OKSIDATIVNI STRES I ANTIOKSIDACIJSKA AKTIVNOST KOD MLIJEČNIH KRAVA

Crnoja, Ana-Maria

Undergraduate thesis / Završni rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of agriculture / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:588356

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek - Repository of the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

zir.nsk.hr

Image not found or type unknown

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Ana-Maria Crnoja, apsolvent

Sveučilišni preddiplomski studij Zootehnike

OKSIDATIVNI STRES I ANTIOKSIDACIJSKA AKTIVNOST KOD MLIJEČNIH KRAVA

Završni rad

Osijek, 2016.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Ana-Maria Crnoja, apsolvent

Sveučilišni preddiplomski studij Zootehnike

OKSIDATIVNI STRES I ANTIOKSIDACIJSKA AKTIVNOST KOD MLIJEČNIH KRAVA

Završni rad

Povjerenstvo za ocjenu i obranu završnog rada:

Prof. dr.sc. Pero Mijić, predsjednik

Izv. prof. dr. sc. Drago Bešlo, mentor

Prof. dr. sc. Marcela Šperanda, član

Željka Klir, mag. agr., zapisničar

Osijek, 2016.

1. UVOD 1
2. OKSIDATIVNI STRES KOD MLIJEČNIH KRAVA 2
3. TVORBA REAKTIVNIH RADIKALA KISIKA (ROS) 5
4. MEHANIZAM OBRANE ORGANIZMA 7
5. OKSIDATIVNI STRES I POKAZATELJI OKSIDATIVNOG STRESA 10
5.1. Antioksidacijski sustavi enzima 12
5.1.1. Superoksid-dismutaza 13
5.1.2. Katalaza 14
5.1.2. Glutation-peroksidaza 16
5.2. Minerali 17
5.2.1. Bakar 17
5.2.2. Cink 18
5.2.3. Selen 18
5.3. Vitamini 19
5.3.1. Vitamin C 19
5.3.2. Vitamin E 20
5.3.3. β –karoten 21
5.3.4. Koenzim Q10 22
5.4. Ostale vitaminske- biološko djelatne tvari 23
5.4.1. Bioflavonoidi 23
6. BOLESTI MLJEČNIH KRAVA UZROKOVANE OKSIDATIVNIM STRESOM 24
6.1. Prenatalni i postnatalni gubitci teladi 24
6.2. Mastitis 24
6.2. Edem ili otok vimena 24
6.4. Zaostajanje posteljice 25
6. HRANIDBA GOVEDA 26
6.1. Hranidba mliječnih krava 26
8. KRMIVA BOGATA ANTIOKSIDANSIMA 28
10. ZAKLJUČAK 29
11. POPIS LITERATURE 30
12. SAŽETAK 35
13. SUMMARY 36
14. POPIS SLIKA 37
TEMELJNA DOKUMETACIJSKA KARTICA 39

1. UVOD

Osnovni preduvjet u govedarskoj proizvodnji je proizvodnja kvalitetne zelene i voluminozne krme koja je glavna hrana preživača, pa tako i goveda. Govedo je biljojed. Hrani se sirovom krmom a niskovrijedne sirovine sjeno, sjenažu, travu i silažu pretvara u vrijedan proizvod, mlijeko i meso. Proizvodnja mlijeka je kontinuiran proces koji ima svoje biološko i proizvodno značenje. Osnova je održavanja vrste i uz to, uzgojem teladi kao nusproizvod predstavlja proizvodnju goveđeg mesa. Proizvodi, meso i mlijeko, namirnice su izuzetno kvalitetog sastava i služe za prehranu ljudi. Tri sastojka mlijeka proteini, kalcij i riboflavin predstavljaju njegovo osobito značenje. U kemijskom pogledu mlijeko je smjesa vitamina, minerala, ugljikohidrata, masti, proteina, otopljenih anorganskih sastojaka soli i laktoze disperziranih u vodi uključujući i neproteinske dušične spojeve. Nakon telenja, sukcesivnom laktacijom krava neprekidno se proizvodi mlijeko. Mliječnost krava vrlo je nisko nasljedno određena. Heritabilitet za svaku osobinu mliječnosti relativno je niska a iznosi ispod 0,40. Stoga je jasno da proizvodnju mlijeka uvjetuju vanjski čimbenici poput hranidbe, držanja i individualnog tretmana krava. Svako grlo ima vlastiti kapacitet proizvodnje a za to je potrebna određena količina energije i hranjivih tvari koje odgovaraju stupnju proizvodnje u kojem se određeno grlo nalazi. Uz povećanje proizvodnje mlijeka u posljednjih nekoliko desetljeća, plodnost krava je smanjena. Smanjena plodnost utječe na kontinuiranu proizvodnju mlijeka jer nedostatak osnovnog uvjeta kao što je telenje znači prekid proizvodnje grla. Na plodnost mogu utjecati razni čimbenici bili oni genetski, okolišni ili hranidbeni. Uz kompleksnu interakciju ovih čimbenika teško je odrediti točan razlog. Jedan od mogućih razloga mogao bi biti stres definiran kao stres uzrokovan visokom proizvodnjom mlijeka, abiotički stres ili oksidativni stres. Oksidativni stres predstavlja neravnotežu u proizvodnji slobodnih radikala kisika (*eng. reactive oxygen species*, ROS) i nedostatka antioksidansa u stanici za njihovo uklanjanje. Oksidativni stres kod mliječnih krava može uzrokovati reproduktivne poremećaje koji direktno utječu na pad proizvodnje mlijeka (Caput, 1996).

2. OKSIDATIVNI STRES KOD MLIJEČNIH KRAVA

Oksidativni stres predstavlja stanje u kojem postoji neravnoteža između stvaranja slobodnih radikala i njihovog neutraliziranja od strane antioksidativne zaštite organizma. Posljedice nakupljanja u stanici slobodnih radikala kod oksidativnog stresa mogu biti jedan od čimbenika koji sudjeluje u nastanku velikog broja akutnih i kroničnih oboljenja (Sen CK-2001). Slobodni radikali su atomi, molekule ili ioni koji sadrže bar jedan nesparen elektron u vanjskom elektronskom omotaču (Cheeseman KH, Slater TF-1993). Slobodni radikali su molekule koje su vrlo reaktivne zbog tendencije sparivanja elektrona. Štetno djelovanje slobodnih radikala potječe iz potrebe da postignu elektronsku stabilnost i zato reagiraju sa prvom susjednom stabilnom molekulom uzimajući njen elektron i započinjući na taj način lančanu reakciju koja dovodi do biokemijskih, strukturnih i funkcionalnih promjena biomolekula (Rimbach G, Hohler D, Fischer A, et al.-1999). Tijekom evolucije, organizam se prilagodio na aerobne uvjete života a kao odgovor na stvaranje slobodnih radikala u isto vrijeme dolazi i do stvaranja zaštitnih antioksidativnih mehanizama obrane (Beattie SD-2006). Ovim mehanizmom organizam se brani od štetnog djelovanja i nekontroliranog stvaranja radikala kisika tijekom metaboličkih procesa i održavajući ih u niskim koncentracijama. Antioksidativna zaštita predstavlja sustav odgovoran za neutralizaciju reaktivnih radikala kisika (ROS) i se može podijeliti na slijedeće cjeline:

- enzimska antioksidativna zaštita koja govori o sudjelovanju enzima koji neutraliziraju slobodne radikale (superoksid-dismutaza, katalaza, glutation-reduktaza i glutation peroksidaza);
- neenzimatska antioksidantna zaštita koja se sastoji od proteina koji vezuju potencijalno opasne ione željeza i bakra u svojoj neaktivnoj formi i na taj način sprečavaju stvaranje slobodnih radikala i brojnih niskomolekularnih spojeva kao što su L-askorbinska kiselina, α-tokoferol, karotenoidi, ubikinon CoQ10H2, glutation, mokraćna kiselina, bilirubin i dr. (Dekkers JC, van Doornen LJ, Kemper HC -1996).

Mehanizmi kojima ovi spojevi ostvaruju svoju aktivnost u sustavu antioksidantne zaštite se razlikuju i najčešće su to hvatači slobodnih radikala, donori protona, inhibitori enzima, stvoreni kelatni ioni prijelaznih metala itd. (Dekkers JC, van Doornen LJ, Kemper HC -1996).

Oksidativni stres je aktivno područje istraživanja u veterinarskoj medicini, te je povezan s mnogim bolesnim procesima, uključujući sepsu, mastitis, enteritis, upalu pluća (pneumoniju), i bolesti zglobova (Lykkesfeldt & Svendsen, 2007.). Mali broj istraživanja je proveden kod

preživača kao i učinak oksidativnog stresa. Istraživanja koja su provedena na govedima, ovcama i kozama su slična i uglavnom se bave s posljedicama mastitisa, upalom pluća i zadržane posteljice. U novije vrijeme, studije su usmjerene na nastajanje metaboličkih bolesti koje utječu kod mliječnih preživača u razdoblju peripartuma. Imajući to na umu, cilj ovog završnog rada je sažeti postojeće znanje oksidativnog stresa u preživača. Istražiti koja je fiziološka osnova i dokazati ulogu oksidacijskog stresa u preživača, koji utječe na zdravlje i proizvodnju s naglaskom potrebe za daljnjim istraživanjima oksidativnog stresa u preživača u periodu pred telenje koje je vrlo važano za očuvanje zdravlja mliječnih krava. Poremećaji kao što su otok vimena, zaostajanje posteljice i mastitis mogu smanjiti proizvodnju mlijeka, njegovu industrijsku vrijednost i nepovoljno utjecati na proizvodni ciklus samog goveda. Kao rezultat pojavljuje se izostajanje estrusa, opća nemogućnost začeća ili smrt embrija u ranom periodu nakon začeća. Svim ovim poremećajima može pridonijeti oksidativni stres. Oksidativni stres nastaje kada se poremeti ravnoteža oksidacijsko-redukcijskih procesa prekomjernim stvaranjem slobodnih radikala kisika koje stanični homeostatski mehanizmi nisu u stanju neutralizirati (Sayeed i sur., 2003; Morales i sur., 2004; Kelly i sur.,1998). U stanicama se oksidativni stres pojavljuje kao rezultat jednog od tri čimbenika:

1. povećanog nastajanja ROS,
2. smanjenja antoksidativne zaštite (nemogućnost neutraliziranja utjecaja ROS ili pak njihovog uklanjanja),
3. nemogućnosti popravka oksidativnog oštećenja.

ROS mogu biti ili slobodni radikali, ili reaktivni anioni koji sadrže kisikove atome, ili molekule koje sadrže kisikove atome koji mogu ili stvarati slobodne radikale ili se pomoću njih mogu kemijski aktivirati. Glavni izvor ROS in vivo je aerobna respiracija, a također ROS mogu nastajati i peroksisomalnom β-oksidacijom masnih kiselina, mikrosomalnim citokrom P450 metabolizmom ksenobiotika, stimulacijom fagocita patogenima ili lipopolisaharidima, metabolizmom arginina i tkivno specifičnih enzima. U svakoj stanici odvijaju se kemijske reakcije koje uključuju oksidaciju i redukciju molekula. Na primjer, kada stanice koriste kisik za proizvodnju energije, slobodni radikali nastaju kao posljedica proizvodnje ATP u mitohondrijima.

Proizvodnja reaktivnih radikala kisika (ROS) je kontinuiran i normalan proces metabolizma stanice. U malim su koncentracijama ROS esencijalni u sintezi biološki važnih molekula, nastajanju spolnih stanica, pri reakciji dobivanja energije, regulaciji rasta stanica i prijenosu signala između stanica. No ipak, u prevelikim koncentracijama može utjecati na strukturu stanične membrane i njezinu funkciju, u reakciji sa DNA može dovesti do mutacija i

izmjeniti metabolizam lipida i proteina u organizmu. Što može imati za posljedicu smanjenje aktivnosti enzima. Tijekom gravidnosti, *corpus luteum* esencijalan je za stvaranje progesterona i održavanje trudnoće. Slobodni kisikovi radikali (ROS) oštećuju membranu žutog tijela i smanjuju ili u potpunosti zaustavljaju sintezu progesterona što dovodi do nemogućnosti održavanja trudnoće. U tijeku laktacije krava se proizvodnjom mlijeka postupno iscrpljuje. Stoga je potrebno prilikom suhostaja, kravu držati na obroku kojim će postići dobru kondiciju i određene rezerve, osobito proteina, minerala i vitamina. Ukoliko krava uđe u telenje sa slabom kondicijom, izostat će visoka proizvodnja a usljedit će pad krivulje laktacije (Sontakke, 2014).

3. TVORBA REAKTIVNIH RADIKALA KISIKA (ROS)

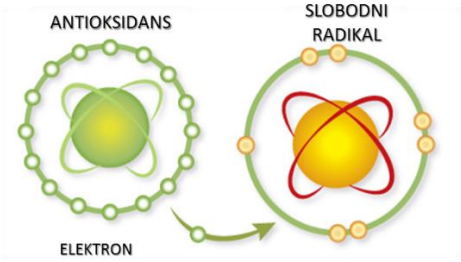
Kisik kao molekula je biradikal. U vanjskoj ljusci sadrži dva nesparena elektrona. Molekulski kisik je neophodan za život, no isto tako, ukoliko njegova koncentracija u tkivima aerobnih organizama postane veća od normalne, on postaje toksičan. Jedan od glavnih razloga moguće toksičnosti kisika je njegovo stvaranje reaktivnih radikala kisika (*engl. reactive oxygen species*; ROS) (Niviere V, Fontecave M.,1995) Zbog prisustva nesparenih elektrona ovi spojevi nazivaju se slobodni radikali (Gutteridge JMC,1994).

Slobodni radikali su atomi ili molekule koji imaju jedan ili više nesparenih elektrona u vanjskoj elektronskoj ljusci. Ti nespareni elektroni su proton akceptori ili donori drugim molekulama. Upravo to je razlog koji ih čini vrlo nestabilnim i visoko reaktivnim, pri čemu reagiraju s anorganskim i organskim spojevima. Slobodni radikali nastaju u redukcijsko-oksidacijskim reakcijama stanice, fiziološkim procesima poput oksidativne fosforilacije u mitohondriju, apsorpcijom energije zračenja, oksidacije masnih kiselina u peroksisomima, fagocitoze i dr. (Lee HC, Wei YH. -2000). Isto tako mogu nastati enzimatskom oksidacijom i autooksidacijom kemjskih spojeva, u prvom redu tiola, oksihemoglobina i hidrokinona. Prilikom tih reakcija dolazi do redukcije molekulskog kisika, a kao produkt nastaju superoksidi uz prisutvo prijelaznih metala. Reaktivni radikali kisika ne predstavljaju samo kisikove radikale poput hidroksilnog radikala ($HO^{\cdot}$) i superoksidnog aniona (O_2^{-}). U tu skupinu ulaze reaktivni spojevi kao što je vodikov peroksid (H_2O_2), hipoklorna kiselina (HOCl), reaktivni, singlet kisik ($^1O_2$) i ozon (O_3). ROS se pojavljuje u organizmu tijekom patoloških i fizioloških procesa metabolizma prilikom redukcije i ekscitacije kisika. Procesom oksidacijske fosforilacije u sistemu citokrom-C-oksidaze, na unutrašnjoj strani mitohondrijske membrane, molekulski se kisik reducira do vode (Fulton D. at all-1997). Kao međuprodukt tijekom te reakcije oslobađaju se reaktivni spojevi u maloj ali vrlo značajnoj količini. Redukcijom jednog elektrona molekule kisika nastaje superoksidni anion ($O_2^{\cdot -}$) U kiseloj sredini on veže proton. Kao rezultat nastaje još reaktivniji perhidroksilni radikal ($HO_2^{\cdot -}$). Uz pomoć vodikovih iona i superoksid dismutaze superoksidni anion se prevodi u vodikov peroksid. Unatoč tome što vodikov peroksid nema nesparenih elektrona i nije radikal, uz prisustvo prijelaznih metala, dvovalentnog željeza (Fe^{2+}) i jednovalentnog iona bakra (Cu^{+}), djeluje kao oksidans. Upravo na taj način može prihvatiti jedan elektron stvarajući vrlo toksičan hidroksilni radikal (OH^{-}). Hidroksilni radikal reagira sa svim vrstama biomolekula i zbog toga je izrazito reaktivan (Sontakke, 2014).

Reaktivni spojevi kisika (ROS) je pojam koji se koristi za grupu oksidansa, koji mogu biti ili slobodni radikali ili molekule koje su sposobne generirati slobodne radikale. U mitohondriju stanice se uglavnom generira superoksidni radikal ($O_2^{\cdot -}$). U normalnim fiziološkim uvjetima 2% O_2 prevede se u $O_2^{\cdot -}$ tijekom mitohondrijske respiracije, fagocitoze i td. Postotak ROS-a raste tijekom infekcije, vježbanja, izlaganja zagađenosti, UV zračenju, ionizacijskom zračenju i dr. ($NO^{\cdot}$) je endotelni faktor i neurotransmiter, produkt nitrit oksid sintetaze. $NO^{\cdot}$ i $O_2^{\cdot -}$se prevode u snažni oksidativni radikal hidroksi radikal ($OH^{\cdot}$), alkoksi radikal ($RO^{\cdot}$) peroksi radikalu ($ROO^{\cdot}$), singletni kisik ($^1O_2$). Neki se radikali prevod do oksidirajućih molekula sličnih vodikov peroksid (H_2O_2) i peroksinitril ($ONOO^{\cdot}$) (Clarkson, P.M. and Thompson, H. S.,2000; Tesfamariam B.,1994; Cetin, H.,2003; Wilde, D., 2006). Kisik je vitalni element za sintezu ATP-a u aerobnim uvjetima u biološkim sustavima viših životinja tijekom staničnog disanja (oksidacijske fosforilacije). Međutim, tijekom sinteze ATP-a usljed „curenja“ elektrona mogu nastati slobodni radikali. Ovi spojevi imaju veliku sposobnost za oksidacijom bioloških molekula, posebno u membrana bogatim lipidima i proteinima, što uzrokuje staničnu nekrozu. Znanje o slobodnim radikalima i reaktivnim spojevima kisika (ROS) u proizvodnji mlijeka i mliječnih proizvoda dovodi do znanja u rješavanju problema u proizvodnji.

4. MEHANIZAM OBRANE ORGANIZMA

Antioksidansi su molekule koje mogu predati elektron slobodnom radikalu. Prirodni produkti koje nazivamo antioksidansi reagiraju sa slobodnim radikalima i štite stanicu od oštećenja (Slika1.).



Slika 1. Shematski prikaz djelovanja antioksidansa

Stanicu štite različite molekule uključujući i enzime koji razgrađuju perokside, proteine za koje su vezni prijelazni metali koji uklanjaju slobodne radikale. Najvažniji biološki antioksidansi su vitamini A, C, E i miroelement selen koji je kofaktor glutation peroksidaze. Vitamin E koji je topiv u mastima, djeluje protiv inicijacije lipidne peroksidacije (NRC-National Research Council, 2001.). Vitamin A i drugi karetenoidi u visokoj koncentraciji se nalaze u stočnoj hrani. Vitamin C je prirodni produkt u stanicama životinja (Clarkson, P.M. and Thompson, H.-2000; Tesfamariam B. S.-1994). Oksidativni stres igra važnu ulogu u razvoju kroničnih i degenerativnih bolesti kao što su rak, autoimuni poremećaji, rematoidni artritis, starost i neurodegenerativne bolesti (Pham-Huy LA, Pham-Huyc-2008). U stanicama se nalazi antioksidativni enzimi i male antioksidativne molekule. Enzimi i male molekule nisu dovoljne za održavanje homeostaze kod oksidativnog stresa. Dosadašnja epidimiološka istraživanja pokazuju inverznu korelaciju osnovnih antioksidansa (vitamini E i C) i razvoja kardiovaskularnih bolesti, karcinoma usljed oboljenja navedenim bolestima (Radimer KL et all. 2004; Sevanian A. and Ursini F.-2000; Beckman KB, AmesBN.-1997; Urquiaga, I. Leighton F.-2000). Istraživanja su sada usmjerena u otkrivanju novih prirodnih antioksidansa ili u pronalaženju novih sintetskih antioksidansa (Aruoma OI et

all.-2007; Popov, I. and Lewin, G-2000). U posljednih nekoliko godina, usmjereno je ispitivanje o poremećajima metaboličkih procesa kod mliječnih krava usljed oksidativnih procesa. Povećana proizvodnja reaktivnih radikala kisika može oslabiti mnoge vitalne funkcije, uključujući oksidaciju makromolekula. U fiziološkim uvjetima oksidacijskog stresa može dovesti do kasne gravidnosti i rane laktacije. Što predstavlja veliki zahtjev za potrošnjom glukoze i aminokiselina uključuju i mobilizaciju pohranjene energije i međukonverziju metaboličkih goriva. Masno tkivo i jetra su kritična mjesta tih procesa. Organizam je u jednoj mjeri zaštićen od reaktivnih radikala kisika i njihovih toksičnih produkata širokim spektrom mehanizama obrane. Komponente ovog sustava klasificirane su kao preventivni mehanizmi ili "razbijači lanca". Tu su uključene makromolekule koje vežu metalne ione i antioksidacijski enzimi. Uz pomoć prijelaznih metala u reakciji dolazi do uklanjanja ROS molekula u ekstracelularnim tekućinama pomoću transferina, celuroplazmina i albumina. Unutar stanica, superoksid dimutaze, glutation peroksidaze uklanjaju O_2^- i vodikov peroksid prije nego li se približe slobodnim promotorima. Redukcija peroksida popratna je pojava oksidacije reduciranog glutationa koji može biti regeneriran reduciranjem ekvivalenata iz $NADPH_2$. Unatoč ovim preventivnim enzimima, određena količina superoksida i peroksida može zaostati i, u prisutnosti Fe u slobodnom anionskom obliku, katalizirati i proizvesti još više slobodnih radikala kisika.

Za ROS / RNS (RNS, *eng. reactive nitrogen species*) se zna da imaju dvostruku ulogu u biološkim sustavima, jer oni mogu biti štetni ili korisni za žive sustave (Valko i sur., 2004). Korisni učinci ROS uključuju fiziološke uloge u staničnim odgovorima, kao npr. u obrani od zaraznih agensa i u funkciji brojnih staničnih signalnih sustava. Pri visokim koncentracijama, ROS mogu biti važni medijatori oštećenja stanične strukture, uključujući lipide i membrane, proteina i nukleinskih kiselina (nazvan oksidativnog stresa) (Polli i sur.,2004). Visoka koncentracija ROS nastaje usljed neuravnoteženog antioksidativnog djelovanja neenzimskih malih molekula ili antioksidativnih enzima (Halliwell, 1996; Yavuz i sur, 2004). Slobodni radikali mogu reagirati pomoću nekoliko metaloenzima (npr. glutation peroksidaza, katalaza, superoksid dismutaza), kao i neenzimatskim antioksidansima obrambenog sustava (npr. tokoferol, β-karoten, ubikinol, vitamin C, glutation, mokraćna kiselina, bilirubin), (Onyema i sur., 2006). Unatoč prisutnosti antioksidansa obrambenog sustava stanica se ne uspije suprotstaviti oksidativnom oštećenju od ROS, oksidativno oštećenje se akumulira tijekom životnog ciklusa. Mogu reagirati s DNA, proteinima i lipidima koji imaju ključnu ulogu u razvoju oboljenja kao što je rak, arterioskleroza, artritis, neurodegenerativne poremećaje i druge uvjete. Patogeneza i klinički simptomi oksidativnog stresa tj. neravoteža antioksidansa,

što dovodi do potencijalnog oštećenja stanica i organa. ROS molekule imaju dvostruku ulogu: ulogu u patološkim procesima i kao ključne signalne molekule u fiziološkim procesima (Moreira da Silva i sur., 2010). Oksidativni stres može utjecati na stanice u okolini te ugroziti opstanak transformiranih stanica. ROS može utjecati na različite fiziološke funkcije u reproduktivnom traktu i prekomjerna razina može dovesti do patoloških stanja kod životinja (Moreira da Silva i sur. 2010). Status oksidativnog stresa može utjecati na razvoj embrija u ranom razdoblju mijenjanjem ključnih prijelaznih čimbenika, a time i mijenjanje ekspresije gena (Dennery, 2004). Tijekom trudnoće oksidativni stres ima važnu ulogu u pokretanju prijevremenog poroda (Pressman i sur., 2003) i tijekom normalnog porođaja (Fainaru, 2002), ovulacije, steroidogenezu jajnika, sazrijevanju oocita i održavanju trudnoće (Sugino i sur., 2000). Koncentracije ROS mogu imati ključnu ulogu prilikom implantacije i oplodnje jajnih stanica (Sharma i Agarwal, 2004).

Spermatozoidi su vrlo osjetljivi na oštećenja uzrokovana višom koncentracijom reaktivnih kisikovih vrsta zbog visokog sadržaja višestruko nezasićenih masnih kiselina. Iako konvencionalne osnovne karakteristike sjemena osim pokretljivosti nisu pod utjecajem oksidacijskog stanja sjemena (Aitken i sur., 2009), takva šteta može biti temelj aspekta muške neplodnosti. Povećana lipidna peroksidacija i promijenjena funkcija membrana može pružiti spermi disfunkcionalnost kroz oslabljen metabolizam, pokretljivost, kao i oksidativnog oštećenja DNA sperme (Nemat Khansari i sur., 2009). Stres smanjuje libido, plodnost i embrionalni opstanak u životinja. Primarni učinak stresa na okoliš u novorođenčadi je povećana učestalost bolesti povezanih sa smanjenim sadržajem imunoglobulina u plazmi (VázquezAñón i sur., 2009).

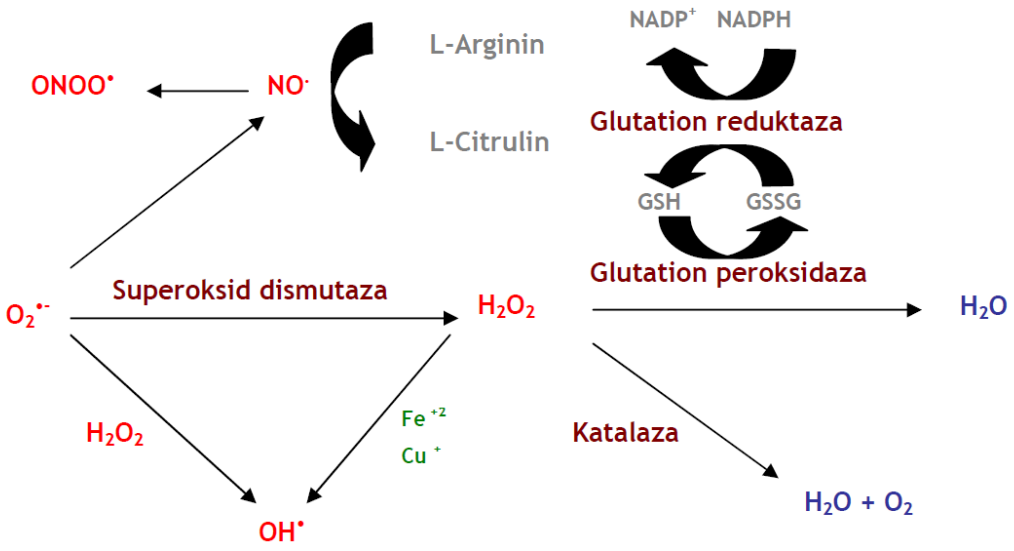
5. OKSIDATIVNI STRES I POKAZATELJI OKSIDATIVNOG STRESA

Uzroci nastanka oksidativnog stresa mogu biti različiti kao npr. povećano stvaranje reaktivnih toksičnih spojeva, slobodnih radikala ili gubitak antioksidansa i slično. Slobodni radikali najvećim dijelom uključuju reaktivne spojeve kisika (ROS, *eng. reactive oxygen species*), zatim reaktivne dušikove spojeve (RNS *engl. reactive nitogen species*) te manje ostale reaktivne spojeve. Toksičnost kisika određena je štetnim učincima citotoksičnih reaktivnih molekula kisika, slobodnih radikala kisika, reaktivnih intermedijera kisika i oksiradikala (Shacter, 2000). Od posebne važnosti su produkti redukcije molekularnog kisika (O_2) kao što su: superoksidni anion ($O_2^{-\cdot}$), vodikov peroksid (H_2O_2) i hidroksi radikal ($OH^{\cdot}$) Postoje brojni endogeni izvori proizvodnje oksiradikala, ali su od veće važnosti za okolišne biljege, strukturno različiti spojevi koji uzrokuju povećano nastajanje oksiradikala redoks procesima. Redoks aktivni spojevi uključuju aromatske diole i quinone, nitroaromate, aromatske hidroksiamine, bipiridile i određene prijelazne metale (Winston i Di Giulio, 1991). U redoks reakciji, početni spoj najprije se enzimatski reducira pomoću NADPH ovisne reduktaze (kao što je reducirani citokrom P450) pri čemu nastaje radikal ksenobiotika. Ovaj radikal donira svoj nesparen elektron molekularnom kisiku (O_2) koji je izuzetno reaktivni oksidans, koji može reagirati s molekulama proteina, DNA, lipida i ugljikohidrata što rezultira poremećajima kao što su gubitak fluidnosti staničnih membrana, inaktivacija membranskih enzima, ubrzana proteoliza, starenje, poremećen prijenos signala u stanicama, maligna transformacija i smrt stanice (Winston i Di Giulio, 1991; Blaha i sur., 2004). U slučaju da uklanjanje i nastajanje ROS nisu dovoljno dobro regulirani procesi, suvišak može oštetiti stanične lipide, proteine ili DNA, remeteći na taj način njihovu normalnu funkciju (Storey, 1996). Pored navedenog, ROS mogu djelovati i na propusnost stanične membrane te na membranske proteine proizvodeći $O_2^{-\cdot}$. Porast koncentracije slobodnih radikala u organizmima gotovo uvijek ima štetnu, a može imati i pogubnu posljedicu ukoliko se takvi porasti ponavljaju ili je visoka koncentracija ROS kronična. Nedostatak vitamina E redovito dovodi do porasta koncentracije reaktivnih kisikovih radikala. Smanjivanje njihove koncentracije u organizmu dovodi do bolje proliferacije limfocita i pojačane sinteze imunoglobulina, znatno povećavajući otpornost organizma. Prema tome, svaki ciklus reakcija obuhvaća slijedeće: reduktant se oksidira i nastaje oksiradikal (Winston i Di Giulio, 1991). Raznorodna skupina molekula koje su u usporedbi s koncentracijama oksidativnog supstrata prisutne u znatno nižim koncentracijama, zadržavajui ili spriječavaju oksidaciju tog supstrata, kontroliraju odnose između stanja oksidiranja ili reduciranja u biološkom sustavu jesu

antioksidansi. Nastaju prirodnim putem metabolizma stanice ili se u organizam unose hranom, u obliku vitaminskih dodataka. Kao takvi, imaju mogućnost djelovanja na nekoliko načina. Onemogćuju stvaranje novih slobodnih radikala u organizmu, popravljaju oštećenja nastala štetnim djelovanjem ili uništavaju u organizmu već stvorene reaktivne radikale. Antioksidansi se djele u dvije skupine a to su skupina antioksidacijskih enzima i skupina malih molekula antioksidansa u koju pripadaju tvari dobro topljive u vodi i lipidima. Enzimi koji nastaju u stanicama te razgrađuju manje aktivne oblike kisikovih radikala u neaktivne i nenabijene molekule i grupa enzima koji obnavljaju oštećenja DNA i proteina nastalih djelovanjem slobodnih radikala nazivaju se antioksidacijski enzimi. To su superoksid-dismutaza, katalaza, glutation-perosidaza. Drugu skupinu antioksidansa spadaju "čistači" slobodnih radikala, odnosno pretvaraju nezasićene i vrlo reaktivne molekule kisikovih radikala u nove, inaktivne i kemijski zasićene oblike koji nisu štetni za organizam. To su: askorbinska kiselina, ureati, tokoferol, flavonoidi, likopen, koenzim Q i minerali. Antiosidansi, kao takvi, imaju mogućnost djelovanja na više mjesta i obično djeluju putem više mehanizama koji se sami nadopunjuju.

5.1. Antioksidacijski sustavi enzima

Enzimska antioksidativna zaštita prvenstveno je potrebna na mjestu na kojem nastaje najviše slobodnih radikala. Ponajprije u mitohondrijima ali i u citosolu i ekstracelularnom prostoru. Antioksidacijski sustav enzima (Slika 2) vrlo je složen i sastoji se od primarnih enzimskih antioksidacijskih sustava kao što su superoksid dismutaza (SOD, katalizira dismutaciju $O_2^{\bullet-}$), glutation peroksidaza (GPx, odstranjuje H_2O_2 i sprječava stvaranje $OH^{\bullet}$) i katalaza (KAT, odstranjuje H_2O_2 razgradnjom u vodu i kisik) te sekundarnih enzimskih antioksidacijskih sustava (glutation reduktaza, glukoza-6-fosfat dehidrogenaza, glutation, glutaredoksin, peroksiredoksin i tioredoksin). U biološkim sustavima antioksidansi odstranjuju slobodne radikale najčešće katalitičkim putem, kao čistači ili u obliku proteina koji umanjuju valjanost prooksidansa, primjerice iona metala ili dr.



Slika 2. Shematski prikaz sustava antioksidacijskih enzima

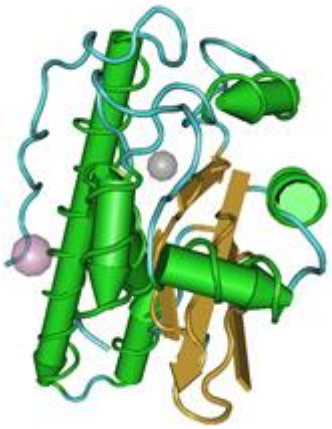
5.1.1. Superoksid-dismutaza

Enzim superoksid dismutaza (SOD) katalizira dismutaciju superoksida u kisik i vodikov peroksid pa je važan antioksidativni čimbenik u obrani gotovo svih stanica izloženih aerobnom metabolizmu (Weisiger R. A. And Fridrich I., 1973, McCord J. M. and Fridrich I, 1988). SOD su proteini koje kao kofaktor sadrže bakar, cink, mangan, željezo ili nikal. Dismutacija superoksida enzimom SOD prikazana je reakcijama (1) i (2) (Bull i sur., 1991).

$$M^{(n+1)+}\text{-SOD}+O_2^{\bullet-} \longrightarrow M^{n+}\text{-SOD}+O_2 \qquad (1)$$

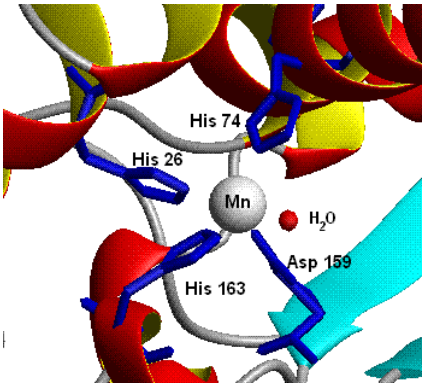
$$M^{n+}\text{-SOD} + O_2^{\bullet-} \longrightarrow M^{(n+1)+}\text{-SOD} + H_2O_2 \qquad (2)$$

Poznato je pet različitih izoformi SOD enzima od kojih su tri strukturno karakterizirana. U sisavaca su prisutna tri oblika superoksid dismutaze. SOD1 je smješten u citoplazmi, SOD2 u mitohondrijima, a SOD3 u izvanstaničnom prostoru. SOD1 je dimer sastavljen od dvije jedinice, ukupne mase 32 kDa (1 dalton = masa jednog atoma vodika), dok su SOD2 i SOD3 tetrameri ukupne mase 89 kDa i 135 kDa. SOD1 i SOD3 sadrže Cu i Zn , dok SOD2 ima Mn na aktivnom mjestu (Slika 3).



Slika 3. Kristalna struktura humanog SOD2 enzima (Quit P., i sur, 2006)

Aktivno mjesto Mn-SOD sadrži tri bočna histidinska lanca, aspartatni lanac i molekulu vode, ovisno o oksidacijskom broju Mn (Slika 4).



Slika 4. Aktivno mjesto humane mangan-superoksid-dismutaze (SOD2)

Fiziološku važnost SOD može se ilustrirati na primjeru pokusa s miševima (Sentman M. L. i sur. 2006). Miš kojem nedostaje enzim SOD2 ugiba nekoliko dana nakon okota zbog izuzetno jakog oksidativnog stresa. Miš kojem nedostaje SOD1 razvija niz patoloških stanja, uključujući rak jetre, ubrzano starenje, gubitak mišićne mase. Miš kojem nedostaje SOD3 nema nikakvih zdravstvenih posljedica. Ovaj pokus pokazuje važnost prisutnosti enzima SOD1 u sprječavanju raznih neuroloških i ostalih oboljenja, ali prvenstveno prisutnosti enzima SOD2 i njegove primarne uloge u neutralizaciji nastanka oksidativnog stresa i njegovih posljedica.

5.1.2. Katalaza

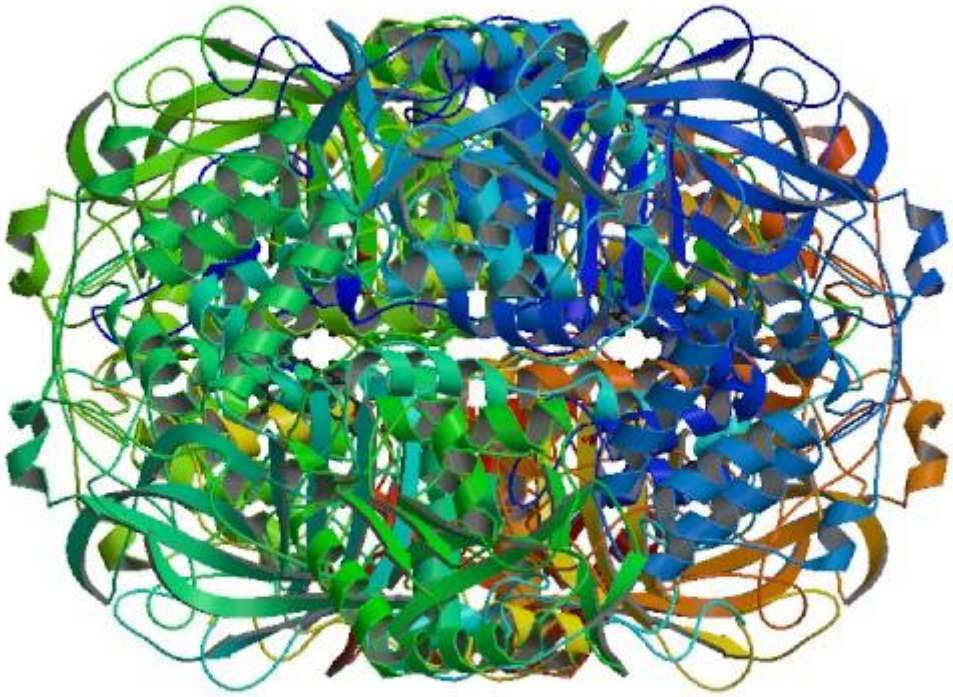
Katalaza je antioksidacijski enzim sastavljen od četiri podjedinice od kojih svaka u aktivnom mjestu sadrži hem skupinu (Slika 4). Takvo aktivno mjesto enzima omogućuje detoksikaciju raznih alkohola, fenola kao i H_2O_2. Poznata su tri izoenzimska oblika (A, B, C) koji nastaju posttranslacijskom modifikacijom ishodišnog proteina. Osnovna uloga KAT je razgradnja H_2O_2 putem katalaznog

$2H_2O_2$ ––> $2H_2O + O_2$ i/ili peroksidaznog oblika reakcije

$H_2O_2 + RH_2$ —>$2H_2O$ + R (R je H-donirajući supstrat).

Glavnu ulogu u odstranjivanju malih količina H_2O_2 ima GPx. Katalazna aktivnost očituje se tek pri većim koncentracijama H_2O_2 što upućuje da je KAT isključivo odgovorna za razgradnju peroksida u uvjetima oksidacijskog stresa. Najveća koncentracija KAT nalazi se u jetri i eritrocitima dok je manja koncentracija nađena u skeletnim mišićima, srcu, slezeni i mozgu. U stanici enzim ima najveću koncentraciju u peroksisomima, prisutan je u citosolnoj

frakciji, a u mitohondrijima je prisutan u malim koncentracijama ili ga uopće nema. KAT je eksprimirana konstitutivno, međutim još nije poznato da li je ekspresija KAT inducirana oksidansima ili citokinima.



Slika 5. Kristalna struktura katalaze (prema Bravo J, 1995)

5.1.2. Glutation-peroksidaza

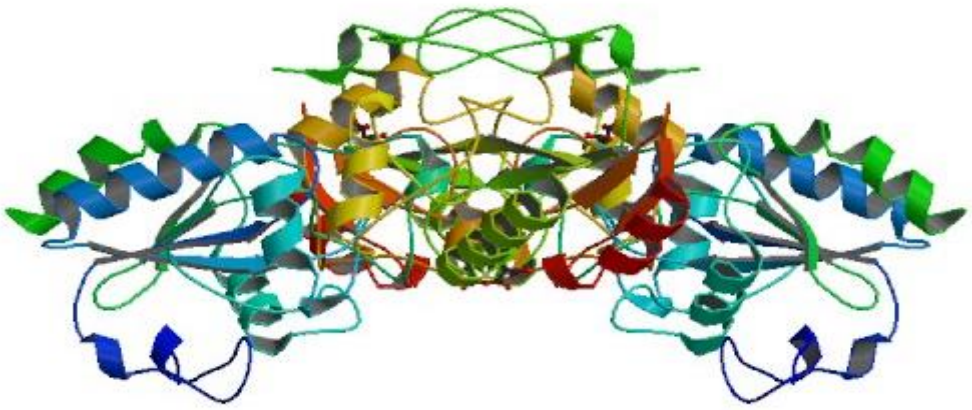
Glutation peroksidaza (EC 1.11.1.9) je tetramer sa četiri podjedinice od kojih svaka sadrži po jedan atom selena u obliku selenocisteina, a koji tvori aktivno mjesto enzima. Enzim u prisustvu reduciranog glutationa (supstrat) najčešće katalizira reakciju redukcije H_2O_2 uključujući i lipidni hidroperoksid.

$2GSH + H_2O_2 (ROOH) \longrightarrow GSSG + ROH + H_2O$

Sustav glutation peroksidaze odgovoran je za razgradnju najvećeg dijela H_2O_2 u stanici. Glutation reduktaza uz pomoć NADPH regulira reducirani GSH:

$NADPH+ + H+ + GSSG \longrightarrow NADP+ + 2GSH$

Tkiva s najvećom koncentracijom GPx su jetra i bubrezi, u umjerenoj količini prisutna je u srcu, plućima i mozgu, a u maloj količini u mišićima. Unutar stanice aktivnost GPx u jezgri nije zabilježena dok je visoka aktivnost prisutna u mitohondrijima i citosolu. Do sada je opisano 7 oblika GPx: citosolna GPx (GPx-1), gastrointestinalna GPx (GPx-2), izvanstanična GPx (GPx-3), fosfolipidna hidroperoksid GPx (GPx-4), epididimis sekrecijska GPx (GPx-5), GPx-6, GPx-7. Različite izoforme enzima različito su raspoređene po tkivima. Do sada nije otkriveno zbog čega postoji toliko oblika GPx, no budući hidroperoksidi imaju, osim toksične i korisnu ulogu kao molekule uključene u prijenos unutarstaničnih poruka ovi enzimi vjerojatno imaju ulogu u održavanju odgovarajuće fiziološke razine hidroperoksida kako bi stanice mogle nesmetano obavljati svoje funkcije (Lei G i sur, 2007; Miyamoto Y. i sur. 2003).



Slika 6. Kristalna struktura glutation-peroksidaze (Kavanagh i sur. in press)

5.2. Minerali

Anorganski spojevi minerali čine 4.5% tjelesne mase, a velikim djelom se nalaze u kostima. Oni nemaju mogućnost stvaranja u organizmu. Zbog toga cijeli se period života moraju unositi putem hrane, vode ili lijekova. Životinjski organizam sadrži stalne stabilne količine minerala i održava stabilne koncentracije u plazmi. Minerali imaju značajnu ulogu u građi enzima, hemoglobina, hormona, proteina, vitamina i tako utječu na gotovo sve segmente organizma. U organizam ulaze u obliku anorganskih soli ili organskih spojeva. U antiosidacijkoj obrani organizma, među brojnim mineralima, najčešće se spominju bakar, cink i selen. Bilo kao dijelovi proteina, enzima ili antioksidansa.

5.2.1. Bakar

Mikroelement bakar ima značajnu metaboličku ulogu u životinjskom organizmu. Mišićno tkivo, jetra i koštana srž sadrže bakar u velikim količinama. Nešto niže koncentracije Cu nalaze se u bubrezima, plućima i srcu. Izražena sposobnost stvaranja rezervi bakra je u jetri fetusa preživača. Brojne su funkcije bakra u organizmu. Jedna od važnijih fizioloških funkcija je da zajedno sa Fe sudjeluje u sintezi hemoglobina, u ulozi katalizatora. Točnije, bakar djeluje na proizvodnju i sazrjevanje eritrocita. Nadalje, sastavni je kofaktor proteina i pokretač brojnih enzima, u prvom redu citokrom-C-oksidaze i katalaze. Bakar sudjeluje i u procesima okoštavanja te pravilnoj funkciji živčanog i reproduktivnog sustava. U redovitim krmivima bakra ima u dovoljnim količinama. Ukoliko dođe do deficita nastaju razni poremećaji kao što su anemija, depigmentacija dlake i vune, smanjenje potrošnje hrane, smanjenog porasta, poremećaja u kostima, slabiji rad srca i smanjenu reproduktivnu sposobnost životinja. Nedostatak Cu kod mliječnih krava izaziva ozbiljne poremećaje, prvenstveno uginuća embrija i pobačaje, a kod mladih životinja u vrijeme hranjenja mlijekom može se pojaviti i mikrocitna anemija. Manjak bakra kod preživača uzrokuje rahitis i simptome slične osteoporozi (Domaćinović, 2006).

5.2.2. Cink

Cink se u malim količinama nalazi u mnogim organima i tkivima životinjskog organizma (30mg/kg TM). U organizmu se najviše nalazi vezan za proteine, u jetri, kostima i mlijeku a sudjeluje i u izgradnji raznih enzima i enzimskih sustava. Ovoga minerala u pravilu ima dovoljno u stočnoj hrani. Nedostatak Zn uglavnom se odnosi na mlade i rasplodne životinje. Manjak izaziva poremećaje intermedijalnog metabolizma. Također utvrđeno je i da manjak cinka uzrokuje pojavu steriliteta kod muški i ženskih životinja, a zbog nepravilnog razvoja kostiju dolazi do skraćivanja kostiju, tzv. " patuljasti rast" (Domaćinović, 2006).

5.2.3. Selen

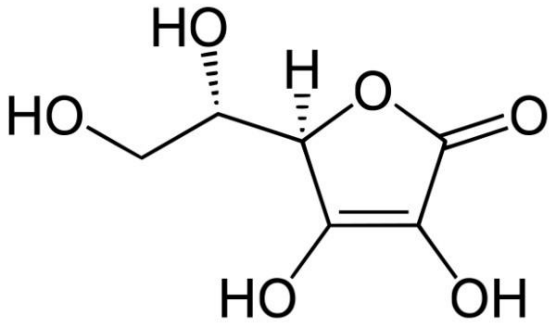
Uloga selena u organizmu je esencijalna. U većoj količini prisutan je u testisima, mišićnom tkivu, bubrezima kao i u rožnatom tkivu. Selen u životinjskoj stanici ima ulogu antioksidansa. Sastavni je dio enzima glutation peroksidazu i izravno doprinosi razgradnji stvorenih peroksida u stanici inhibirajući njihov negativan utjecaj u stanici. Aktivnost Se osobito se ističe kod preživača. Mliječnim kravama selen ima stimulativni učinak na zdravlje vimena i broj somatskih stanica u mlijeku tijekom laktacije. Selenom su bogati proteini krmiva i ribe, ali ipak je bolje iskorištenje selena iz biljnih krmiva. Za sigurniju opskrbu životinjskog organizma seleneom životinjama se u hrani kombiniraju preparati na bazi kvasca koji imaju sposobnost pretvaranja većeg djela za organizam nedostupnog natrij-selenita iz biljne hrane (soje, kukuruza, pšenice) u koriniji selenometionin. Pojava deficita selena prvenstveno se javlja kod preživača, odražava se smanjenim porastom, zaostajanjem posteljice kod krava i slabim preživljavanjem mladunčadi (Domaćinović, 2006).

5.3. Vitamini

Vitamini su organski spojevi koji se nalaze u hrani. Nalaze se u vrlo malim količinama, no unatoč tome nužni su za normalno funkcioniranje životinjskog organizma. Vitamini se djele u dvije osnovne skupine. U prvu skupinu, vitamina topivih u mastima, pripadaju vitamini A, D, E i K. Drugu skupinu čine vitamini topivi u vodi. Najznačajniji su vitamin C i vitamini B skupine. Nezamjenjivi su biološki katalizatori, reguliraju vitalne procese nužne za normalan metabolizam stanica i tkiva. Uključeni su u stvaranje kolagena, koštane mase, metabolizam masti, ugljikohidrata i proteina, process zgrušavanja krvi itd. Sami po sebi, vitamini ne posjeduju kaloričnu vrijednost, ne daju energiju, ali su prirodni katalizatori koji omogućuju oslobađanje energije poticanjem metaboličkih procesa. Ključni vitamini, koji imaju antioksidativno djelovanje su vitamin C, vitamin E i β-karoten.

5.3.1. Vitamin C

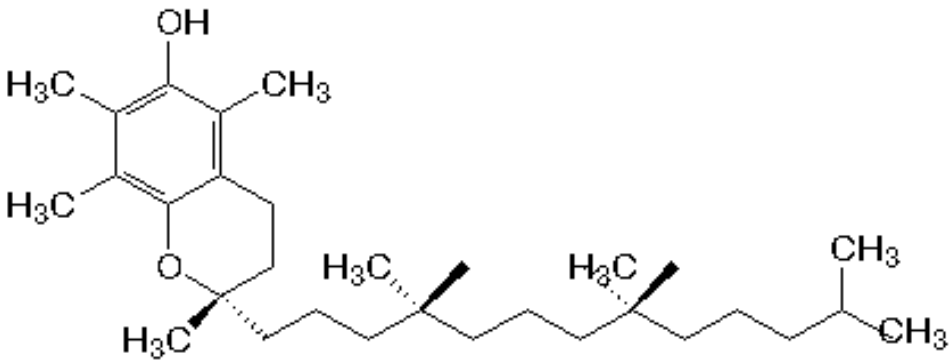
Vitamin C ili askorbinska kiselina pripada skupini vitamina topivih u vodi. U endogenom prometu tvari ima višestruku ulogu. Sudjeluje u oksidacijsko-redukcijskim procesima, sintezi kolagena, karnitina, hormona nadbubrežne žljezde. Vitamin C, odnosno njegov ionizirani oblik, askorbat, nužan je za trajnu aktivnost prolil-hidroksilaze. Ovaj enzim katalizira pretvorbu α- ketoglutarata u sukcinat, bez hidroksiliranja prolina. U toj parcijalnoj reakciji dolazi do stvaranja oksidiranog željezovog kompleksa koji inaktivira enzim. U tom slučaju uloga aksorbata je da reducira feri- ion inaktivnog enzima. Tjekom oporavka dolazi do oksidacije askorbata u dehidroaskorbinsku kiselinu. Na taj način askorbat djeluje poput specifičnog antioksidansa. Kao antioksidans, vitamin C direktno sudjeluje u smanjnju oštećenja tkiva uzrokovanih djelovanjem ROS-a, snižavajući vrijednosti slobodnih radikala, inzulina i triglicerida u plazmi, pozitivno utječe na raspoloživost glukoze. Vitamin C antioksidacijski može djelovati i kao koantioksidans. Točnije, sudjeluje u procesu obnove vitamina E, u njegovom provođenju iz oksidiranog u reducirani oblik.Veće koncentracije vitamina C nalaze se u zelenim biljkama, općenito svježoj voluminoznoj hrani. Najbolji izvori vitamina C su zelena lucerna, kelj, repa, silaža i drugo (Domaćinović, 2006).



Slika 7. Strukturna formula vitamina C (https://www.uic.edu/classes/phar/phar332/Clinical_Cases/vitamin%20cases/vitamin%20E/Vitamin%20E%20Chemistry.htm*)*

5.3.2. Vitamin E

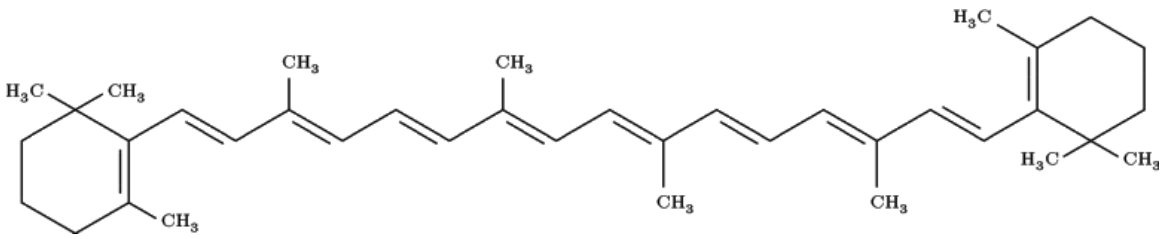
Vitamin E ili tokoferol pokazuje snažan antioksidacijski učinak. Zajedno sa selenom iz hrane spriječava oksidaciju višestruko nezasićenih masnih kiselina, reagira sa slobodnim radikalima, štiti nezasićene membranske lipide od oksidacije. Svojim antioksidacijskim djelovanjem odgađa odumiranje stanica, ima i ulogu u razvoju te održavanju funkcije mišićnog i živčanog sustava. Kao biološki antioksidans vitamin E lako oksidira u tokokinon sprječavajući oštećenje lipidnih membrana, oksidaciju masti i nastajanje otrovnih lipoperoksida. Posredno preko antioksidativne funkcije vitamin E izravno utječe na stabilnost vitamina A i C i njihovu opskrbljenost u organizmu. Simptomi nedostatka vitamina E su različiti. Kod životinja u reprodukciji izaziva degenerativne promjene i atrofije na spolnim organima, kod muških životinja prestanak spermatogeneze i sterilitet, a kod ženskih životinja dolazi do ugibanja ploda u razdoblju bremenitosti, rađaju se slaba i avitalna mladunčad, a česti su i pobačaji. U nedostatku vitamina E poznata je pojava edema, odnosno nakupljanja vode u tkivu, a masno tkivo poprima žutu boju. Tokoferoli su prirodno široko rasprostranjeni, tako su u animalnim krmivima pretežito u obliku α- tokoferola, a u zrnjevlju žitarica i klicama jedan dio u obliku α- tokoferola a drugi dio svi drugi oblici tokoferola. Od stočnih krmiva, vitaminom E bogate su klice žitarica i većina uljarica, sporedni proizvodi prerade žitarica, zeleno krmno bilje, dobro sjeno i silaža (Domaćinović, 2006).



Slika 8: Strukturna formula vitamina E
(https://www.uic.edu/classes/phar/phar332/Clinical_Cases/vitamin%20cases/vitamin%20E/Vitamin%20E%20Chemistry.htm)

5.3.3. β –karoten

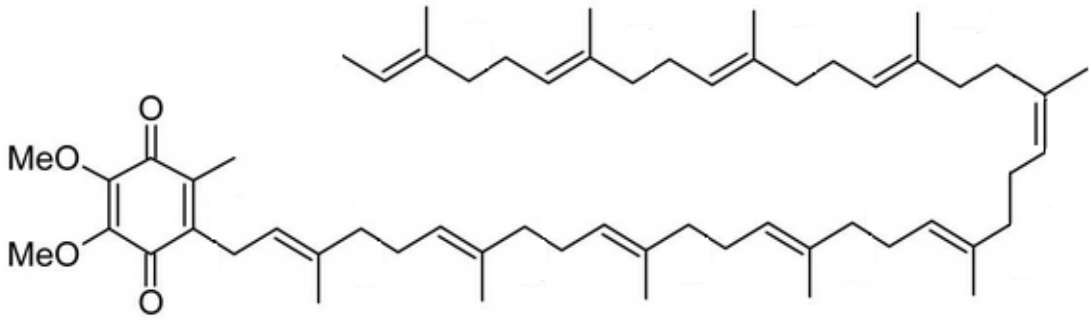
Karoten je najaktivniji karotenoid u biljkama. Smatra se provitaminom A jer ga životinjski organizam bez poteškoća može pretvoriti u vitamin A. Sinteza vitamina A odvija se u sluznici tankog crijeva, jetri, slezeni i mliječnoj žlijezdi. U idealnim uvjetima provitamin β-karoten, uz pomoć enzima karotenaze i molekula β-karotena cijepa se i nastaju dvije molekule vitamina A. U hranidbi domaćih životinja vitamin A ima vrlo velik fiziološki značaj. Utječe na raznmožavanje i regeneraciju stanica, naročito kod životinja u posrastu. Provitamin A je astioksidacijskog djelovanja, a djeluje tek nakon što se iscrpe sve raspoložive količine vitamina E. Vrlo je učinkovit "čistač" slobodnih radikala kisika. Kod životinjskih krmiva najbolji izvori β-karotena su riblje brašno, lišće lucene, djeteline, zrnevlje žutog kukuruza, prosa i lanenog sjemena, klice zrna žitarica i trava i crvena mrkva (Domaćinović, 2006).



Slika 9: Strukturna formula β-karotena
(https://www.google.hr/search?q=vitamin+e+struktura&biw=1093&bih=498&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwif3NectbvLAhUFyXIKHaoTAt4Q_AUIBygB#tbm=isch&q=provitamin+A+structure&imgrc=38eB-DhlSvQtrM%3A)

5.3.4. Koenzim Q10

Koenzim Q10, odnosno ubikinon, jedan je od osnovnih tjelesnih koenzima a u prirodi je vrlo rasprostranjen. Neesencijalna je supstanca vrlo sličnog sastava vitaminima. Reducirani oblik ubikinona, ubikinol, djeluje kao antioksidans u borbi protiv reaktivnih kisikovih radikala, a pomaže i u očuvanju vitamina E (Stryer,2013).

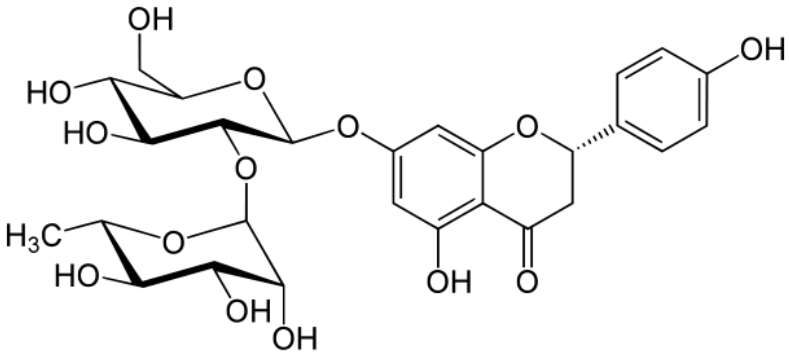


Slika 10: Strukturna formula koenzim Q10
(http://nutrientjournal.com/coenzyme-q10-coq10-moderate-effects-on-exercise/)

5.4. Ostale vitaminske- biološko djelatne tvari

5.4.1. Bioflavonoidi

Bioflavonoidi ili vitamini P skupine su prirodnih pigmenata u biljkama, voću, zrnevlju žitarica i cvijeću. Po osnovnoj žutoj boji dobili su naziv flavonoidi. Tri bolje poznata predstavnika flavonoida su: hesperidin, naringin i rutin. U kombinaciji s vitaminom C, flavonoidi utječu na poboljšanje kapilarne jakosti i propustljivost u organizmu. Ovom fiziološkom aktivnošću bioflavonoidi su prevencija oštećenja kapilara i pojave hemoragija, pri čemu posredno stvaraju zaštitu od infekcija. Kao antioksidansi, flavonoidi štite stanične organele i stanične membrane od oštećenja koje uzrokuju reaktivne kisikove vrste. Njihova uloga je da djeluju kao hvatači slobodnih radikala inaktivirajući ih. Visoko reaktivne hidroksilne grupe flavonoida direktno reagiraju sa slobodnim radikalima. Pri takvoj reakciji nastaju stabilniji i manje reaktivni fenolni radikali. Isto tako, još je jedan način antioksidativnog djelovanja flavonoida, a to je stvaranje kelatnih kompleksa s ionima metala poput željeza ili bakra. Slobodni ioni metala povećavaju formiranje reaktivnih kisikovih vrsta reducirajući vodikov peroksid pri čemu nastaje visoko reaktivni hidroksilni radikal (Magdić, 2014). Flavonoidi, stvaranjem kelatnih kompleksa s ionima metala sprječavaju stvaranje ROS-a (Domaćinović, 2006).



Slika 11: Strukturna formula naringina

(https://en.wikipedia.org/wiki/Naringin)

6. BOLESTI MLJEČNIH KRAVA UZROKOVANE OKSIDATIVNIM STRESOM

6.1. Prenatalni i postnatalni gubitci teladi

Prenatalni gubitci, osim steriliteta, uzrokuju slabiju reprodukcijsku moć krava. Takvi gubitci javljaju se u razdoblju embrionalnog rasta i razvitka ili u fetalnom periodu. Embrionalni gubitci nastaju usljed slabog razvoja, diferencijacije, i tako posljedica nutritivnih disbalansa. Fetalni gubitci najčešće dolaze usljed fizioloških poremećaja, nepravilne hranidbe u vidu nedostatka vitaminsko mineralne komponente hrane. Najveći su gubitci teladi prilikom poroda i neposredno nakon poroda. Tijekom gravidnosti , Slobodni kisikovi radikali mogu oštetiti membranu žutog tijela koje je esencijalno za stvaranje progesterona i održavanje trudnoće na taj način da smanjuju ili u potpunosti zaustavljaju proizvodnju progesterona što dovodi do nemogućnosti održavanja trudnoće (Caput, 1996).

6.2. Mastitis

Reducirana količina akorbinske kiseline u krvnom serumu životinje i povećane lipidne peroksidacije uzroci su koji vode lakšoj infekciji vimena odnosno mastitisa. Rezultat ove infekcije, koja može biti uzrokovana bakterijama Staphylococcus aureus, Staphylococcus agalactiae ili E. coli, je destrukcija sekretornog tkiva a krajnji rezultat je smanjenje proizvodnje ili čak izlučivanje krava iz proizvodnje. Simptomi pojave mastitisa su povećan broj leukocita, praćen povećanim sadržajem klorida u mlijeku, pada sadržaj kazeina i masti, a reste pH mlijeka. Povećana proizvodnja reaktivnih kisikovih vrsta u mlijeku isto tako narušava i organoleptička svojstva, smanjuje broj somatskih stanica, odnosno direktno narušava kvalitetu samog mlijeka (Caput, 1996).

6.2. Edem ili otok vimena

Edem ili otok vimena javlja se kratko prije ili u vrijeme telenja. Češće se javlja kod krava prvotelki i krava visećeg vimena. Uzroci mogu biti nakupljanje tkivne tekućine u vimenu, osobito u području između kože i sekretornog tkiva u donjim djelovima vimena. Vime postaje tvrdo, sise se skraćuju, a sve to stvara poteškoće kod mužnje. Osobito je teško pomusti svo mlijeko. Do otoka dolazi usljed smetnji u ravnoteži limfne formacije i istjecanja

limfe iz vimena čemu oksidativni stres i formacija ROS-a mogu uvelike prodonijeti. Povećani volumen i težina uzrokuju oštećenja suspenzornog sistema, pa dolazi do nastajanja visećeg vimena. (Caput, 1996)

6.4. Zaostajanje posteljice

Zaostajanje posteljice kod krava je poremećaj koji se dovodi u vezu s deficitom selena sa ili bez deficita vitamina E. Postotak zaostale posteljice sa vrijednostima selena na donjoj granici u plazmi može biti velik. Ako se selen dodaje u obrok ili unosi parenteralno, postotak se može smanjiti ispod 10% (Erskine i sur. 1997). Brojna ispitivanja su pokazala da dodavanje selena prije porođaja može smanjiti nastanak zaostale posteljice kod krava čiji je obrok bio deficitaran selenom (Allison i Laven, 2000).

6. HRANIDBA GOVEDA

Govedo je preživač i kao takav predstavlja najraznovrsniji oblik biljojeda, a način hranidbe i izbor krmiva prilagođen je njihovom anatomsko- fiziološkom sustavu probavnog trakta. Sa stajališta hranidbe to znači da se karakter, količina i kvaliteta krmiva kod sastavljanja obroka goveda, bitno razlikuje od onih koje upotrebljavaju nepreživači. Značajan dio obroka odraslih kategorija goveda čine voluminozna krmiva, ipak ona moraju biti dopunjena i koncentriranim krmivima, osobito u uvjetima visoke proizvodnje. Za pravilno provođenje hranidbe goveda potrebno je prije svega poznavati hranjivu vrijednost krmiva i njihove pogodnosti u određenoj kategoriji, a uz to potrebe životinja u određenoj proizvodnji. Pri sastavljanju obroka normiraju se sljedeći parametri:

- veličina obroka (suha tvar/ 100 kg tjelesne mase)
- količina sirove vlaknine (% od suhe tvari)
- energetska vrijednost obroka (HJ, NEL, NEM)
- količina probavljivih i sirovih bjelančevina (g)
- količina kalcija (g)
- količina fosfora (g)
- količina soli (g)
- količina karotina (g)

Od primjene hrane u obliku cjelodnevnog obroka životinja upotrebljava jedan dio za podmirenje uzdržnih, a drugi dio, za podmirenje produktivnih potreba. Hrana namjenjena za uzdržne potrebe omogućuje životinji obavljanje osnovnih životnih funkcija. Podmirenjem produktivnih potreba omogućuje životinji proizvodnju bilo u obliku proizvodnje mesa, mlijeka ili kod bremenitih životinja porast u fetusu. (Domaćinović,1999)

6.1. Hranidba mliječnih krava

Laktacija kod krava počinje partusom, a završava zasušivanjem krave. Vremenski bi trebala trajati oko 305 dana. Svaki reprodukcijski ciklus krave djeli se u nekoliko razdoblja

- suhostaj
- puerperij
- uvod u mliječnost
- razdoblje pune laktacije

Svaka od faza laktacije sa stajališta hranidbe, razlikuje se kako u kvalitativnom tako i u kvantitativnom smislu. Hranidba krava u laktaciji prilagođena je produktivnoj djelatnosti

usmjerenoj na sintezu mlijeka i razvoj fetusa (Domačinović,1999). Sve krave čija je primarna uloga proizvodnja mlijeka prolaze kroz vrijeme suhostaja u trajanju od dva mjeseca. U tim posljednjim danima bređosti krave se prestaju musti, a sva se pažnja kroz hranidbu i pravilno držanje usmjerava na pravilan razvoj fetusa. U ovom periodu, obroci su većinom sastavljani od voluminoznih krmiva i nusproizvoda prehrambenih industrija, ali malim djelom i koncentriranih krmiva. Kod krava u suhostaju bitno se povećavaju potrebe za vitaminskom i mineralnom komponentom hrane, a povećani se naglasak daje vitaminsko-mineralnom dodatku hrane (Domaćinović,1999). Jedan od mogućih vitaminsko mineralnih dodataka za krave u suhostaju među brojnim komponentama sadrži i:

Tablica1: Neki od sastojaka vitaminsko-mineralnog preparata za krave u suhostaju

Vitamin A		bakar	2,5 g
vitamin D_3		željezo	5 g
vitamn E	0,2 g	cink	8 g
kalcij	70 g	selen	5 g
fosfor	50 g	antioksidansi	5 g

Izvor: M. Domaćinović, Praktikum vježbi hranidbe domaćih životinja

Iz ove tablice, jasno je vidljivo da antioksidansi, bilo u mineralnom ili vitaminskom obliku, predstavljaju vrlo važnu komponentu u hranidbi krava u suhostaju. Među izdvojenima vitamin A, vitamin E, bakar, cink, selen i ostali antioksidansi imaju ulogu zamjene izvora antioksidansa iz prirodnih izvora. Nakon partusa nastupa razdoblje puerperija. Ovo razdoblje predstavlja izuzetno stresno razdoblje za životinju pred kojom slijedi proizvodnja mlijeka. Prvih šest dana nakon telenja karakteriziraju jednostavna krmiva. Hranidba u punoj laktaciji prilagođena je produktivnoj djelatnosti usmjerenoj ka sintezi mlijeka. Za mliječna goveda, obroci obzirom na godišnja doba razlikuju ljetno i zimsko razdoblje. Visoka proizvodnja zahtjeva i veliku količinu energije, isto tako, i visoke količine mineralnih i vitaminskih komponenti obroka. Prilikom hranidbe domaćih životinja, u ovom smislu mliječnih goveda, moramo obaratiti pažnju i na nutritivni značaj obroka, mineralnu komponentu i sl. Pravilno prilagođen obrok može uvelike smanjiti mogućnost nastanka oksidativnog stresa, u prvom redu kombiniranjem krmiva koja imaju antioksidacijsko djelovanje.

8. KRMIVA BOGATA ANTIOKSIDANSIMA

Antioksidansi, kao dodatak hrani za životinje, imaju osnovnu funkciju spriječavanja oksidacije masne komponente hrane, liposulabilnih vitamina (A, D, E, i K) te pigmentnih tvari u hrani (karotena i karotenoida). Osobito su potrebni u krmivima ili krmnim smjesama u kojima je povećan udio masti s nezasićenimmasnim kiselinama, kao što su mliječna zamjenica te mesno i riblje brašno. Nutritivni značaj antioksidansa ogleda se u prevenciji negativnih posljedica na organizam životinje, nastalih kao rezultat oksidacije masnih tvari hrane: probavne smetnje, smanjenje vitaminske, energetske i bjelančevinaste vrijednosti hrane (Domaćinović, 2006). Svi ovi čimbenici, kao krajnji rezultat imaju pojavu bolesti. Bolesti mliječnih krava koje su moguće uzrokovane oksidativnim stresom su edem vimena, mastitis, degenerativne bolesti reproduktivnog sustava koje mogu voditi ka pobačaju ili sterilitetu. Kako bi spriječili stanje oksidativnog stresa potrebno je balansirati obrok u vidu povećanja udjela stočne hrane koja ima antioksidativno djelovanje. Hrana bogata antioksidansima su mahunarke kao što su bob i soja. Od žitarica to su ječam, proso, zob i kukuruz (Caput, 1996).

10. ZAKLJUČAK

Oksidativni stres kod mliječnih krava uzrokovan je povećanom proizvodnjom reaktivnih radikala kisika (ROS, *eng. reactive oxygen species*) u organizmu životinje, bez dovoljno antioksidansa koji bi reagirali sa ROS i prekinuli njihovo štetno djelovanje. Povećana količina ROS u organizmu, narušava prirodnu homeostazu djelujući negativno na niz procesa. Kod mliječnih krava jedan je od uzroka mastitisa, edema vimena, steriliteta, abortusa, pobačaja ili smrti teladi. Krajnji rezultat jest smanjenje proizvodnje mlijeka i izlučivanje goveda iz proizvodnje. U borbi protiv oksidativnog stresa pomažu antioksidansi kao što su antioksidacijski enzimi: katalaza, glutation-peroksidaza i superoksid-dismutaza. Vitamini A, E i C, bioflavonoidi, minerali kao što su bakar, cink i selen i razne druge djelotvorne tvari. Prilikom hranidbe domaćih životinja, u ovom smislu mliječnih goveda, moramo obaratiti pažnju i na nutritivni značaj obroka, mineralnu komponentu, vitaminsku komponentu i antioksidativno djelotvorni udio obroka. Pravilno prilagođen obrok može uvelike smanjiti mogućnost nastanka oksidativnog stresa, u prvom redu kombiniranjem krmiva koja imaju antioksidacijsko djelovanje kao što su bob, soja, kukuruz, ječam, proso, i razni drugi.

11. POPIS LITERATURE

1. Sayeed, I., Parvez, S., Pandey, S., Bin-Hafeez, B., Haque, R. i Raisuddin, S.: Oxidative stress biomarkers of exposure to deltamethrin in freshwater fish, Channa punctatus Bloch. Ecotoxic. Envir. Safety. 2003, 56, 295-301.
2. Morales, A.E., Perez-Jimeney, A., Hidalgo, M.C., Abellan, E. i Cardenete, G.: Oxidative stress and antioxidant defenses after prolonged starvation in Dentex dentex liver. Comp. Biochem. Physiol. Part C, 2004, 139, 153-161.
3. Kelly, S.A., Havrilla, C.M., Brady, T.C., Abramo, K.H. i Levin, E.D. : Oxidative stress in toxicology: established mammalian and emerging piscine model systems. Envir. Health Persp., 1998, 106: 375-384.
4. Niviere V, Fontecave M. Biological sources of reduced oxygen species. U: Favier i sur. Analysis of free radicals in biological systems. Birkhauser Verlag Basel, Switzerland 1995:11-19;
5. Gutteridge JMC. Biological origin of free radicals, and mechanisms of antioxidant protection. Chem Biol Interac, 1994; 91:113-140.
6. Lee HC, Wei YH. Mitochondrial role in life and death oft he cell. J Biomed Sci 2000; 7:2-15.
7. Fulton D, McGiff JC, Wolin MS i sur. Evidence against cytochrome P450- derived reactive oxygen species as the mediator of the nitric oxide-independent vasodilator effect of bradykinin in the perfused heart of th rat. J Pharm Exp Therap 1997; 280:702-709.
8. Sen CK. Antioxidant and redox regulation of cellular signaling: introduction. Med Sci Sports Exerc 2001; 33 (3): 368-70
9. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. Br Med Bull 1993; 49 (3): 481-93
10. Rimbach G, Hohler D, Fischer A, et al. Methods to assess free radicals and oxidative stress in biological systems. Arch Tierernahr 1999; 52 (3): 203-22
11. Beattie SD Bioenergetics and oxidative metabolism. In: Devlin, TM. ed. Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations. 6th ed. New York, NY: Wiley-Liss, 2006; pp. 978-989
12. Dekkers JC, van Doornen LJ, Kemper HC. The role of antioxi dant vitamins and enzymes in the prevention of exercise-induced muscle damage. Sports Med 1996; 21 (3): 213-386

13. Likkesfeldt, J.; Svedsen, O. Oxidants and antioxidants in disease: Oxidative stress in farm animals. The Veterinary Journal, 2007 v.173, 502-511
14. Clarkson, P.M. and Thompson, H. S. Antioxidants: what role di they play in physical Activity and health, Am. J. Clin. Nutr., 2000, 72, 637-646
15. Tesfamariam B. Free radicals in diabetic endothelial cell dysfunction, Free Radic. Biomed., 1994, 16(3), 383-391
16. Cetin, H., Yaralioglu Gürgöze, S., Keskin, O., Atli, M. O. and Korkmaz, O. Investigation of Antioxidant Enzymes and Some Biochemicals Parametrs in Ewes with Gangrenous Mastits, Turk J. Vet. Anim. Sci., 2003,29;303-330
17. Wilde D., Influence of macro and micro minerals in the periparturient period on fertility in dairy cattle, Animal Reproduction Science, 2006, 96, 240-249
18. NRC-National Research Council, 2001. Nutrient requirements of dairy cattle, seventh reviseded., National Academic Press, Washington, DC, USA
19. Pham-Huy LA, Pham-Huyc, Free radicals, Antioxidants in Disease and Health, Int. J. Biomed.Sci., 2008, 4, 89-96
20. Radimer KL, Bindewald B, Hughes J, et al. Dietary supplement use by US adults: data from national health and nutrition examination Survey, 2004, Am. J Epidemio, 160; 339-349
21. Sevanian A. and Ursini F., Free Radic Biol Med 2000; 29:306-311.
22. Beckman KB, Ames BN. Oxidative decay of DNA. J Biol Chem 1997; 272:19633–19636.
23. Urquiaga, I. Leighton F., Plant Polyphenol Antioxidants and Oxidative Stress, 2000 Biol. Res. v.33 n.2 Santiago
24. Aruoma OI, Neergheen VS, Bahorun T, Jen LS Free Radicals, Antioxidants and Diabetes: Embryopathy, Retinopathy, Neuropathy, Nephropathy and Cardiovascular Complications. Neuroembryol Aging, 2000; 4: 117-137
25. Popov, I. and Lewin, G.,:Photosensibilisierte Chemolumineszens bei der Quantifisierung von Antioxidantien, BIO Forum, 2000, 1-2, 46-48.
26. Valko M, Izakovic M, Mazur, M, Rhodes CJ. and Telser, J. (2004) Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence, Mol.Cell. Biochem. 266: 37–56.
27. Poli, G. Leonarduzzi, G. Biasi, F. Chiarpotto, E. 2004. Oxidative stress and cell signaling. Curr. Med. Chem. 11: 1163–1182.

28. Halliwell, B. 1996. Antioxidants in human health and disease, Ann. Rev. Nutr. 16: 33–50.
29. Yavuz T, Altuntas I, Delibas N, Yildirim B, Candir O, Cora A, Karahan N, Ibrisim E, Kutsal A. (2004). Cardiotoxicity in rats induced by methidathion and ameliorating effect of vitamins E and C. Hum Exp Toxicol. 23:323–329.
30. Onyema OO, Farombi EO, Emerole GO. and Ukoha AI. 2006. Effect of Vitamin E on monosodium glutamate induced hepatotoxicity and oxidative stress in rats. Ind. J. Biochem. Biophys. 43: 20-24.
31. Moreira da Silva F, Marques A. and Chaveiro A. 2010. Reactive Oxygen Species: A Double-Edged Sword in Reproduction. The Open Veterinary Science Journal. 4: 127-133.
32. Dennery PA. 2004. Role of redox in fetal development and neonatal diseases. Antioxid Redox Signal 6(1): 147-53.
33. Pressman EK, Cavanaugh JL, Mingione M, et al. 2003. Effects of maternal antioxidant supplementation on maternal and fetal antioxidant levels: a randomized, double-blind study. Am J Obstet Gynecol 189(6): 1720-5..
34. Fainaru O, Almog B, Pinchuk I, et al. 2002. Active labour is associated with increased oxidisibility of serum lipids ex vivo. BJOG 109(8): 938-41.
35. Sugino N, Takiguchi S, Kashida S, et al. 2000. Superoxide dismutase expression in the human corpus luteum during the menstrual cycleand in early pregnancy. Mol Hum Reprod 6(1): 19-25.
36. Sharma RK, Agarwal A. (2004) Role of reactive oxygen species in gynecologic diseases. Reprod Med Biol 3(4): 177-99.
37. Ray SD, Lam TS, Rotollo JA, et al. 2004. Oxidative stress is the master operator of drug and chemically-induced programmed and unprogrammed cell death: Implications of natural antioxidants in vivo. Biofactors 21(1-4): 223-32.
38. Sordillo, LM., Contreras GA. and Aitken. SL. 2009. Animal Health Research Reviews. 10:53-63. (A review of current thinking regarding oxidative stress in periparturient dairy cattle).
39. Aitken SL, Karcher P. Rezamand JC, Gandy M.J, VandeHaar AV, Capuco, and LM. Sordillo. 2009. J. Dairy Sci. 92:589-598.
40. Nemat Khansari, Yadollah Shakiba and Mahdi Mahmoudi .2009. Chronic Inflammation and Oxidative Stress as a Major Cause of Age- Related Diseases and Cancer. Recent Patents on Inflammation & Allergy Drug Discovery. 3: 73-80.

41. Freeman BM. 1987. The stress syndrome. World's Poult.Sci. J. 43: 15-19.
42. Vázquez-Añón MJ, Nocek G, Bowman T, Hampton C, Atwell P, Vazquez and T Jenkins. 2008. Effects of feeding a dietary antioxidant in diets with oxidized fat on lactation performance and antioxidant status of the cow. Journal of Dairy Science. 91:3165-3172.
43. Winston, G.W. i Di Giulio, R.T.: Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. Aquat. Toxicol. 1991, 19, 137-161.
44. Weisiger R. A., Fridovich I., Mitochondrial Superoxid dismutase-site of synthesis and intramitochndrial localization, J. Biol. Chem. 1973, 248, 4793-4796.
45. McCord J. M., Fridovich I., Superoxid-dismutase - the1st 20 Years (1968-1988); 1988, Free Radic. Biol. Med. 5, 363-369.
46. Bull C., Niederhoffer E. C., Yoshida T., J. A. Kinetic-studies of Superoxide dismutase-properties of the manganese-containing protein from thermos-thermophilus, Fee, J. Am. Chem. Soc. 1991, 113, 4069-4076.
47. Quint P, Reutzel R., Mikulski R., McKenna R. and Silverman D. N., Crystal structure of nitrated human manganese superoxide dismutase: Mechanism of inactivation, Free
    a. Radic. Biol. Med. 2006, 40, 453-458.
48. Sentman M. L., Granstrom M., Jakobson, H. Reaume, A. Basu S., Marklund S. L., Phenotypes of mice lacking extracellular superoxide dismutase and copper- and zinc
    a. containing superoxide dismutase, J. Biol. Chem. 2006, 281, 6904-6909.
49. Bravo, J., Verdaguer, N., Tormo, J., Betzel, C., Switala, J., Loewen, P.C., Fita, I., Crystal structure of catalase HPII from Escherichia coli, Structure, 1995, 3: 491-502.
50. Lei XG, Cheng WH, McClung JP. Metabolic regulation and function of
    a. glutathione peroxidase-1. Annu Rev Nutr 2007;27:41-61.
51. Miyamoto Y, Koh YH, Park YS i sur. Oxidative stress caused by inactivation of glutathione peroxidase and adaptive responses. Biol. Chem., 2003;384:567-74.
52. Kavanagh, K.L., Johansson, C., Smee, C., Gileadi, O., von Delft, F., Oppermann, U. Crystal structure of the selenocysteine to glycine mutant of human glutathione peroxidase, in press
53. Blaha, L., Kopp, R., Šimkova, K. i Mareš, J.: Oxidative stress biomarkers are modulated in Silver carp (Hypophthalmichthys molitrix Val.) exposed to microcystinproducing cyanobacterial water bloom. Acta Vet. Brno., 2004,73, 477-482.
54. Storey, K.B.: Oxidative stress: animal adaptations in nature. Braz. Jour. Med. Biol. Res., 1996, 29, 1715-1733.

55. U. Sontakke, M. Bhakat i G. Mondal, Oxidative Stress and Fertility in Dairy Animals, Dairy Cattle Nutrition Division, National Dairy Research Institute, Karnal, India, Dairy cattle, 2014.
56. C. Manach, A. Scalbert, C. Morand, C. Rémésy, L. Jiménez, Polyphenols: food sources and bioavailability 1,2, The American journal of clinical nutrition, vol. 79 no. 5 ,727-747, 2004.
57. J. M. Besle, D. Viala, B. Martin, P. Pradel, B. Meunier, J. L. Berdagué, D. Fraisse, J.L. Lamaison, J.B. Coulon, Ultraviolet-absorbing compounds in milk are related to forage polyphenols,Journal of dairy science, Vol.93, Iss.7, 2846–2856, 2010.

Korištenje internetskih stranica:

1. http://en.engormix.com/MA-dairy-cattle/genetic/articles/oxidative-stress-fertility-dairy-t3193/103-p0.htm

2. http://ajcn.nutrition.org/content/79/5/727.full

3. http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0716-97602000000200004&script=sci_arttext

SVEUČILIŠNI UDŽBENICI

1. Caput, P. (1996), Govedarstvo, Zagreb, Celeber d.o.o.
2. Matić, N. i sur (1987) Govedarstvo, Beograd, Zavod za udžbenike i nastavna sredstva
3. Amić, D. (2008), Organska kemija za student agronomske struke, Zagreb, Školska knjiga
4. Stryer i sur. (2013), Biokemija, Zagreb, Školska knjiga
5. Domaćinović (2006), Hranidba domaćih životinja, Osijek, Poljoprivredni fakultet u Osijeku
6. Domaćinović (1999), Praktikum hranidbe domaćih životinja, Osijek, Sitograf d.o.o.

12. SAŽETAK

Na plodnost mliječnih krava mogu utjecati razni čimbenici bili oni genetski, okolišni ili hranidbeni. Uz kompleksnu interakciju ovih čimbenika teško je odrediti točan razlog. Jedan od mogućih razloga mogao bi biti stres definiran kao stres uzrokovan visokom proizvodnjom mlijeka, abiotički stres ili oksidativni stres. Okisadivni stres predstavlja neravnotežu u proizvodnji slobodnih kisikovih radikala i nedostatka antioksidansa u tijelu. Oksidativni stres kod mliječnih krava može uzrokovati reproduktivne poremećaje koji direktno utječu na pad proizvodnje. Poremećaji kao što su otok vimena, zaostajanje posteljice i mastitis mogu smanjiti proizvodnju mlijeka, njegovu industrijsku vrijednost i nepovoljno utjecati na proizvodni ciklus samog goveda. Kao rezultat pojavljuje se izostajanje estrusa, opća ne mogućnost začeća ili smrt embrija u ranom periodu nakon začeća. Svim ovim poremećajima može pridonijeti oksidativni stres. U borbi protiv oksidativnog stresa služe antioksidansi. Nastaju prirodnim putem metabolizma stanice ili se u organizam unose hranom, u obliku vitaminskih suplemenata. Kao takvi, onemogćuju stvaranje novih slobodnih radikala u organizmu, popravljaju oštećenja nastala štetnim djelovanjem ili uništavaju u organizmu već stvorene reaktivne radikale. Antioksidansi se djele u dvije skupine a to su skupina antioksidacijskih enzima i skupina malih molekula antioksidansa u koju pripadaju tvari dobro topive u vodi i lipidima. Antioksidacijski enzimi su superoksid-dimutaza, katalaza, glutation-perosidaza. Drugu skupinu antiosidansa spadaju “ čistači” slobodnih radikala, odnosno pretvaraju nezasićene i vrlo reaktivne molekule kisikovih radikala u nove, inaktivne i kemijski zasićene oblike koji nisu štetni za organizam. To su: askorbinska kiselina, tokoferol, flavonoidi, likopen, koenzim Q i minerali.

Ključne riječi: oksidativni stress, antioksidansi, reaktivne kisikove vrste, slobodni radikali

13. SUMMARY

Fertility in dairy cows can be affected by various factors. They can be genetic, environmental or food. With the complex interaction of these factors is difficult to determine the exact reason. One possible reason could be the stress defined as the stress caused by high milk production, abiotic stress or oxidative stress. Oxidative stress represents an imbalance betwen production of reactive oxygen species and lack of antioxidants in the body. Oxidative stress in dairy cows can cause reproductive disorders that directly affect the decline in production. Disorders such as uder edema, retained placenta and mastitis can reduce milk production, the industrial value and adversely affect the production cycle of the cattle. As a result, there is absence of estrus, impossibility of conception or death of the embryo in the early period after conception. All of these disorders can contribute to oxidative stress. In the fight against oxidative stress, antioxidants are used. Naturally occurring cellular metabolism or are assimilated with food, in the form of vitamin supplements. As such, preventing creation of free radicals in the body, repairing damage in the body already created by ROS. Antioxidants are classified into two categories : the antioxidant enzymes and the group of small molecule antioxidants that belong to the substance soluble in water and lipids. Antioxidant enzymes superoxide-dimutase, catalase, glutathione perosidase. The second group of antioxidants are "scavengers" of free radicals. They convert highly reactive species of oxygen in the new, inactive and chemically saturated forms that are not harmful to the organism. These are: ascorbic acid, tocopherol, flavonoids, lycopene, coenzyme Q and minerals.

Key words: oxidative stress, antioxidants, reactive oxygen species, free radicals

14. POPIS SLIKA

Slika 1. Shematski prikaz djelovanja antioksidansa

Slika 2. Shematski prikaz sustava antioksidacijskih enzima

Slika 3. Kristalna struktura humanog SOD2 enzima
Izvor: (Quit P., i sur, 2006)

Slika 4. Aktivno mjesto humane mangan-superoksid-dismutaze (SOD2)

Slika 5. Kristalna struktura katalaze
Izvor: (Bravo J, 1995)

Slika 6. Kristalna struktura glutation-peroksidaze
Izvor: (Kavanagh i sur. in press)

Slika 7: Strukturna formula vitamina C
Izvor: (https://www.uic.edu/classes/phar/phar332/Clinical_Cases/vitamin%20cases/vitamin%20E/Vitamin%20E%20Chemistry.htm)

Slika 8: Strukturna formula vitamina E
Izvor: (https://www.uic.edu/classes/phar/phar332/Clinical_Cases/vitamin%20cases/vitamin%20E/Vitamin%20E%20Chemistry.htm)

Slika 9: Strukturna formula β-karotena
Izvor: (https://www.google.hr/search?q=vitamin+e+struktura&biw=1093&bih=498&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwif3NectbvLAhUFyXIKHaoTAt4Q_AUIBygB#tbm=isch&q=provitamin+A+structure&imgrc=38eB-DhlSvQtrM%3A)

Slika 10: Strukturna formula koenzim Q10
Izvor: (http://nutrientjournal.com/coenzyme-q10-coq10-moderate-effects-on-exercise/)

Slika 11: Strukturna formula narginina

https://en.wikipedia.org/wiki/Naringin

TEMELJNA DOKUMETACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Poljoprivredni fakultet u Osijeku

Završni rad

OKSIDATIVNI STRES I ANTIOKSIDACIJSKA AKTIVNOST KOD MLIJEČNIH KRAVA

OXIDATIVE STRESS AND ANTIOXIDATIVE ACTIVITY IN DAIRY COWS

Ana-Maria Crnoja

Sažetak: Na plodnost mliječnih krava mogu utjecati razni čimbenici bili oni genetski, okolišni ili hranidbeni. Jedan od mogućih razloga mogao bi biti stress uzrokovan visokom proizvodnjom mlijeka, abiotički stres ili oksidativni stres. Okisadivni stres predstavlja neravnotežu u proizvodnji slobodnih kisikovih radikala i nedostatka antioksidansa u tijelu. Oksidativni stres kod mliječnih krava može uzrokovati reproduktivne poremećaje koji direktno utječu na pad proizvodnje. Poremećaji kao što su otok vimena, zaostajanje posteljice i mastitis mogu smanjiti proizvodnju mlijeka, njegovu industrijsku vrijednost i nepovoljno utjecati na proizvodni ciklus samog goveda. Kao rezultat pojavljuje se izostajanje estrusa, opća ne mogućnost začeća ili smrt embrija u ranom periodu nakon začeća. U borbi protiv oksidativnog stresa služe antioksidansi koji onemogćuju stvaranje novih slobodnih radikala u organizmu, popravljaju oštećenja nastala štetnim djelovanjem ili uništavaju u organizmu već stvorene reaktivne radikale. Antioksidansi se djele u dvije skupine a to su skupina antioksidacijskih enzima i skupina neenzimatskih antioksidansa. Antioksidacijski enzimi su superoksid-dimutaza, katalaza i glutation-perosidaza. Drugu skupinu antiosidansa spadaju " čistači" slobodnih radikala: askorbinska kiselina, tokoferol, flavonoidi, likopen, koenzim Q i minerali.

Ključne riječi: oksidativni stress, antioksidansi, reaktivne kisikove vrste, slobodni radikali

Summary: Fertility in dairy cows can be affected by various factors. They can be genetic, environmental or food. One possible reason could be the stress caused by high milk production, abiotic stress or oxidative stress. Oxidative stress represents an imbalance betwen production of reactive oxygen species and lack of antioxidants in the body. Oxidative stress in dairy cows can cause reproductive disorders that directly affect the decline in production. Disorders such as uder edema, retained placenta and mastitis can reduce milk production, the industrial value and adversely affect the production cycle of the cattle. As a result, there is absence of estrus, impossibility of conception or death of the embryo in the early period after conception. In the fight against oxidative stress, antioxidants are used. They are preventing creation of free radicals in the body, repairing damage in the body already created by ROS. Antioxidants are classified into two categories : the antioxidant enzymes and non-enzymatic molecules. Antioxidant enzymes are superoxide-dimutase, catalase, glutathione perosidase. The second group of antioxidants are "scavengers" of free radicals: ascorbic acid, tocopherol, flavonoids, lycopene, coenzyme Q and minerals.

Key words: oxidative stress, antioxidants, reactive oxygen species, free radicals

Datum obrane: