https://doi.org/10.52326/ismv2024.01
CZU: 619:616-092.19:636.2

# CAPACITATEA ANTIOXIDANTĂ TOTALĂ, INDICII DE INTOXICAȚIE ENDOGENĂ, PRODUSE PROTEICE DE OXIDARE AVANSATĂ ȘI PRODUSE FINALE DE GLICARE AVANSATĂ, LA VACI ÎN PERIOADA DE TRANZIȚIE

**Valeriu COCIU, Savva BALANESCU, Viorica GURDIȘ, Eugen VOINIȚCHI, Elena CEBAN, Dmitrii MAȚENCU, Mihail MOROZ, Eugen CARTAC**
*Universitatea Tehnică a Moldovei*

**Abstract.** This study aimed to evaluate the total antioxidant capacity (TAC-cuprac) in correlation with the level of endogenous intoxication products, the level of advanced oxidation protein products of and the level of advanced glycation end products, in dairy cows during the transition period. The TAC-cuprac and the indices of endogenous intoxication (MMM and NS) changed significantly after calving, expressing themselves by increasing the values. Plasma concentrations of these parameters, at 10 days postpartum, increased by 15%, 22% and 18%, respectively, compared to the pre-partum level. At the 3rd investigation, the level of these parameters decreases by about 17.5-20.2% compared to the previous one, reaching slightly below the ante-partum values by 8.0%, 2.0% and 2.8 %, respectively. The other indices, AOPP and AGEs had a tendency to increase gradually compared to the ante partum level, reaching the rate of 14% and 38.2%, respectively, at the last research, a fact that can be explained by the increase in metabolic intensity with the start of milk secretion.

**Keywords:** cows, antioxidants, proteins, oxidation, glycation products.

## INTRODUCERE

În concentrații scăzute, speciile reactive de oxigen (SRO) sunt implicate în numeroase evenimente fiziologice (Dröge W., 2002), dar pot fi dăunătoare pentru celulele vii dacă sunt prezente în cantități excesive (Chauhan S. et al., 2014) și nu pot fi inactivate de antioxidanții din organism. Dezechilibrul dintre pro-oxidanți și antioxidanți duce la stres oxidativ (SO), provocând în cele din urmă deteriorarea macromoleculelor (Celi, P. and Gabai, G., 2015).

Stresul oxidativ (SO) poate deteriora practic toate moleculele biologice (ADN, ARN, colesterol, lipide, carbohidrați și proteine). Oxidarea acestor macromolecule produce diverși produși finali care pot fi măsurați pentru a evalua SO *in vivo*. Proteinele sunt moleculele cele mai susceptibile la deteriorarea oxidativă în celule, deoarece acestea sunt mai degrabă catalizatori decât mediatori ai reacțiilor (Dalle-Donne I). Proteinele au funcții biologice variate și unice, iar oxidarea lor poate duce la modificări structurale și ale funcțiilor lor (Celi, P. and Gabai, G., 2015).

Oxidarea proteinelor poate fi monitorizată prin studierea fragmentării moleculelor și a produselor oxidării catenei laterale a acestora. Produsele proteice de oxidare avansată (PPOA) sunt markeri ai oxidării proteinelor care au fost descriși și caracterizați pentru prima dată în plasma pacienților cu uremie (Witko-Sarsat et al., 1996). Studii recente au arătat că concentrația plasmatică de PPOA poate fi asociată cu răspunsului proinflamator și considerată un indicator acut al ***inflamației și stresului oxidativ*** la vacile de lapte (Celi et al., 2011; Celi P., 2012).

De rând cu cele menționate, în ultimele 3 decenii, s-au acumulat din ce în ce mai multe dovezi, care susțin, că și produsele finale de glicare avansată (PFGA) contribuie la creșterea stresului oxidativ și a inflamației (Uribarri J., 2015). Procesul de glicare modifică structura și funcția proteinelor, ducând la disfuncționalitatea proteinelor. Glicația este reacția non-enzimatică dintre o proteină și un zahăr reducător, cum ar fi glucoza și fructoza. Adăugarea de zaharuri reducătoare la grupele amine din proteine duce la formarea unei baze Schiff, care se rearanjează pentru a forma un produs și mai stabil. Proteinele glicate induc citotoxicitatea prin legarea de receptori, iar efectele glicării sunt deosebit de dăunătoare în bolile legate de vârstă, cum ar fi diabetul, arterioscleroza, osteoporoza ș.a. (Hori M. et. al., 2012). Se remarcă, că PFGA sunt importante pentru știința clinică, deoarece sunt asociate cu SO și inflamația, procese care în cele

din urmă cauzează majoritatea bolilor cronice, inclusiv boli cardiovasculare, diabet, boli renale cronice și boli neuro-degenerative. (Vlassara et Celi, 2014). PFGA au fost recunoscute pentru prima dată ca compuși endogeni care s-au format în exces în diabet din cauza hiperglicemiei. Acum este clar că pot fi generate și în condiții de SO crescut, chiar și în absența hiperglicemiei (Uribarri J. et al., 2015).

Conținutul de molecule cu masa medie (MMM**)** este un indice integral, dar destul de informativ, deoarece substanțele cu greutatea moleculară de 300-5.000 Da (și în primul rând peptide cu lanț scurt) sunt responsabile pentru efectele negative care, în general, sunt numite intoxicație endogenă (Wang X., Quinn P., 2010). Peptidele cu greutate moleculară medie, produse ale proteolizei diferitelor proteine, sunt activate în caz de inflamație, și pot bloca receptorii celulelor, pot lega centrii activi ai moleculei de albumină concurând cu peptidele reglatoare și perturbând astfel procesul de reglare umorală (Sidelinikova V. et al., 2015). De rând cu evaluarea MMM, ca indiciu al intoxicației endogene, s-a determinat și nivelul substanțelor necrotice (SN), metodă bazată pe determinarea nivelului de nucleotide acidosolubile în plasmă (Сыромятникова Е.Д., et al. (2002).

## MATERIAL ȘI METODE

Cercetarea s-a desfășurat pe vaci de rasă Simental, Flecvieh (carne/lapte), aflate la a doua fătare, cu nivelul producției de lapte de 20-25 kg pe zi, în perioada investigației. Studiul a cuprins perioada fiziologică de tranziție a vacilor, începând cu 2 săptămâni înainte de parturiție și a continuat pe parcursul a 1,5 luni după fătare. Cu 14 zile înainte de fătare, la 10, 30 și 45 zile după parturiție de la animale s-au recoltat probe de sânge pentru examen biochimic. În probele de plasmă au fost testați următorii indici, precum capacitatea antioxidantă totală (CAT-cuprac) (Apak, R. et al., 2004), produse proteice de oxidare avansată (PPOA) (Witko-Sarsat et al., 1996), produse finale de glicare avansată (PFGA) (Wróbel K, et al., 1997), masa moleculelor medii (MMM) (Chernitsky A. et al., 2014) și substanțe necrotice (SN) (Сыромятникова, Е. et al., 2002).

Rezultatele au fost supuse analizei statistice prin determinarea mediei aritmetice (M), deviației standard (m), coeficientului de corelație (r) și coeficientul de semnificație statistică (t-Stiudent).

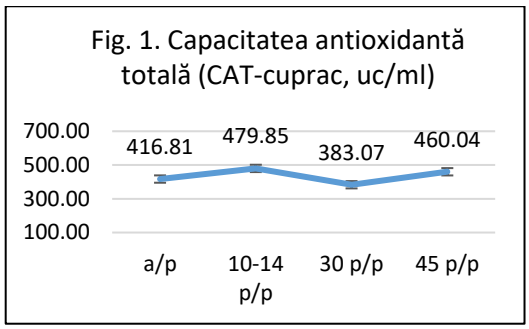
## REZULTATE ȘI DISCUȚII

În timpul parturiției și în timpul lactației timpurii vacile suferă modificări fiziologice drastice. Perioada de tranziție este critică pentru sănătatea lor și este o perioadă în care vacile par să fie mai sensibile la stresul oxidativ (Bernabucci et al., 2002), care poate contribui la diminuarea funcției imune și la declanșarea bolilor metabolice peri parturiente (LeBlanc S., 2013; Lykkesfeldt și Svendsen, 2007). Stresul oxidativ în organismul viu rezultă dintr-un dezechilibru între producția de metaboliți reactivi ai oxigenului (MRO) și capacitatea mecanismului antioxidant de a neutraliza acești metaboliți. Detectarea daunelor cauzate de MRO și protecția împotriva acestora au devenit din ce în ce mai importante în medicina clinică ca instrument complementar în evaluarea stării metabolice la vacile de lapte (Castillo et al., 2005).

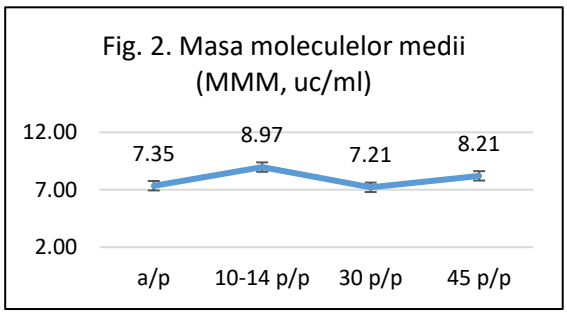
Scopul acestui studiu a fost de a evalua corelația dintre statusul antioxidant la vaci în perioada de tranziție în raport cu dinamica nivelului de intoxicație endogenă. Acest obiectiv s-a realizat prin evaluarea capacității antioxidante totale (CAT-cuprac) și a parametrilor care caracterizează starea de intoxicație endogenă, precum produse proteice de oxidare avansată (PPOA), produse finale de glicare avansată (PFGA), molecule cu masa medie (MMM) și substanțe necrotice (SN).

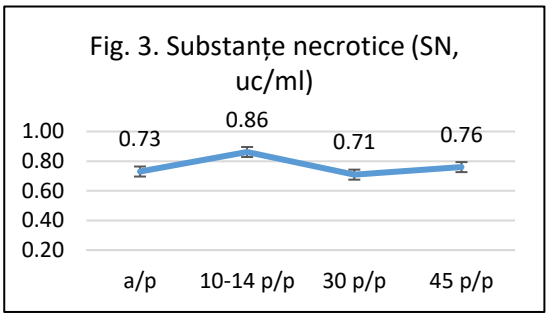
Reieșind, din rezultatele obținute se poate constata, că capacitatea antioxidantă totală (CAT-cuprac) și indicii de intoxicație endogenă, precum MMM și SN, s-au modificat semnificativ după fătare (10 zile p/p). Concentrațiile plasmatice ale acestor parametri au crescut cu 15 %, 22 % și 18 %, respectiv, în comparație cu nivelul de înainte de fătare (fig. 1, 2 și 3.). Prin urmare, pentru perioada de după parturiție (14 zile p/p), este caracteristică creșterea valorilor atât a capacității antioxidante, cât și a indicilor care atestă acumularea substanțelor din categoria toxinelor

endogene, MMM și SN. Această dinamică, este consecința modificărilor neuro-hormonale legate de procesul de parturiție, care în sine, este considerat un factor de stres fiziologic, dar și de procesele fiziologice de refacere a uterului, în perioada imediat următoare. Pe de altă parte, modificările respective sunt condiționate și de intensificarea metabolismului, în vederea asigurării funcției de secreție a laptelui.

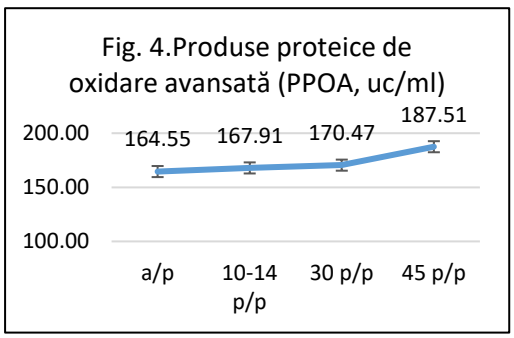


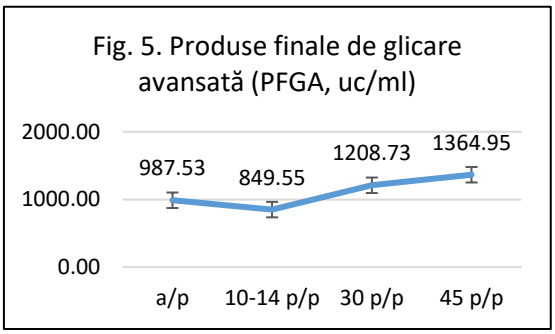

La investigația a 3-a (30 de zile) nivelul acestor parametri scade cu circa 17,5-20,2 % în comparație cu cel anterior, ajungând puțin mai jos de valorile ante-partum cu 8,0 %, 2,0 % și 2,8%, respectiv. Către ultima cercetare (45 zile p/p) dinamica acestor indici înregistrează o creștere ne semnificativă de doar 0,1 %, în cazul CAT și SN, și o creștere de circa 15,7 % în cazul MMM.




Tot odată, valorile acestora rămân la un nivel mai jos, comparativ cu cercetarea a II (10 zi p/p) cu 4,2 %, 8,5 % și 11,7 %, respectiv. Prin urmare se poate spune că valorile indicilor menționați, după 30 zile de la fătare se stabilizează, comparativ cu nivelul înalt care s-a constatat după parturiție (14 zile p/p). Mai mult ca atât, în dinamica acestor parametri, vizând întreaga perioadă de cercetare, s-au constatat corelații pozitive pentru CAT și MMM (r=0,9510), pentru CAT și SN (r=0,8791) și, (r=0,9607) între MMM și SN. Acest fapt ne conduce la idea că, modificările neuro-hormonale și metabolice, menite să asigure trecerea vacilor de la faza de repaus mamar la faza de lactație, au fost însoțite de creșterea nivelului de substanțe din clasa toxinelor endogene (MMM și SN), pe de o parte, iar pe de altă parte, de creșterea valorii CAT-cuprac, ca răspuns la intensificarea proceselor de oxidare.




A doua categorie de indici apreciați în cercetare: PPOA și PFGA, au avut altă traiectorie decât cea a indicilor descriși. PPOA și PFGA au avut, în linii generale, tendință de creștere treptată în comparație cu nivelul ante partum, atingând rata de 14 % și 38,2 %, respectiv, la ultima

cercetare (fig. 4 și 5). Această dinamică este expresia intensificării proceselor de formare a produselor proteice de oxidare avansată și produselor finale de glicație avansată (PPOA și PFGA) (r=0,8254), explicată, cel mai probabil, prin creșterea intensității metabolice odată cu începerea secreției de lapte.

## CONCLUZII

Rezultatele cercetărilor exprimă faptul, că perioada de tranziție a vacilor de la faza de gestație la faza de lactație, cunoscută ca o stare de stres fiziologic, caracterizată prin perturbări neuro-hormonale și creșterea activităților metabolice, este însoțită de intensificarea proceselor de deteriorare a structurilor moleculare prin diverse forme: oxidare, glicare etc.. Indicii determinați în cercetare pot fi folosiți ca marcheri pentru aprecierea intensității SO, intoxicației endogene sau deteriorării proteinelor prin oxidare.

**Mențiuni.** Cercetările au fost realizate în cadrul proiectului ”Elaborarea si implementarea bunelor practici de agricultura durabila si reziliență climatică /GREEN/ 020407”, a UTM.

## BIBLIOGRAFIE

1. Apak, R.; Güçlü, K.; Özyürek, M.; Karademir, S.E. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *J. Agric. Food Chem.* 2004, *52*, 7970–7981. [Google Scholar] [CrossRef]

2. Bernabucci U, Ronchi B, Lacetera N, Nardone A. Markers of oxidative status in plasma and erythrocytes of transition dairy cows during hot season. Journal of Dairy Science. 2002. 85, P. 2173–2179. doi:10.3168/jds.S0022-0302(02)74296-3

3. Castillo C, Hernandez J, Bravo A, Lopez-Alonso M, Pereira V, Benedito JL. Oxidative status during late pregnancy and early lactation in dairy cows. Vet J (2005) 169(2):286–292.10.1016/j.tvjl.2004.02.001 [PubMed] [Cross Ref]

4. Celi P. Oxidative stress in ruminants. In: Mandelker L, Vajdovich P, editors. Studies on Veterinary Medicine. Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical Practice. 5. New York: Humana Press 2011. p. 191–231.

5. Celi, P. Biomarkers of oxidative stress in ruminant medicine. Immunopharmacology and Immunotoxicology. 2012. 33, 233–240.

6. Celi, P.; Gabai, G. Oxidant/antioxidant balance in animal nutrition and health: The role of protein oxidation. Front. Vet. Sci. 2015, 2, 48. [CrossRef] [PubMed]

7. Chauhan SS, Celi P, Ponnampalam EN, Leury BJ, Liu F, Dunshea FR. Antioxidant dynamics in the live animal and implications for ruminant health and product (meat/milk) quality: role of vitamin E and selenium. Anim Prod Sci (2014) 54(10):1525–1536. doi:10.1071/AN14334.

8. Chernitsky A. E., Sidelnikova V. I., Retsky M. I. Modified method for the determination of peptides of medium mass in biological fluids. Veterinary. 2014. (4): 56-58.

9. Dalle-Donne I, Scaloni A, Giustarini D, Cavarra E, Tell G, Lungarella G, et al. Proteins as biomarkers of oxidative/nitrosative stress in diseases: the contribution of redox proteomics. Mass Spectrom Rev (2005) 24(1):55–99. doi:10.1002/mas.20006

10. Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. Physiol Rev (2002) 82(1):47–95. doi:10.1152/physrev.00018.2001.

11. Hori M, Yagi M, Nomoto K, et al. Experimental models for advanced glycation end product formation using albumin, collagen, elastin, keratin and proteoglycan. Anti-Aging Medicine 9 (5), 2012, p:125-134.

12. LeBlanc S. Managing transition period health for reproductive performance in dairy cows. Cattle Practitioner 21, 2013. P. 209–215.

13. Lykkesfeldt J, Svendsen O. Oxidants and antioxidants in disease:oxidative stress in farm animals. Veterinary Journal (London, England) 2007173, 502–511. doi:10.1016/j.tvjl.2006.06.005

14. Sidelinikova V.I., Chernitskiy A.E., Retsky M.I. Endogenous intoxication and nflammation: reaction sequence and informativity of the markers. Agricultural Biology, 2015, V. 50, N.2, pp. 152-161. ISSN 2313-4836.

15. Uribarri J., Castillo M. D. et al. Dietary advanced glycation end products and their role in health and disease. In: Adv. Nutr., 2015, 6, p. 461–473; doi:10.3945/an.115.008433.

16. Vlassara H, Uribarri J. Advanced glycation end products (AGE) and diabetes: cause, effect, or both? Curr Diab Rep 2014;14:453.

17. Wang X., Quinn P. Endotoxins: structure, function and recognition. Ser.: Subcellular Biochemistry. V. 53. Springer, 2010 (doi: 10.1007/978-90-481-9078-2).

18. Witko-Sarsat, V., Friedlander, M., Capeillère-Blandin, C., Nguyen-Khoa, T., Nguyen, A.T., Zingraff, J., Jungers, P., Descamps-Latscha, B., 1996. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uraemia. Kidney International 49, 1304–1313.

19. Wróbel K, Garay-Sevilla ME, Nava LE, Malacara JM. Novel analytical approach to monitoring advanced glycosylation end products in human serum with on-line spectrophotometric and spectrofluorometric detection in a flow system. Clin Chem 1997;43:1563–9.

20. Сыромятникова, Е.Д., Лужников, Е.А., Маткевич и др. Некротические субстанции как маркер оценки эффективности детоксикации организма методом кишечного лаважа у больных острыми отравлениями. Клин.лабор.д-ка, 2002, N.10, с.44.