Valutazione dei recettori per gli oppioidi negli spermatozoi della Spigola

written by Rivista di Agraria.org | 7 agosto 2014
di Rita Pupino

Spigola o Branzino *Dicentrarchus labrax*

Le Spigole

Le Spigole (Dicentrarchus labrax Linneo, 1978), fanno parte dell'ordine dei Perciformi, famiglia Moronidae e genere Dicentrarchus.
I Perciformi (dal greco perke= persico, dal latino forma= forma), costituiscono l'ordine di pesci fra i più vasti (comprende 156 famiglie con più di 7000-8.000 specie).
Le spigole vengono allevate comunemente da molte aziende ittiche. In Italia i principali centri di produzione sono localizzati nelle Valli dell'alto Adriatico e nei mari del sud Italia.
La spigola o branzino presenta il corpo allungato, a sezione trasversale ellittica, leggermente compressa lateralmente. La testa è grande, presenta gli occhi grandi, una bocca ampia e mandibola prominente. Numerosi denti sottili, sono disposti in più serie su mascelle, vomere (di forma subtriangolare) e palatino. Il bordo mascellare è prolungato all'indietro fino al bordo anteriore dell'orbita oculare, mentre il preopercolo presenta il bordo posteriore dentellato e il bordo inferiore provvisto di spine.
Il corpo è ricoperto da squame ctenoidi di medie dimensioni e lo spazio infraorbitale è coperto da squame cicloidi.
Il pesce presenta due pinne dorsali distanti fra di loro; il nome del genere *Dicentrarchus* deriva proprio dalla presenza di due pinne dorsali. La pinna caudale è forcuta, mentre quelle ventrali hanno il primo raggio robusto e spiniforme; infine le pinne pettorali sono formate solo da raggi molli.
Per quanto riguarda la colorazione la spigola ha il dorso di colore grigio o grigio verdastro, i fianchi grigi con riflessi argentati, mentre il ventre è bianco. La livrea varia a seconda dell'ambiente, se si trova nelle lagune negli allevamenti appare di colore verdastra, mentre nelle acque dolci è grigio argenteo. Sul margine dell'opercolo è presente una macchia nera o possono essere presenti più macchiette concentrate sul margine anteriore; negli stadi giovanili, sul dorso e sui fianchi sono cosparsi di piccole macchie scure; le pinne sono chiare o grigie, con sfumature nerastre.
La spigola macchiata si distingue da quella comune per la presenza di punteggiature brune sparse su tutto il corpo (per questo chiamata "macchiata"), ha il corpo più tozzo, l'occhio più circolare e il bordo del preopercolo seghettato; invece la linea laterale è formata da scaglie più grandi (sulla linea si trovano 60-50 scaglie contro le 71-72 della spigola). Questo pesce per molti anni è stato identificato come la forma giovanile della spigola comune.
Il branzino è comune nel Mediterraneo e nel Mar Nero, il suo areale si estende dalle coste atlantiche del Senegal fino alla Norvegia; è gregaria in fase giovanile, diviene solitaria da adulta. Gli adulti sono predatori voracissimi, soprattutto di pesci, crostacei ad anellidi.
La Spigola è una specie "eurialina", resiste quindi a forti variazioni di salinità. Gli ambienti lagunari e di foce rappresentano l'habitat ideale per gli stadi larvali, con una successiva migrazione degli avannotti verso i fiumi nella ricerca di cibo, inseguendo gruppi di cefali e piccole anguille. La rimonta inizia a marzo con picchi nel mese di Aprile-Maggio; lungo le coste toscane, i movimenti avvengono nelle ore crepuscolari e con temperature superiori a 15-16°C. Soprattutto a causa delle variazioni di temperatura, questa specie effettua altre migrazioni: durante la stagione invernale essa popola le acque nord-mediterranee (5-6°C), mentre in estate si riscontra nelle acque sud-mediterranee (27°C).
La spigola è gonocorica (unisessuata) e il raggiungimento della maturità sessuale dipende più dalla taglia che dall'età. Il dimorfismo sessuale è poco pronunciato: le differenze tra i due sessi risiedono unicamente nel fatto che le femmine presentano dimensioni leggermente maggiori e una forma della testa più appuntita. La riproduzione

avviene in autunno-inverno e le uova vengono generalmente deposte ad una profondità di 10 metri; uova e spermatozoi vengono rilasciati in acqua e la fecondazione è esterna. Le uova sono trasparenti e, poiché hanno un peso specifico minore dell'acqua, galleggiano (vengono prodotte in misura di circa il 12% del peso corporeo della femmina). La temperatura dell'acqua è il fattore che maggiormente influenza lo sviluppo e la crescita delle larve: le uova devono essere incubate ad una temperatura di 13°C e l'allevamento avviene a 15°C. La schiusa dell'uovo avviene grazie all'azione di un enzima, secreto dalle ghiandole situate nella testa dell'embrione, che va a rompere il corion.
Le spigole vengono allevate comunemente da molte aziende ittiche. In Italia i principali centri di produzione sono localizzati nelle Valli dell'alto Adriatico e nei mari del sud Italia.

Riproduzione

In acquacoltura con il termine "riproduzione controllata" si intende l'insieme delle tecniche rivolte a controllare l'intero ciclo riproduttivo delle specie allevate, in grado di garantire una produzione costante e programmabile di uova, larve e giovanili.
Queste tecniche costituiscono una recente acquisizione dell'acquacoltura moderna.
In acquacoltura con il termine "riproduzione controllata" si intende l'insieme delle tecniche rivolte a controllare l'intero ciclo riproduttivo delle specie allevate, in grado di garantire
una produzione costante e programmabile di uova, larve e giovanili. Queste tecniche costituiscono una recente acquisizione dell'acquacoltura moderna.

Stress

In acquacoltura intensiva, i pesci possono essere soggetti ad uno stress acuto ripetitivo a causa delle attività svolta in azienda, come l'alimentazione artificiale, fase dello svezzamento, manipolazione, selezione, trasporto e trattamenti profilattici, oppure si può avere stress cronico se la qualità dell'acqua non è buona o viene a deteriorarsi o se la densità di allevamento è eccessiva (Cataudella e Bronzi, 2001; Overli et al., 2004).
Tutti questi fattori portano allo stress, il quale si manifesta in tre fasi, ossia tre tipi di risposte fondamentali:
In acquacoltura intensiva, i pesci possono essere soggetti a due tipi di stress: acuto o cronico.
Tutti questi fattori portano allo stress, il quale si manifesta in tre fasi, ossia tre tipi di risposte fondamentali:
– Risposta primaria: si attivano alcune aree del cervello che determinano l'aumento della secrezione di catecolamine (l'adrenalina, noradrenalina e dopamina), corticosteroidi (cortisolo e aldosterone) e oppiacei come la le endorfine (Aiudi et al., 2005).
– Risposta secondaria: si ha l'aumento della frequenza cardiaca e maggiore fabbisogno di ossigeno per la presenza di queste sostanze.
– Risposta terziaria: i danni all'organismo ed alla popolazione incidono sulla crescita, sulla riproduzione e determinano abbassamento delle difese immunitarie che può portare ad una minor resistenza alle malattie o in casi estremi può sopraggiungere la morte (Guerriero e Ciarcia 2006).

Oppiodi endogeni e riproduzione

I peptidi oppioidi endogeni (EOP) appartengono alla classe di neuromodulatori derivanti dalla proopiomelanocortina (POMC) (Danielson et al., 1999; Stefano et al., 1999).
I recettori oppioidergici (OR) appartengono alla famiglia dei recettori a 7 domini transmembrana accoppiati a proteine G (GCPR). Come noto si riconoscono tre famiglie di recettori per gli oppioidi chiamate rispettivamente: Mu (MOR), Kappa (KOR) E Delta (DOR).
I recettori oppioidergici (OR) appartengono alla famiglia dei recettori a 7 domini transmembrana accoppiati a proteine G (GCPR) (Waldhoer et al., 2004). Come noto si riconoscono tre famiglie di recettori per gli oppioidi chiamate rispettivamente: Mu (MOR), Kappa (KOR) E Delta (DOR).
I recettori sono presenti nelle vie che controllano la trasmissione nocicettiva presenti anche in altre aree cerebrali e in vie gastrointestinali. Gli OR attraverso proteina G, di tipo inibitorio G, inibiscono in maniera sinergica

eccitabilità neuronale.
Gli EOP esercitano un ruolo fondamentale nell'omeostasi dell'organismo e determinano:
Aumento dei seguenti ormoni: CFR , GH, PRL e un abbassamento del GnRh, ossitocina e TSH (Aguggini et al., 2000).

Obiettivi

Attualmente l'allevamento della spigola (*D. Labrax*), è considerata una delle linee produttive più importanti e interessanti del Mediterraneo per la qualità della loro carne (Bodington, 2000), infatti la ricerca si è concentrata sui meccanismi riproduttivi del branzino, importante specie ittica dal punto di vista commerciale.
Da recenti studi, è emerso che in caso di stress si verifica un aumento degli oppioidi endogeni anche nelle specie ittiche. La loro presenza incide negativamente sia sulla crescita che sulle prestazioni riproduttive causando un ingente danno economico per i produttori di acquacoltura. I fattori stressogeni, causa dell'allevamento in cattività, portano ad un adattamento che comporta un eccessiva sintesi endogena di oppioidi. Le ricerche dimostrano che gli oppioidi endogeni influenzano negativamente l'asse ipotalamo-ipofisi-gonadi dei Vertebrati.
La nostra ricerca valuta la presenza dei recettori Mu, Delta e Kappa degli oppioidi endogeni negli spermatozoi della spigola (*Dicentrarchus Labrax*).

Materiali e metodi

La sperimentazione è stata condotta su spigole allevatepresso la "Panittica Pugliese", sito in
Torre Canne (Brindisi), a cavallo fra la fine del 2009 e l'inizio del 2010.

Risultati

La localizzazione e l'espressione di DOR, MOR e KOR è stata valutata mediante immunofluorescenza indiretta.
Dai risultati si evince che l'uso di un anticorpo secondario FITC coniugato mostra una reazione positiva tra ciascun recettore e il suo anticorpo specifico e ciò viene
evidenziato da una macchia verde presente sugli spermatozoi, I tre recettori non sono distribuiti omogeneamente.

Discussione e conclusione

Secondo alcune ricerche risulta che i peptidi oppioidi endogeni (EOP) influiscano sulla motilità degli spermatozoi (Fraioli et al., 1984; Subiran et al., 2008, 2009). Infatti è stata dimostrata la presenza dei recettori per le endorfine sugli spermatozoi di diverse specie animali (Albrizio et al., 2005; Agirregoitia et al., 2006; Albrizio et al., 2006). La localizzazione dei recettori oppioidergici non differisce solo tra i pesci e i mammiferi, ma si possono riscontrare notevoli differenze nei Teleostei tra le diverse famiglie.
Nella spigola (*DicentrarchusLabrax*, famiglia Moronidae), i recettori DOR, KOR e MOR sono localizzati nella cellula, ed è interessante notare che la distribuzione degli OR nella famiglia Moronidae è simile a quella umana (Agirregoitia et al., 2006).
Nei differenti ordini di pesci, inclusi i Perciformes, si è dimostrato, attraverso studi e ricerche, l'importanza del flusso di Ca2+ sulla motilità iniziale degli spermatozoi (Alavi and Cosson, 2006; Cosson et al., 2008). Il movimento del Ca2+ è regolato dai canali Ca2+ voltaggio dipendenti (Cosson et al., 1991 a, b; Detweiler e Thomas, 1998) compresi gli T- and L-type (Tanimoto et al., 1994; Kho et al., 2001), che vengono bloccati quando gli EOP si legano ai loro OR (Sher et al., 1996; Rawls et al., 1999; Russel et al., 1999; Negri, 2004). Nell'uomo la presenza di EOP nel liquido seminale (Fraioli et al., 1984) e la localizzazione di OR sulle cellule spermatiche, ha portato ad ipotizzare che gli EOP potrebbero influenzare l'afflusso Ca2+. La presenza nel liquido seminale del pesce di EOP non è stata ancora dimostrata, però, la presenza di OR sulle loro cellule spermatiche lascia supporre che queste possono

essere influenzate dall'attività degli oppioidi.
La riproduzione dei pesci in cattività è alla base dello sviluppo dell'acquacoltura (Basurco e Abellán, 1999): evitando di avere un eccessivo impatto della pesca sugli stock ittici selvatici tramite fornitura direttamente del mercato o per l'ulteriore incremento negli allevamenti ittici (Pauly et al., 2002; Dulvy, 2003). Purtroppo i diversi fattori di stress (sovraffollamento, ambiente non ottimale e i relativi problemi di alimentazione) sono comuni in condizioni di cattività, e lo stress compromette la riproduzione dei pesci, ad esempio nella trota iridea (Oncorhynchus mykiss) (Contreras-Sánchez et al., 1998) incide negativamente sulle performance produttive e riproduttive. Nei pesci lo stress inerente la movimentazione e il confinamento presso l'allevamento, attiva l'asse ipotalamo -ipofisi-gonadi/rene inducendo un aumento delle concentrazioni plasmatiche di ACTH, α-MSH e β-endorfine (Sumpter et al., 1985). Gli EOP di solito aumentano in seguito allo stato di stress a tal fine la presenza degli OR nelle cellule spermatiche, può farci ipotizzare un probabile effetto negativo di questi peptidi sulla funzionalità dei gameti maschili andando a compromettere la riproduzione.
I risultati ottenuti attraverso questo studio hanno dimostrato per la prima volta la presenza dei recettori per gli oppioidi negli spermatozoi dei Moronidae appartenenti all'ordine dei Perciformes.
Poiché lo stress ha un forte impatto sulla riproduzione del pesce in cattività attraverso l'azione dei peptidi oppioidi endogeni sull'asse ipotalamo-ipofisi-gonadi, è ragionevole pensare che possa anche modificare la capacità fertilizzante dello spermatozoo attraverso un'alterazione dei canali del calcio.
Sarà interessante valutare gli effetti degli EOP su alcuni parametri cinetici nelle cellule spermatiche delle specie ittiche mediante prove funzionali, attraverso l'impiego di agonisti e antagonista del MOR, DOR e KOR aggiunti al mezzo di coltura, in modo da valutare indirettamente la capacità di legame di ciascun recettore può essere valutato indirettamente.
Questo studio rappresenta il punto di partenza per poter capire in che modo gli oppioidi endogeni influiscano sulla riproduzione attraverso la cellula spermatica inficiandone la capacità fecondante.

Sintesi Tesi Sperimentale: Rita Pupino
Valutazione dei recettori per gli oppioidi negli spermatozoi della Spigola (*Dicentrarchus Labrax)*
Relatore: Giulio Aiudi

Rita Pupino, laureata in Scienze della Maricoltura, Acquacoltura ed Igiene prodotti ittici alla Facoltà di Medicina Veterinaria di Bari, è iscritta al secondo anno del Laurea Magistrale in Scienze e Tecnologie Agrarie di Firenze. E-mail: pupinorita@hotmail.it

Lo Yogurt e altri alimenti fermentati
Angel Colli – Edizioni Tecniche Nuove
Quasi tutti i popoli della terra hanno sviluppato, nel corso dei secoli, tecniche di fermentazione...
Acquista online >>>