

OKSIDATIVNI STRES U PERIPARTALNOM PERIODU KOD KRAVA – ISPITIVANJE LIPIDNE PEROKSIDACIJE

Marko R. Cincović, Branislava Belić, Milenko Stevančević, Bojan Toholj¹

Rezime

Metabolički sistem kod krava u periodu oko teljenja se značajno razlikuje u odnosu na ostale produktivne periode. Neposredno pre i nakon teljenja dolazi do velike lipidne mobilizacije i iskorišćavanja masnih rezervi u energetske potrebe. Cilj ovog rada je bio da se ispita stepen lipidne peroksidacije određivanjem malonildialdehida (MDA). Ispitivanje je izvršeno kod 40 krava. Krave nedelji pre i posle teljenja pokazuju značajno višu koncentraciju MDA u odnosu na krave u sredini laktacije. MDA je značajno bila viša kod: gojaznih krava, krava koje su kasnije bolovala od mastitisa i ketoze, kao i kod krava koje su u prvih sto dana pokazale znake hromosti. Oksidativni stres kod krava u peripartalnom periodu posledica je lipidne peroksidacije. Zbog toga je koncentracija MDA viša kod krava sa intenzivnijom lipolizom i ketogenezom. Oksidativni stres može dovesti do različitih poremećaja zdravlja na početku laktacije.

Ključne reči: mlečne krave, perupartalni period, oksidativni stres, zdravlje, malonildialdehid.

Uvod

Peripartalni period kod mlečnih krava odlikuje se negativnim energetske bilansom, zbog smanjenog unosa hrane i povećanih potreba za lučenje mleka. Da bi organizam krava zadovoljio energetske potrebe započinje korišćenje sopstvenih energetskih izvora. Najpotentniji energetski izvor je mast, pa se kod krava dešava lipoliza i ketogeneza, koje se ogledaju u povećanoj koncentraciji neesterifikovanih masnih kiselina (NEFA) i betahidroksibutirata (BHB) u peripartalnom periodu (Cincović i sar., 2011). Povećana upotreba lipida u energetske svrhe podpomognuta je i endokrinim promenama u peripartalnom periodu kao što su prolazna hiperkortizolemija, snižena koncentracija insulina i IGF-I (Đoković, 2010). Svi ovi mehanizmi pokazuju sinergističko delovanje i potpomažu oslobađanje masti iz deopa i njegovo korišćenje u energetske svrhe. Postoje brojni rezultati koji pokazuju da porast koncentracije neesterifikovanih masnih kiselina (NEFA) i betahidroksibutirata (BHB) u peripartalnom periodu imaju značajnu vezu sa nastankom brojnih peripartalnih bolesti i umanjene reproduktivne efikasnosti krava (Gehrke i Markiewicz, 2009; Drackley i sar., 2005). Korišćenje NEFA i BHB je veoma pogodno za procenu stresne opterećenosti, jer čak i prilikom kratkotrajnog stresa raste njihova koncentracije (Cincović i sar., 2010), verovatno zbog osetljivosti na epinefrin i kortizol. Patofiziološki se ovakvi nalazi mogu objasniti na nekoliko načina: da poremećaji i oboljenja nastaju kao direktna posledica negativnog energetske bilansa, da nastaju kao posledica oksidativnog opterećenja organizma ili kombinacijom ova dva faktora. Oksidativno opterećenje nastaje peroksidacijom lipida. Krajnji produkt lipidne peroksidacije u organizmu

¹Ass MSc Marko R. Cincović, Prof dr Branislava Belić, Prof dr Milenko Stevančević, Ass mr Bojan Toholj, Poljoprivredni fakultet Novi Sad, Departman za veterinarsku medicinu, Trg D. Obradovića 8, 21000 Novi Sad, Srbija.

je malonildialdehid (MDA) (Nielsen i sar., 1997; Bernabucci i sar., 2005). Cilj ovog rada jeste da se ispita oksidativno opterećenje i koncentracija MDA kod krava različite telesne konstitucije i peripartalnog zdravlja, kao i da se ispita koncentracija MDA u funkciji tipa ketogeneze i lipolize, kako bi se ispitao uticaj oksidativnog stresa na zdravlje krava.

Materijal i metod rada

Istraživanja su obuhvatila 40 krava holštajn-frizijske rase u drugom i trećem paritetu. Krv je uzimana nedelju dana pre partusa, nedelju dana posle partusa, u sredini laktacije i u sredini zasušenja. Određivana je koncentracija NEFA, BHB i MDA. Kod krava je praćen zdravstveni status posle partusa utvrđivanjem združenih peripartalnih bolesti (mastitis, ketoza, hromost). Posebno je praćena koncentracija MDA kod gojaznih i zdravih krava. Korišćene su kolorimetrijske metode, a merenje je vršeno na aparatu Rayto RT 1904c. Korišćena je ANOVA analiza za utvrđivanje statističke značajnosti u stepenu lipidne peroksidacije u grupi zdravih krava, gojaznih krava i krava sa peripartalnim bolestima. Takođe je ispitana statistička značajnost u razlici koncentracije MDA kod krava u različitim periodima laktacije. Uticaj stepena lipidne mobilizacije i ketogeneze na koncentraciju MDA ispitana je upoređivanjem koncentracije MDA u grupi krava sa normalnom i ekscesivnom ketogenezom i lipolizom putem t-testa. Uticaj perioda laktacije ispitan je metodom ANOVA i NZR testom.

Rezultati i diskusija

Rezultati istraživanja dati u tabeli 1 pokazuju da je koncentracija MDA najviša u nedelji posle partusa, a kod ketoznih krava ta koncentracija počinje da raste i u nedelji pre partusa. Gojazne krave, krave sa znacima mastitisa, ketoze i hromosti imaju značajno veću koncentraciju MDA u nedelji posle porođaja u odnosu na zdrave krave koje su svrstane u kontrolnu grupu.. U ostalim periodima laktacije i zasušenja ova signifikantnost se gubi. Period oko teljenja odlikuje se oksidativnim stresom, kada raste koncentracija MDA ili njegovog prekursora tiobarbiturična reaktivna supstana (Bernabucci i sar., 2005). Lipidna peroksidacija posebno je pomognuta sniženom koncentracijom antioksidanasa, čijim dodatkom se može umanjiti koncentracija MDA (Naziroglu i sar., 2004). O'Boyle i sar. (2006) su pokazali vezu između metaboličkih izmena i oksidativnog stresa.

Tabela 1: Koncentracija MDA ($\mu\text{g/L}$) u ispitivanim grupama krava

Parametar	Zdrava kontrola	Gojazne krave (BCS>4)	Mastitis	Ketoza	Hromost
Nedelja pre partusa	7.89±2.1	8.21±3.1	8.04±2.9	9.22 ^a ±3.6	8.45±3
Nedelja posle partusa	14.45 ^b ±2.5	16.06 ^{ab} ±2	15.55 ^{ab} ±2.5	17.23 ^{ab} ±3.1	15.91 ^{ab} ±1.9
Sredina laktacije	8.12±3.5	7.66±4	7.89±3.9	8.15±4.2	8.23±2.88
Zasušenje	7.66±2.1	7.51±1.9	6.89±2.6	7.25±3.2	8.14±2.7

^a- Značajna razlika u odnosu na kontrolnu grupu

^b- Značajna razlika u odnosu na period laktacije

Razultati prikazani u tabeli 2 pokazuju uticaj perioda laktacije i stepena lipolize i ketogeneze na vrednost MDA tj. oksidativno opterećenje krava. Krave sa intenzivnom lipolizom i ketogenezom imaju značajno višu koncentraciju MDA u nedelji pre i posle partusa u odnosu na grupe sa nižim nivoom lipolize i ketogeneze. Period laktacije se, takođe, pokazao signifikantnim, ali samo zbog toga što je koncentracija MDA bila značajno različita u nedelji posle partusa (signifikantan NZR test).

Tabela 2: Oksidativno opterećenje u funkciji tipa lipolize i ketogeneze u nedelji posle partusa

Parametar	NEFA	NEFA	P – Uticaj grupe	BHB	BHB	P – Uticaj grupe
	<0.7 mmol/l Normal. lipoliza	>0.7 mmol/l Eksces. lipoliza		<1.1 mmol/l Normal. ketogeneza	>1.1 mmol/l Ekscesiv. ketogeneza	
Nedelja pre partusa	7.8±1.19	9.1±1.56	<0.05	8.1±1.12	9.3±1.45	<0.05
Nedelja posle partusa	11.6±2.1*	17.3±2.2	<0.001	12.5±1.7	16.3±2*	<0.01
Sredina laktacije	8.2±2	7.65±1.74	NS	7.14±2.1	7.58±2.3	NS
Zasušenje	7.41±1.3	7.96±1.1	NS	8.11±1.45	7.82±1.8	NS
Uticaj perioda laktacije	<0.01	<0.01	/	<0.01	<0.01	/

* - grupa koja uticaj perioda laktacije čini signifikantnom, NZR test

Rezultati o uticaju telesne kondicije na koncentraciju MDA su retki i uglavnom ukazuju da telesna kondicija i izmena telesne kondicije u peripartalnom periodu ne utiču značajno na lipidnu peroksidaciju (Dobbelaar i sar., 2010). Kizil i sar. (2007) pokazali su da krave sa subkliničkim i kliničkim mastitisom imaju veću koncentraciju MDA i veće oksidativno opterećenje. Lipidna peroksidacija i njeni produkti deluju proinflamatorno. Pokazano je da se antioksidantima ne može uticati na koncentraciju MDA u mleku, što vime čini posebno osetljivim. Noviji rezultati Zhang-a i sar. (2011) pokazuju da krave obolele od ketoze imaju višu koncentraciju MDA, što se slaže sa našim rezultatima. Ovakav nalaz se može dovesti u vezu sa dislipidemijom seruma i hepatocita. Opterećenje krava lipidnim peroksidima veće je kod krava sa laminitisom (Seyrek i sar., 2008).

Utvrđene korelacije između NEFA i MDA iznosile su 0.64 ($p<0.05$) a BHB i MDA 0.59 ($p<0.05$).

Zaključak

Oksidativno opterećenje krava u peripartalnom periodu može biti značajan pokazatelj budućeg zdravlja krava. Krave koje su razvile znake ketoze, mastitisa i hromosti imali su višu koncentraciju MDA u prvoj nedelji posle partusa. Oksidativni stres kod krava u peripartalnom periodu posledica je lipidne peroksidacije. Zbog toga je koncentracija MDA viša kod krava sa intenzivnijom lipolizom i ketogenezom. Oksidativni stres je najintenzivniji u nedelji posle teljenja, jer je tada koncentracija MDA statistički značajno viša u odnosu na ostale periode laktacije.

Zahvalnost

Ovaj rad je deo istraživanja na projektu TR31062 "Unapređivanje zdravlja i dobrobiti visokoproduktivnih krava identifikacijom i otklanjanjem stresogenih faktora", koji je podržan od Strane Ministarstva nauke R.Srbije.

Literatura

- Bernabucci U., Ronchi B., Lacetera N., Nardone A. (2005): Influence of body condition score on relationships between metabolic status and oxidative stress in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 88:2017–2026.
- Cincović M.R., Belić B., Stevančević M., Lako B., Toholj B., Potkonjak A. (2010): Diurnal variation of blood metabolite in dairy cows during heat stress. *Contemporary agriculture*, 59 (3-4): 300-305.
- Cincović M.R., Belić B., Vidović B., Krčmar Lj. (2011): Reference values and frequency distribution of metabolic parameters in cows during lactation and pregnancy, *Contemporary agriculture*. 60 (1-2): 175-182.
- Dobbelaar P., Bouwstra R.J., Goselink R.M.A., Jorritsma R., Van den Borne J.J.G.C., Jansen E.H.J.M. (2010): Effects of vitamin E supplementation on and the association of body condition score with changes in peroxidative biomarkers and antioxidants around calving in dairy heifers. *J Dairy Sci*, 93 (7): 3103-3113.
- Đoković R.D. (2010): Endokrini status mlečnih krava u peripartalnom periodu, Monografija, Agronomski fakultet Čačak.
- Drackley J.K., Dann H.M., Douglas G.N., Janovick Guretzky N.A., Litherland N.B., Underwood J.P., Looor J.J. (2005): Physiological and pathological adaptations in dairy cows that may increase susceptibility to periparturient diseases and disorders, *Ital.J.Anim.Sci.*, 4:323-344.
- Gehrke M., Markiewicz H. (2009): Culling and fertility of cows with energy metabolic disturbance in the early postparturient period. *Bull Vet Inst Pulawy*, 53: 375-381.
- Kizil O., Akar Y., Saat N., Kizil M., Yuksel M. (2007): The plasma lipid peroxidation intensity (MDA) and chain-breaking antioxidant concentrations in the cows with clinic or subclinic mastitis. *Revue Med Vet*, 158 (11): 529-533.
- Naziroglu M., Karaoglu A., Aksoy A.O. (2004): Selenium and high dose vitamin E administration protects cisplatin induced oxidative damage to renal, liver and lens tissues in rats. *Toxicology* 195:221–230.
- Nielsen F., Mikkelsen B.B., Nielsen J.B., Andersen H.R., Grandjean P. (1997): Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress:Reference interval and effects of life-style factors. *Clin. Chem.* 43:1209–1214.
- Seyrek K., Yaylak E., Aksit H. (2008): Serum sialic acid, malondialdehyde, retinol, zinc, and cooper concentrations in dairy cows with lameness. *Bull Vet Inst Pulawy* 52: 281-284.
- Zhang Z.G., Li X.B., Gao L., Li Y.F., Liu G.W., Wang H.B., Wang Z. (2011): Serum antioxidant capacity of dairy cows with subclinical ketosis. *Vet Rec*, 168:22.

OXIDATIVE STRESS IN THE PERIPARTAL PERIOD IN COWS - LIPID TESTING PEROXIDATION

Marko R. Cincović, Branislava Belić, Milenko Stevančević, Bojan Toholj

Abstract

Metabolic system of the cows in the period around calving is significantly different from other productive periods. Immediately before and after calving, there is a large lipid mobilization and utilization of fat reserves for energy needs. The aim of this study was to examine the degree of lipid peroxidation by determining malonyldialdehyde (MDA). Examination was performed in 40 cows. Cows week before and after calving showed a significantly higher concentration of MDA as compared to cows in the middle of lactation. MDA was significantly higher for: obese cows, cows that were later suffered from mastitis and ketosis, and cows that are in the first hundred days have shown signs of lameness. Oxidative stress in peripartal period is the result of lipid peroxidation. Therefore, the concentration of MDA is higher in cows with intense lipolysis and ketogenesis. Oxidative stress can lead to various health disorders at the beginning of lactation.

Key words: dairy cows, perupartalni period, oxidative stress, health, malonil-aldehyde.