemizzante, non contrastava efficacemente l'accumulo di lipidi a livello epatico; gli autori hanno verificato infatti che la presenza di tali acidi grassi nella dieta sembrava promuovere modificazioni metaboliche tali da favorire l'accumulo di grassi nel fegato.

I risultati ottenuti nella presente sperimentazione suggeriscono che

**Figura 3** - Moderata e focale steatosi associata a lieve e diffusa degenerazione idropico-vacuolare epatocitaria. Medio ingrandimento, E-E (gruppo CTR)



la somministrazione prolungata di semi di lino estruso nel corso del periparto in pecore in lattazione non produce effetti negativi sulla funzionalità epatica.

### Bibliografia

1. Goodridge, J, Ingalls JR, Crow GH. Transfer of omega-3 linolenic acid and linoleic acid to milk fat from flaxseed or canola protected with formaldehyde. *Can J Anim Sci* 2001; 81: 525-32.
2. Petit HV. Digestion, milk production, milk composition, and blood composition of dairy cows fed whole flaxseed. *J Dairy Sci* 2002; 85: 1482-90.
3. Mustafa AF, Chouinard PY, Christensen DA. Effects of feeding micronised flaxseed on yield and composition of milk from Holstein cows. *J Sci Food Agric* 2003; 83: 920-6.
4. Mughetti L, Sinesio F, Acuti G, et al. Integration of extruded linseed into dairy sheep diets: effects on milk composition and quality and sensorial properties of Pecorino cheese. *Animal Feed Science and Technology* 2012; 10.1016/j.anifeedsci.2012.09.005
5. Petit HV, Palin MF, Doepel L. Hepatic lipid metabolism in transition dairy cows fed flaxseed. *J Dairy Sci* 2007; 90: 4780-92.
6. Martillotti E, Antongiovanni M, Rizzi L, Santi E, Bittante G. *Metodi di analisi per la valutazione degli alimenti di impiego zootecnico*, 1987.
7. Folch J, Lees M, Stanley GHS. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 1957; 226: 497-509.
8. Bhathena SJ, Ali AA, Haudenschild C, et al. Dietary flaxseed meal is more protective than soy protein concentrate against hypertriglyceridemia and steatosis of the liver in an animal model of obesity. *J Am Coll Nutr* 2003; 22 (2): 157-64.
9. Makni M, Fetoui H, Gargouri NK, et al. Hypolipidemic and hepatoprotective effects of Flax and Pumpkin seed mixture rich in n-3 and n-6 fatty acids in hypercholesterolemic rats. *Food and Chemical Toxicology* 2008; 46: 3714-20.
10. Gaiva MH, Couto RC, Oyama LM, et al. Diets rich in polyunsaturated fatty acids: effect on hepatic metabolism in rats. *Nutrition* 2003; 19: 144-9.