

UNIVERSITATEA AGRARĂ DE STAT DIN MOLDOVA

Cu titlu de manuscris

CZU: 619:616–092.19–084:636.2

COCIU VALERIU

STRESUL OXIDATIV LA BOVINE ȘI COMBATEREA LUI

431.01. – TERAPIE, FARMACOLOGIE ȘI TOXICOLOGIE VETERINARĂ

Teză de doctor în științe medical-veterinare

Conducător științific:

HOLBAN Dumitru,
dr. habilitat în medicină veterinară,
profesor universitar

Autorul

CHIȘINĂU, 2015

© Cociu Valeriu, 2015

CUPRINS

	Pag.
ADNOTARE (română, rusă și engleză).....	5
LISTA ABREVIERILOR	8
INTRODUCERE	9
1. STRESUL OXIDATIV LA BOVINE, MODALITĂȚI DE EVALUARE ȘI COMBATERE	15
1.1. Noțiunea de status antioxidant („redox”) și stres oxidativ	15
1.2. Componentele sistemului de protecție antioxidantă și evaluarea acestuia	20
1.3. Impactul stresului oxidativ și modalitățile de prevenire ale acestuia	27
1.4. Concluzii la capitolul 1	39
2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE	41
2.1. Evaluarea statusului antioxidant la vacile sănătoase și la vacile cu cetoză	42
2.2. Modalități de optimizare ale statusului antioxidant la vaci	44
2.3. Modalități de optimizare ale statusului antioxidant la viței și variații de vârstă ale acestuia	48
2.4. Metodele de cercetare și analiză statistică.....	50
2.5. Concluzii la capitolul 2	55
3. STRESUL OXIDATIV LA VACILE SĂNĂTOASE ȘI LA VACI BOLNAVE DE CETOZĂ	56
3.1. Starea clinică, analiza urinei și examenul anatomo-patologic	56
3.2. Sistemul cardiovascular	63
3.3. Indicii eritronului.....	65
3.4. Indicii sistemului antioxidant	68
3.5. Concluzii la capitolul 3	72
4. MODALITĂȚI DE OPTIMIZARE ALE STATUSULUI ANTIOXIDANT LA VACI	74
4.1. Utilizarea antioxidantului sintetic Diludină	74
4.1.1. Starea clinică și productivitatea	74
4.1.2. Profilul metabolic și indicii eritronului	78
4.1.3. Indicii sistemului antioxidant	83
4.2. Utilizarea premixului mineralo-vitaminic	89
4.2.1. Starea clinică și productivitatea	89
4.2.2. Indicii hematologici și profilul metabolic	91

4.2.3. Statusul antioxidant	94
4.3. Concluzii la capitolul 4	98
5. MODALITĂȚI DE OPTIMIZARE ALE STATUSULUI ANTIOXIDANT	
LA VIȚEI ȘI VARIATII DE VÂRSTĂ ALE ACESTUIA	101
5.1. Influența oligomineralelor în formă anorganică și organică asupra statusului antioxidant	
la viței cu vârsta de 2,5 – 6 luni	101
5.1.1. Starea clinică, indicii productivi și indicii hematologici	101
5.1.2. Statusul antioxidant	104
5.2. Particularitățile statusului antioxidant la viței cu vârsta de 1,5-2 luni și vaci în	
prima lactație	114
5.2.1. Indicii clinici și indicii eritronului	115
5.2.2. Componentele enzimactice ale sistemului antioxidant	117
5.2.3. Dinamica activității anti- și prooxidante în sânge	122
5.2.4. Dinamica produselor de peroxidare a lipidelor în sânge	126
5.3. Concluzii la capitolul 5	136
CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI	139
BIBLIOGRAFIE	143
ANEXE	157
Anexa 1. Copia certificatului despre rezultatele examenului anatomo-patologic la vacile	
bolnave de cetoă (lotul B ₃)	158
Anexa2. Componenta rației la vacile din loturile B ₁₋₃	159
Anexa 3. Copia instrucțiunii de utilizare a antioxidantului sintetic Diludină	160
Anexa 4. Copia actului de implementare a rezultatelor științifice în procesul didactic	161
DECLARAȚIE PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII	162
CURRICULUM VITAE	163

ADNOTARE

COCIU Valeriu, „Stresul oxidativ la bovine și combaterea lui”. Teză de doctor în științe medical-veterinare, Chișinău, 2015. **Structura tezei:** introducere, 5 capitole, concluzii generale și recomandări; 142 pagini ale textului de bază cu 44 tabele și 49 figuri; bibliografia din 194 titluri; 4 anexe. Rezultatele sunt publicate în 14 lucrări științifice. **Cuvinte-cheie:** stres oxidativ, status antioxidant, sindrom de peroxidare, cetoza, Diludină, premix mineralo-vitaminic, Bioplex. **Domeniul de studii:** Terapie, farmacologie și toxicologie veterinară. **Scopul lucrării:** evaluarea sistemului antioxidant la bovine în funcție de starea fiziologică și vârsta animalelor (vacii în tranziție și debutul lactației; tineret taurin), elucidarea rolului stresului oxidativ în patogeneza unor stări morbide (cetoza, SML), și aprobarea unor măsuri complexe de optimizare ale statusului antioxidant la vaci și viței. **Obiectivele cercetărilor:** a) evaluarea particularităților statusului antioxidant la vacile sănătoase (perioada de tranziție și debutul lactației) și tineretul taurin, și elucidarea factorilor de risc în destabilizarea echilibrului “redox”; b) studierea eventualei implicări a stresului oxidativ în patogeneza cetozei și sindromului de mobilizare a lipidelor la vaci; c) elaborarea și aprobarea unor modalități de optimizare ale parametrilor statusului antioxidant la vaci și viței, prin utilizarea substanțelor cu proprietăți antioxidante de origine naturală și sintetică. **Noutatea și originalitatea științifică:** s-au obținut rezultate experimentale, referitoare la evaluarea dinamicii statusului antioxidant la vaci în perioada de tranziție și debutul lactației, și descrierea manifestărilor clinice, hematologice, pato-biochimice și morfopatologice ale „sindromului de peroxidare”- ca expresie a stresului oxidativ, la vacile cu cetoză. **Problema științifică importantă soluționată** rezidă în **relevarea rolului** sistemului antioxidant ca factor de menținere a statusului “redox”, la bovine (vacii în tranziție, în debutul lactației și tineret taurin în creștere), **argumentarea științifică** a implicării stresului oxidativ în patogenia cetozei și sindromului de mobilizare a lipidelor la vaci, **fapt ce a condus** spre elaborarea și aprobarea unor măsuri complexe de optimizare ale statusului antioxidant, prin utilizarea bioelementelor Se, Cu, Zn, Mn, Co, vitaminelor E și A, metioninei și antioxidantului sintetic diludină, în vederea menținerii sănătății și productivității înalte. **Importanța teoretică:** studierea particularităților sistemului antioxidant la bovine (vacii în perioada de tranziție și debutul lactației, și viței) și elucidarea factorilor de risc în declanșarea stresului oxidativ la vaci și viței. **Valoarea aplicativă:** elaborarea și aprobarea unor măsuri complexe de optimizare ale statusului antioxidant, prin utilizarea bioelementelor Se, Cu, Zn, Mn, Co, vitaminelor E și A, metioninei și antioxidantului sintetic diludină. **Implementarea rezultatelor științifice:** sunt utilizate ca material didactic la studierea disciplinelor de „Fiziopatologie”, „Biochimie clinică” și „Boli de nutriție și metabolism”, incluse în curricula facultății de Medicină Veterinară.

АННОТАЦИЯ

КОЧУ Валерий, «Оксидативный стресс у коров и его профилактика». Диссертация на соискание ученой степени доктора ветеринарных наук, Кишинэу, 2015. **Структура работы:** введение, пять глав, общие выводы и рекомендации; 142 страницы основного текста, включая 44 таблицы и 49 рисунка; список литературы из 194 источников; 4 приложений. Результаты опубликованы в 14 научных работах. **Ключевые слова:** оксидативный стресс, антиоксидантный статус, синдром перекисидации, кетоз, дилудин, витаминно-минеральный премикс, «Biorplex». **Область исследования:** Ветеринарная терапия, фармакология и токсикология. **Цель исследования:** изучение состояния антиоксидантной системы у КРС в зависимости от физиологического статуса и возраста животных (коровы в переходном периоде и начале лактации, и молодняк), выявление роли оксидативного стресса в патогенезе кетоза и апробация способов по оптимизации параметров антиоксидантного статуса у коров и телят. **Задачи исследования:** а) изучение особенностей антиоксидантного статуса у здоровых коров и телят, и факторов риска дестабилизации «редокс» равновесия; б) изучение проявления оксидативного стресса в патогенезе кетоза и синдрома мобилизации липидов у коров; в) разработка и апробация способов оптимизации параметров антиоксидантного статуса у коров и телят путем использования натуральных и синтетических антиоксидантов. **Новизна и оригинальность исследования:** получены экспериментальные данные относительно динамики антиоксидантного статуса у коров в переходный период и в начале лактации, и описаны клинические, гемматологические, биохимические и патоморфологические аспекты "синдрома перекисидации", как проявление оксидативного стресса, у коров больных кетозом. **Важность решенной научной проблемы:** выявление роли антиоксидантной системы в поддержании "редокс" гомеостаза у телят и у коров в переходный период и в начале лактации, наряду с научным обоснованием участия окислительного стресса в патогенезе кетоза и синдрома мобилизации жиров у коров, что привело к разработке и апробации комплексных мер для оптимизации антиоксидантного статуса, путем использования биоэлементов Se, Cu, Zn, Mn, Co, витаминов E и A, метионина и синтетического антиоксиданта дилудина.

Теоретическое значение: изучение особенностей антиоксидантной системы у телят и у коров в переходный период и в начале лактации, и выявление факторов риска оксидативного стресса у крупного рогатого скота. **Прикладное значение:** разработка и апробация комплексных мер для оптимизации антиоксидантного статуса, путем использования биоэлементов Se, Cu, Zn, Mn, Co, витаминов E и A, метионина и синтетического антиоксиданта дилудин. **Внедрение полученных результатов:** использование в качестве учебного материала для занятий по патофизиологии, клинической биохимии и болезням обмена веществ.

ANNOTATION

COCIU Valeriu, “**The oxidative stress in cattle and methods of it prevention**”. The dissertation of Doctor in Veterinary Medicine, Chisinau, 2015. **The structure of the thesis:** introduction, five chapters, generalization of obtained results, main conclusion and recommendations; 142 pages of main text with 44 charts and 49 pictures; bibliography of 194 sources; 4 annexes. The results of the study were publish in 14 scientific works. **Key words:** oxidative stress, antioxidant statute, peroxidation syndrome, ketosis, Diludin, mineral and vitamin premix, Bioplex. **Fields of study:** Veterinary therapy, pharmacology and toxicology.

Aim of the work: Studying the antioxidant system in cattle according on the physiological status and age of the animals (cows in transition and onset of lactation; calves), elucidating the role of oxidative stress in the pathogenesis of some morbid condition (ketosis, LMS), and approval of complexes measures to optimize antioxidant status of cows and calves. **Objectives of the study:** a) to study in healthy cows (transition period and in early lactation) and calves antioxidant status particularities, and elucidate risk factors in destabilizing the balance "redox" b) study the possible involvement of oxidative stress in the pathogenesis of ketosis and lipids mobilization syndrome in cows; c) developing and testing ways to optimize antioxidant status in cows and calves, by using natural and synthetic antioxidants. **Scientific novelty and originality:** experimentally we obtained rezults about the dynamics of the antioxidant status of the cows in the transition period and early lactation and described the clinical, hematological, biochemical and pathological aspects of the "peroxidation syndrome" as a manifestation of oxidative stress in cows with ketosis. **The importance of solving scientific problems:** in revealing the role of the antioxidant system in the maintenance of "redox" homeostasis in calves, and cows in the transition period and early lactation, scientific argumentation for the involvement of oxidative stress in the pathogenesis of ketosis and lipids mobilization syndrome in cows, which led to the development and approval of complex measures to optimized antioxidant status, by using bioelements Se, Cu, Zn, Mn, Co, vitamins E and A, methionine and synthetic antioxidant diludin, in order to maintain health and high productivity. **Theoretical knowledge:** studying the features of the antioxidant system in calves and cows in the transition period and early lactation and identification the risk factors of oxidative stress in cattle. **Applied importance:** developing and testing the complex measures to optimize the antioxidant status by using bioelements Se, Cu, Zn, Mn, Co, vitamins E and A, methionine and synthetic antioxidant diludin. **Introduction of the results:** using as teaching material in studying chosen subjects of "Pathophysiology", "Clinical Biochemistry" and "Nutritional and metabolic diseases", included in the curricula of the Faculty of Veterinary Medicine.

LISTA ABREVIERILOR

1. AAT – activitatea antioxidantă totală
2. AGNE – acizi grași neesterificați
3. AGV – acizi grași volatili
4. ALAT – alaninamino transaminaza
5. AOT – activitatea oxidativă totală
6. APMV – adaos proteino–mineralo–vitaminic
7. ASAT – aspartatamino transaminaza
8. ATB – acid tiobarbituric
9. ATCA – acid tricloracetic
10. CAT – catalaza
11. DAM – dialdehida malonică
12. ECG – electrocardiograma
13. FC – frecvența cardiacă
14. FR – frecvența respirației
15. GR – glutation reductaza
16. GSH – glutation redus
17. GSH-Px – glutation peroxidaza
18. HPL – hidroperoxizi lipidici
19. P - pulsul
20. R - respirația
21. RLO – radicali liberi de oxigen
22. RPE – rezistența peroxidică a eritrocitelor
23. RPLE – rezistența peroxidică a lipidelor eritrocitare
24. SAO – sistemul antioxidant
25. SML – sindromul de mobilizare a lipidelor
26. SOD – superoxid dismutaza
27. SRO – specii reactive de oxigen
28. T – temperatura corporală

INTRODUCERE

Actualitatea temei și importanța problemei abordate

În medicina umană, tematica stresului oxidativ a devenit actuală, acum trei-patru decenii, odată cu descoperirea rolului radicalilor liberi de oxigen în declanșarea și perpetuarea leziunilor celulare. În continuare, cercetările în acest domeniu au luat amploare, iar stresul oxidativ a fost recunoscut, drept unul din mecanismele nespecifice principale în etiopatogeneza a numeroase maladii la om și la animale [16, 165].

În medicina veterinară, numărul lucrărilor în acest domeniu, a crescut considerabil mult mai târziu. Grație acestor cercetări, în ultimii 10-15 ani, a fost elucidată implicarea proceselor oxidativ-radicalice într-un număr tot mai mare de maladii, inclusiv, la vacile de lapte [49, 57, 61, 74, 158, 169].

Inițierea cercetărilor noastre, privind statusul antioxidant și stresul oxidativ la vacile de lapte a fost motivată prin aceea, că pe parcursul a mai multor decenii în republică s-au importat juninci cu potențial productiv înalt (peste 10 mii kg în lactație), de la care în condițiile noastre se obțineau anual doar 3-5 mii kg lapte la vaca furajată. Una din cauzele majore ale situației date, era practicarea unui sistem de nutriție inadecvat, eventual și după conținutul de antioxidanți. În consecință, animalele frecvent se îmbolnăveau, iar termenul de exploatare al acestora constituia doar 2-3 lactații [5].

Conform studiilor de specialitate, vacile cu potențialul productiv înalt, în perioada de tranziție (gestație-lactație), considerată pe drept una critică, sunt predispuse către multiple îmbolnăviri [108]. Acestea, fiind de ordinul dismetaboliilor (sindromul de mobilizare a lipidelor, cetoza, distrofia grasă a ficatului ș.a.), sau patologiilor puerperale (retenția învelitorilor fetale, metritele, mamitele ș.a.), deseori evoluează în asocieri, condiționându-se reciproc [92, 104]. Faptul, că maladiile menționate, având etiologie diferită, sunt însoțite de intensificarea reacțiilor de formare a radicalilor liberi de oxigen și de peroxidare a lipidelor, confirmă importanța patogenetică și caracterul nespecific al acestor fenomene. Totodată, ele pun în evidență necesitatea elaborării și perfecționării metodelor de prevenire și corecție a stărilor de stres oxidativ [60, 70, 145, 157].

Importanța echilibrului dintre pro- și antioxidanți, ca unul din criteriile de bază ale homeostaziei, este incontestabilă. Cu regret, însă, datele actuale referitoare la statusul antioxidant la bovine, sunt incomplete și nu sunt suficient sistematizate. În acest context, trebuie de menționat, că nu sunt standardizate metodele de dozare și nu sunt elaborate date de referință ale markerilor biochimici, în conformitate cu care ar putea fi depistate deviațiile echilibrului “redox” și instalarea stresului oxidativ. Încă nu este bine definit gradul de implicare a stresului oxidativ în patogeneza maladiilor specifice perioadelor de suprasolicitare la vacile de lapte, deși, acesta este cu certitudine recunoscut drept unul din mecanismele pato-biochimice esențiale.

Astfel, considerăm pe deplin argumentată, inițierea unor cercetări ample, în privința studierii cauzelor ce pot provoca dereglări ale statusului antioxidant, dar și a elaborării unor măsuri adecvate de prevenire și combatere ale stresului oxidativ la bovine.

Scopul lucrării constă în evaluarea sistemului antioxidant la bovine în funcție de starea fiziologică și vârsta animalelor (vacii în tranziție și debutul lactației; tineret taurin), elucidarea rolului stresului oxidativ în patogeneza unor stări morbide (cetoza, SML), și aprobarea unor măsuri complexe de optimizare ale statusului antioxidant la vaci și viței.

Obiectivele cercetărilor:

- evaluarea particularităților statusului antioxidant la vacile sănătoase (perioada de tranziție și debutul lactației) și tineretul taurin, și elucidarea factorilor de risc în destabilizarea echilibrului „redox”;
- studierea eventualei implicări a stresului oxidativ în patogeneza cetozei și sindromului de mobilizare a lipidelor la vaci;
- elaborarea și aprobarea unor modalități de optimizare ale parametrilor statusului antioxidant la vaci și viței, prin utilizarea substanțelor cu proprietăți antioxidante de origine naturală și sintetică.

Metodologia cercetării științifice se bazează pe conceptul științific referitor la:

- rolul fiziologic al radicalilor liberi de oxigen și aspectele patologice ale acțiunii acestor molecule reactogene asupra funcțiilor celulare la om și la animale [9, 13, 56, 110, 131, 141];
- rolul antioxidantilor enzimatici și non-enzimatici în asigurarea echilibrului „redox”, și aspectele fiziopatologice ale destabilizării acestuia, la vacile de lapte în special în perioada de tranziție, exprimat prin starea de stres oxidativ [60, 145, 153, 157, 191];
- oportunitățile de corecție ale stresului oxidativ, prin utilizarea antioxidantilor naturali și sintetici, și efectele benefice ale acestora în sporirea cantității și calității producțiilor la animale [12, 70, 174, 186, 188].

Noutatea științifică se referă la faptul, că pentru prima dată în condițiile republicii Moldova s-au obținut rezultate experimentale, referitoare la evaluarea dinamicii statusului antioxidant la vaci în perioada de tranziție și debutul lactației, și descrierea manifestărilor clinice, hematologice, pato-biochimice și morfopatologice ale „sindromului de peroxidare” - ca expresie a stresului oxidativ, la vacile cu cetoză.

Problema științifică importantă soluționată rezidă în **relevarea rolului** sistemului antioxidant ca factor de menținere a statusului „redox”, la bovine (vacii în tranziție, în debutul lactației și tineret taurin în creștere), **argumentarea științifică** a implicării stresului oxidativ în patogenia cetozei și sindromului de mobilizare a lipidelor la vaci, **fapt ce a condus** spre

elaborarea și aprobarea unor măsuri complexe de optimizare ale statusului antioxidant, prin utilizarea bioelementelor Se, Cu, Zn, Mn, Co, vitaminelor E și A, metioninei și antioxidantului sintetic diludină, în vederea menținerii sănătății și productivității înalte.

Importanța teoretică se exprimă prin studierea particularităților sistemului antioxidant la bovine (vacă în perioada de tranziție și debutul lactației, și viței) și elucidarea factorilor de risc în declanșarea stresului oxidativ la vacă și viței.

Valoarea aplicativă a lucrării constă în elaborarea și aprobarea unor măsuri complexe de optimizare ale statusului antioxidant (homeostaziei „redox”) la vacă și viței, prin utilizarea bioelementelor Se, Cu, Zn, Mn, Co, vitaminelor E și A, metioninei și antioxidantului sintetic diludină; selectarea și evaluarea metodelor biochimice de dozare a markerilor privind diagnosticarea stresului oxidativ.

Rezultatele științifice principale înaintate spre susținere:

1. Perioada de tranziție (gestație-lactație) la vacile sănătoase se caracterizează prin intensificarea proceselor de formare a speciilor reactive de oxigen, confirmată prin creșterea conținutului de **DAM** și a activității **CAT** în serul sanguin și scăderea rezistenței peroxidice a eritrocitelor (**RPE**) în primele zile după parturiție, cu restabilirea graduală a acestora în următoarele 3-4 săptămâni, iar în cazul ***vacilor bolnave de cetoză*** se constată escaladarea continuă a valorilor acestor indici și după încheierea perioadei de tranziție, fapt ce reflectă instalarea stării de stres oxidativ, exprimată prin așa-numitul „**sindrom de peroxidare**”.

2. Prin utilizarea, în calitate de suplimente furajere, a substanțelor antioxidante: la vacă - a antioxidantului sintetic Diludină și a premixului cu oligominerale anorganice (Cu, Zn, Co și Se), vitaminele E, A și metionină, și la viței - a produsului „Bioplex” cu oligominerale proteinate (Cu, Zn, Mn, Co și Se), s-a obținut optimizarea parametrilor statusului antioxidant, cu sporirea capacității protectoare a acestuia și favorizarea producției de lapte la vacă și a sporului în greutate la viței.

3. Statusul antioxidant la bovine (viței și vacă în lactație), variază în concordanță cu intensitatea metabolismului, specifică categoriei de vârstă, și se caracterizează prin nivel mai înalt de acumulare al produselor de peroxidare a lipidelor (**DAM** și **HPL**) în plasmă și eritrocite la vacă, comparativ cu viței, iar eficiența protecției antiradical-peroxidice este asigurată prin realizarea synergismului și însumării acțiunii componentelor enzimactice și neenzimactice (**SOD**, **CAT**, **GR**, **GSH**, **AAT** și **AOT**) ale sistemului antioxidant.

Aprobarea rezultatelor științifice. Materialele incluse în teză au fost prezentate și aprobate la conferințele științifice din Moscova și Leningrad (1989); la Simpozioanele Științifice

internaționale din Timișoara (1995, 2008) și Cluj-Napoca (2005); la Simpozioanele Științifice ale Facultății de Medicină Veterinară din Chișinău, UASM (1990, 1998, 2003, 2008).

Implementarea rezultatelor științifice. Rezultatele obținute în cadrul experiențelor, privind evaluarea statusului antioxidant și posibilitatea diagnosticării stresului oxidativ la vaci, sunt utilizate ca material didactic la studierea disciplinelor: „Fiziopatologie”, „Biochimie clinică” și „Boli de nutriție și metabolism”, incluse în curricula facultății de Medicină Veterinară.

Publicații la tema tezei. Pe baza rezultatelor obținute în investigații, au fost publicate 14 lucrări științifice dintre care: 3 lucrări în reviste recenzate și 5 lucrări fără coautori.

Volumul total al lucrării cuprinde 142 pagini, care includ următoarele compartimente: adnotare, lista abrevierilor, introducere, capitolul cu analiza surselor bibliografice la tema tezei, capitolul cu descrierea metodelor de cercetare, trei capitole cu rezultatele cercetărilor, concluzii generale și recomandări. Bibliografia este expusă pe 14 pagini cu un număr total de 194 surse științifice, urmată de 4 anexe. Materialul ilustrativ din lucrare conține 44 tabele și 49 figuri.

Cuvinte-cheie: stres oxidativ, status antioxidant, sindrom de peroxidare, cetoza, Diludină, premix mineralo-vitaminic, Bioplex.

Sumarul compartimentelor tezei

Capitolul 1. Se face analiza datelor bibliografice referitor la procesele de formare și rolul biologic al radicalilor liberi de oxigen în metabolismul celular, cum ar fi: semnalizarea intracelulară, transcrierea genelor, activizarea unor enzime, apoptoza celulară, acțiunea bactericidă în procesul de fagocitoză ș. a.. Se definește noțiunea de status „redox”, – ca fenomen fiziologic de menținere a echilibrului dintre substanțele cu potențial de reducere și cele cu potențial oxidativ din celule, care mai este numit și echilibru oxido-reductor sau status antioxidant.

Se face caracteristica sistemului antioxidant cu funcții protective contra acțiunii nocive a radicalilor liberi de oxigen și produselor derivate ale acestora, cu componentele sale specifice enzimactice și ne enzimactice din celule și mediul umoral. Se definește noțiunea de „stres oxidativ”, – ca fenomen fiziopatologic caracterizat prin intensificarea proceselor de oxidare și/sau peroxidare a biomoleculelor și diminuarea capacității funcționale a sistemului de protecție antioxidantă a celulelor. Se descriu consecințele nefaste ale acțiunii stresului oxidativ asupra structurilor moleculare, subcelulare, celulare, tisulare și organismului în ansamblu. Sunt aduse argumente, care confirmă implicarea stresului oxidativ în patogeniza unui număr mare de maladii la oameni și animale. Se descriu modalitățile și remediile care pot fi folosite în prevenirea și combaterea stresului oxidativ la animale.

Capitolul 2. Se descriu principiile metodologice și metodele de cercetare folosite, în vederea aprecierii statusului antioxidant și elucidării stării de stres oxidativ la vaci în perioada de tranziție (gestație – parturiție – lactație timpurie) și la viței în primele luni de viață.

La organizarea experiențelor s-a ținut cont de principiul analogiei în constituirea loturilor, cu formarea obligatorie a lotului de referință și întreținerea animalelor selectate în condiții similare de nutriție și exploatare. În cadrul cercetărilor au fost utilizate metodele clasice, cum este inspecția, termometria, auscultația etc., în vederea stabilirii stării clinice a animalelor și metode speciale, cum este electrocardiografia, în vederea stabilirii stării funcționale a cordului. S-au utilizat metode hematologice pentru determinarea indicilor morfologici ai sângelui, cum este hematocritul, conținutul de hemoglobină, numărul de eritrocite și leucocite. S-au utilizat metode biochimice în vederea testării profilului metabolic și parametrilor statusului antioxidant.

Statusul antioxidant a fost testat prin aprecierea a mai multor indici (markeri) pro- și antioxidativi în plasmă și în eritrocite, dintre care: a) activitatea enzimelor Superoxid dismutaza (**SOD**), Catalaza (**CAT**), Glutation peroxidaza (**GSH-Px**) și Glutation reductaza (**GR**); b) capacitatea antioxidantă totală (**AAT**), activitatea oxidativă totală (**AOT**) și conținutul de glutathion redus (**GSH**); c) conținutul de hidroperoxizi lipidici (**HPL**) și dialdehidei malonice (**DAM**). Rezultatele obținute au fost prelucrate statistic prin metodele biometrice recomandate cu utilizarea programului Excel.

Capitolul 3. În acest capitol se descriu rezultatele obținute în vederea stabilirii dinamicii statusului antioxidant la vaci sănătoase și la vaci cu cetoză în perioada de tranziție (gestație-lactație) și lactație timpurie (primele 2-3 luni). S-a studiat dinamica statusului antioxidant la vaci în perioada de gestație tardivă, perioada post-partală și în primele luni de lactație.

La vacile sănătoase s-a stabilit intensificarea proceselor de formare a radicalilor liberi, prin metode indirecte, pe baza acumulării produsului final al peroxidării lipidelor (**DAM**) și diminuării rezistenței peroxidice a eritrocitelor (**RPE**), în primele zile după parturiție, urmată de diminuarea cantității de **DAM** și creșterea **RPE** pe parcursul următoarelor 3-4 săptămâni.

La vacile cu cetoză spontană s-a stabilit, că odată, cu creșterea cantității de corpi cetonici în organism (cetonuria) pe parcursul a primelor 2-3 luni de lactație, crește cantitatea de **DAM** în sânge și scade **RPE**, ceea ce, în condițiile date atestă starea de **stres oxidativ**. Paralel cu modificările pato-biochimice la vacile cu cetoză în formă severă s-a stabilit diminuarea pronunțată a indicilor eritronului (**Ht**, **Hb** și **eritrocite**) până sub limitele de referință, la fel, modificări clinice și anatomo-patologice asemănătoare cu cele descrise în așa-zisul „**sindrom de peroxidare**”, reprodus experimental la animale de laborator.

Capitolul 4. În acest capitol se descriu rezultatele evaluării modalităților de optimizare ale statusului antioxidant la vaci în primele luni de lactație prin utilizarea antioxidantului sintetic Diludină și a premixului mineralo-vitaminic cu: Se, Cu, Co, Mn și Zn în formă anorganică, vitaminele E și A, și metionină. Eficiența, Diludinei și a premixului mineralo-vitaminic s-a monitorizat prin aprecierea dinamicii parametrilor statusului antioxidant (**RPE, CAT, AAT, AOT, DAM** și **HPL**) și ai profilului metabolic, a indicilor eritronului, a stării clinice și a producției de lapte.

Analiza rezultatelor obținute atestă, că remediile utilizate contribuie la optimizarea și stabilizarea valorilor indicilor statusului antioxidant, și favorizează starea de sănătate și performanțele productive ale vacilor în faza de debut a lactației.

Capitolul 5. În acest capitol se descriu rezultatele testării suplimentului mineral „Bioplex”, care conține Se, Cu, Zn și Mn în formă proteinată, în vederea optimizării parametrilor statusului antioxidant la vițeii cu vârsta de 2-6 luni. Eficiența produsului „Bioplex” s-a monitorizat prin aprecierea parametrilor sistemului antioxidant (**SOD, CAT, GR, GSH-Px, AAT, AOT, DAM** și **HPL**), a indicilor eritronului, a stării clinice și a sporului în greutate a vițeilor.

Tot în acest compartiment se descriu rezultatele cercetărilor efectuate în vederea stabilirii variațiilor de vârstă ale parametrilor statusului antioxidant (**SOD, CAT, GR, GSH-Px, AAT, AOT, DAM** și **HPL**) în plasmă și în eritrocite, la vaci în prima lactație, în raport cu vițeii de 1,5-2,0 luni. S-a constatat, că statusul antioxidant la bovinele de vârstă menționată, variază în concordanță cu intensitatea metabolismului acestora și se caracterizează prin-un nivel mai înalt al produselor de peroxidare (**DAM** și **HPL**) în sânge la animalele mature. Dinamica celorlalți indici rezumă în rapoarte, aparent controversate, exprimând complexitatea interdependenței funcționale a componentelor sistemului antioxidant, în asigurarea protecției antiradical-peroxidice a substratului biologic.

Concluzii generale și recomandări. Aceste compartimente includ concluziile generale referitor la importanța SAO în asigurarea homeostaziei „redox” și complexitatea sa funcțională; aspectele fiziologice și patologice ale stresului oxidativ la vaci sănătoase și la vacile cu cetoză; eficiența utilizării antioxidantului sintetic (diludină), a vitaminelor E, A, și metioninei, și a oligoelementelor în calitate de modulatori ai statusului antioxidant la vaci în perioada de tranziție și de debut a lactației și la vițeii cu vârsta de 1,5-2,0 luni.

Concluziile și recomandările, reflectă rezultatele obținute în cercetările realizate și implementate în producere, și în procesul didactic.

1. STRESUL OXIDATIV LA BOVINE, MODALITĂȚI DE EVALUARE ȘI COMBATERE

1.1. Noțiunea de status antioxidant („redox”) și stres oxidativ

Funcționarea stabilă a organismului uman sau animal, de rând cu alte fenomene de importanță vitală, depinde de stabilitatea echilibrului dintre procesul de formare a speciilor reactive de oxigen (SRO) și eficiența sistemului de protecție antioxidantă (antioxidativă). Creșterea formării SRO sau scăderea nivelului de antioxidanți cauzează perturbarea acestui echilibru - **stare definită ca stres oxidativ** [164, 85], care poate să se manifeste la nivel de anumite organe, sau să afecteze întregul organism prin eliberarea de produse oxidate și derivaților SRO în sânge.

Stresul oxidativ cauzează extinderea leziunilor oxidative și poate constitui începutul bolii sau să fie unul din mecanismele patogenetice importante în diverse patologii. În concordanță cu teoria îmbătrânirii cauzate de radicalii liberi, acumularea acestora afectează biomoleculele vitale, fiind astfel cauza majoră a îmbătrânirii, iar stresul oxidativ poate facilita această cumulare [91].

Stresul oxidativ poate avea intensitate diferită și se poate manifesta chiar în condiții fiziologice. Îndeplinirea efortului fizic sau creșterea temperaturii corporale sunt exemple ale stresului oxidativ fiziologic. Unele situații de stres sunt legate de creșterea eliberării adrenalinei sau altor catecolamine care oxidându-se generează formarea de SRO fiind un stres oxidativ. În încercarea de a restabili echilibrul redox, organismul poate să se adapteze la stresul oxidativ prin modularea cantității de antioxidanți sau/și a enzimelor antioxidative [72].

Dereglarea echilibrului în direcția activității înalte a antioxidanților în organism poate fi la fel dăunătoare. Excesul de antioxidanți exogeni poate diminua producerea celor endogeni, limitează abilitatea fagocitelor de captare a patogenilor și interferează căile de semnalizare dependente de formarea SRO. Cauzele cele mai frecvente care provoacă patologii atât la om cât și la animale, inclusiv la vaci, presupun declanșarea stresului oxidativ în rezultatul deficienței de antioxidanți (nutriția improprie inclusiv și după cantitatea de microelemente), în procesul inflamator sau expunerea la acțiunea pro-oxidanților [131].

1.1.1. Căile de formare a speciilor reactive de oxigen și rolul lor biologic

Toate organismele multicelulare, inclusiv mamiferele și bovinele, în particular, se află într-o dependență critică față de oxigen privind realizarea funcțiilor sale vitale. Majoritatea tipurilor de celule își acoperă cea mai mare parte a necesităților în energie prin procesul de

respirație (modalitate biochimică de oxidare a lanțurilor carbonice cu oxigen) care este cu mult mai eficient decât procesul de glicoliză – filogenetic mai vechi.

Datorită necesității de a respira mamiferele necesită asigurare constantă cu oxigen, iar organismul lor poate tolera lipsa de oxigen doar câteva minute, de aceea oxigenul este un element vital. În același timp, poate fi toxic pentru animale, cum ar fi în cazul expozității îndelungate a animalelor de laborator în mediu cu oxigen pur (100% oxigen), care duce la lezarea pulmonului și care poate fi letală [180].

Molecula de oxigen în special, nu este reactivă, datorită structurii electronice deosebite – a fi biradical (are doi electroni necuplați, pe două orbite electronice) în forma sa atmosferică. Această configurație electronică a moleculei de oxigen se numește triplet. Necătând la aceasta, molecula de oxigen poate reacționa cu diverse molecule prin transferul unui singur electron, adică poate accepta un electron formând anionul superoxid-radical ($O_2 + M \rightarrow O_2^- + M^+$)

Radicalul superoxid anion poate fi forma disociată a altui radical liber care se numește hidroperoxil ($HO_2 \cdot \leftrightarrow O_2^- + H^+$). O parte din reacții constă în reducerea cu doi electroni a moleculei de oxigen și formarea de peroxid de hidrogen. O altă alternativă este formarea peroxidului de hidrogen din anionul superoxid prin dismutarea acestui radical. Această reacție ($O_2^- + O_2^- + H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$) decurge spontan, dar poate fi catalizată de superoxid-dismutază (SOD). Peroxidul de hidrogen H_2O_2 (starea de oxidare formală a oxigenului) poate reacționa cu ionii metalelor cum este Fe^{2+} sau Cu^{2+} , formând radicalul hidroxil ($H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow HO^- + \cdot OH + Fe^{3+}$). Această reacție se numește reacția Fenton [131].

Formele derivate ale oxigenului se numesc specii reactive de oxigen (SRO). Ele sunt mult mai reactogene decât forma sa obișnuită și reacționarea lor cu componentele celulare sau extracelulare sunt responsabile pentru majoritatea acțiunilor distrugătoare ale oxigenului. Nu toate speciile reactive de oxigen, însă, sunt radicali liberi (tab. 1.1.).

Tabelul 1.1. Speciile reactive de oxigen (SRO), după [131]

Radicali liberi	Forme neradicalice
• Superoxid anion (O_2^-) • Hidroperoxil ($HO_2 \cdot$) • Hidroxil ($OH \cdot$) • Peroxil ($ROO \cdot$) • Alcoxil ($RO \cdot$)	• Oxigenul singlet (1O_2) • Peroxidul de hidrogen (H_2O_2) • Ozonul (O_3) • Acidul hipocloros ($HOCl$) • Hipocloritul (OCl^-) • Acidul peroxinitros ($HOONO$) • Peroxinitritul ($OONO^-$) • Hidroperoxizii ($ROOH$)

Șirul formelor reactive de oxigen este destul de lung. Include și ozonul (O_3) prezent în atmosferă. Reacționarea peroxidului de hidrogen cu anionul de clor, catalizată de mieloperoxidază, produce acidul hipocloros sau anionul hipocloric ($HOCl$; OCl^-). Din reacționarea oxidului nitric cu radicalul superoxid anion rezultă formarea de peroxinitrit ($NO^\cdot + O_2^- \rightarrow OONO^-$), iar peroxinitritul este anionul acidului peroxinitros ($HOONO \leftrightarrow H^+ + OONO^-$). Peroxinitritul la fel ca și oxidul nitric și alți oxizi care conțin gruparea NO_2 , pot fi la fel numiți ca specii reactive de azot [59, 83].

Reacția speciilor reactive de oxigen cu moleculele organice poate fi urmată de formarea altor radicali liberi sau a unor forme ale oxigenului, instabile și reactogene, care la fel pot fi incluse în lista speciilor reactive de oxigen (tab. 1.1.).

Speciile reactive de oxigen sunt produse inevitabile ale metabolismului oxigenului. Celulele trebuie să respire consumând oxigen, ceea ce necesită aport constant de oxigen. În același timp, majoritatea componentelor celulare se află în formă redusă și pot reacționa cu oxigenul producând radicalul superoxid. Cei mai importanți reactanți, în acest aspect, sunt însă componentele lanțului respirator. De aceea, lanțul respirator este sursa principală a radicalilor liberi în celulele aerobe [131].

În lanțul respirator coenzima Q oscilează între forma oxidată (ubichinon) și forma redusă (ubiquinol), transferând echivalenții complexului I și II în forma redusă, în complexul III a lanțului respirator (de la NADH și $FADH_2$ către citocrom C). Uneori se poate întâmpla ca forma redusă a coenzimei (ubiquinol) poate să reacționeze cu oxigenul, încât, reacția de transfer a unui electron, duce la formarea superoxidului [68, 122, 181].

Unele clase ale componentelor celulare cu masă moleculară mică pot reacționa la fel cu oxigenul, producând superoxidul prin transferul unui electron în reacția de oxidare/reducere [110] (tab.1.2.). Aceste substanțe pot fi componente ale enzimelor, sau alte proteine, iar în cazul unor enzime superoxidul se formează ca produs al activității sale normale. Printre aceste enzime se află: xantinoxidaza, aldehydoxidaza, peroxidazele (inclusiv mieloperoxidaza și tiroid oxidaza), nitric oxid sintetaza ș.a..

Rolul xantinoxidazei este în special important. Această enzimă este implicată în catabolismul purinelor, oxidând hipoxantina în xantină și xantina în acid uric; la fel poate oxida aldehydele, este prezentă în țesuturi mai mult ca xantindehidrogenază (transferând electroni către NAD^+). De aceea, poate fi convertită în xantinoxidază în ischemie tisulară. Trecerea xantindehidrogenazei în xantinoxidază care produce superoxidul după contactul cu oxigenul, este privit ca un mecanism major în afectarea țesuturilor prin ischemie – reoxigenare [112, 89].

Fierul din componența hemului la fel este obiectul autooxidării. Acest proces este important, în special, pentru hemoglobină și mioglobină. Oxidarea hemoglobinei (conține hem – Fe^{2+}) se soldează cu formarea methemoglobinei (hem – Fe^{3+}), incapabilă să fixeze oxigenul. Cantitatea acestuia, estimată la circa 3% din hemoglobina celulelor roșii la om (aparent similară și în eritrocitele altor mamifere) este subiectul autooxidării (care este trecut în forma redusă de către methemoglobin reductază), fiind o sursă considerabilă de superoxid în eritrocite [94, 154].

Tabelul 1.2. Componentele care se autooxidează producând superoxidul

- Aldehidele (inclusiv glicerolaldehid)
- Glucide reduse (inclusiv glucoză)
- Catecolaminele (adrenalina, noradrenalina și dopamina)
- Tetrahidropteridinele (cofactorul nitric oxid sinetazei, fenilalanin hidroxilaza și tiroxin hidroxilaza)
- Flavinele și componentele asemănătoare lor care conțin forma redusă a FAD și FMN
- Forma redusă a NAD^+ și NADP^+
- Ionii metalelor de tranziție (Fe^{2+} , Cu^+ , Mo^{2+} , alte forme care conțin Fe^{2+})
- Tioli (incl. rezidurile de cisteină din proteine)

Multe substanțe străine pentru organism (xenobiotice) pot să se oxideze. Ele sunt reduse înapoi de către oxidazele celulare și pot intra în următorul ciclu de autooxidare/reducere. Pe calea ciclului redox o moleculă de xenobiotic poate produce multe molecule de superoxid. Exemple tipice ale ciclului redox al xenobioticelor sunt erbicidele paraquat și diquat care sunt toxice pentru animalele care le ingeră [76].

Factorii fizici ai mediului, cum este radiația ionizantă și ultrasunetul la fel pot contribui la producerea SRO; totodată, când condițiile expozității nu depășesc limitele fiziologice ei nu constituie sursă importantă de SRO în organism [100].

SRO nu sunt numai dăunătoare. Ele se formează, mai întâi de toate, în scopul apărării contra patogenilor. Fagocitele conțin în plasmă enzima membranară NAD(P)H oxidaza, care după stimularea acestor celule produce o mare cantitate de superoxid. Acest radical și alte SRO formate de el omoară patogenii. Însă, supraproducerea lui în focarele inflamatorii, unde macrofagii și polimorfonuclearele sunt atrase, poate afecta și celulele gazdă. Aceasta ar fi explicația prin ce inflamația este periculoasă [107, 187].

Numeroase studii demonstrează că nu numai fagocitele, dar și alte celule inclusiv fibroblastele, limfocitele B și celulele endoteliale exprimă activitate NAD(P)H oxidazică

similară cu cea a fagocitelor, dar ceva mai joasă. Aceste celule produc superoxidul (indirect și alte SRO) în scopul semnalării [134, 136].

Nivelul mic de SRO pot stimula proliferarea celulară, stimularea funcției spermei, a spori activitatea ciclooxigenazei și lipooxigenazei [64, 84, 105].

Ei pot media acțiunea unor hormoni cum este angiotenzina sau factorul de creștere [106, 184], dar este cunoscută și implicarea lor în stimularea fosforilării proteinelor [172].

Un anumit nivel fiziologic de SRO este important pentru reglarea funcțiilor celulare, cum este semnalarea intracelulară, activarea transcripției, proliferarea celulară, inflamația, apoptoza etc.. În caz de exces, față de capacitatea de neutralizare-tampon a celulei, SRO vor avea efecte negative potențial citotoxice [9, 110, 3].

1.1.2. Acțiunea distrugătoare a speciilor reactive de oxigen (SRO)

SRO pot reacționa cu toate clasele de molecule biologice importante, cauzând schimbări nedorite din punct de vedere fiziologic, ale propriului metabolism. Aceste reacții deseori sunt reacții de oxidare cauzate de oxidarea necontrolabilă ceea ce sporește formarea de SRO. Proprietățile individuale ale SRO diferă semnificativ prin capacitatea sa de a reacționa cu alte molecule [131].

Radicalul superoxid anion poate reacționa cu gruparea – SH, inactivând proteinele funcția cărora depinde în mod critic de aceste grupe, iar cele două efecte biochimice foarte periculoase pot fi: inactivarea clasterilor de FeS în proteine, cum ar fi aconitaza și fumaraza [102] și producerea de peroxinitrit. Reacția decurge prin consumarea oxidului nitric care este un factor major al vasodilației responsabil de menținerea presiunii (joase) sanguine. Scăderea concentrației de oxid nitric cauzează hipertensiune [179].

Peroxidul de hidrogen nu este reactogen „în sine”, reacțiile cu el decurg mai încet decât ale superoxidului, dar în contrariu cu superoxidul el penetrează ușor membranele celulare. El poate reacționa cu ionii de metale prin reacția Fenton, formând SRO mai periculoase, cum este radicalul hidroxil ($\text{OH}^\bullet$), capabil să reacționeze rapid cu alte molecule care îl înconjoară. Reactivitatea lui nu este specifică și durata de viață este foarte scurtă. Acest radical este una din speciile responsabile de peroxidarea lipidelor, oxidarea proteinelor, hidraților de carbon, moleculelor mici și componentelor acizilor nucleici [118].

Hipocloritul și peroxinitritul sunt mai puțin reactivi ca radicalul hidroxil, dar demonstrează un spectru larg de reactivitate. Rata mai joasă a reactivității lor este condiționată de difuzia înceată din locul formării. Ei pot oxida moleculele, inițiind peroxidarea lipidelor și afectarea oxidativă a proteinelor, iar hipocloritul este un agent al clorinării, pe când peroxinitritul

poate induce nitrarea și nitroxilarea moleculelor. Modificările moleculare ale reacționării cu proteinele este formarea clorotirozinei și nitrotirozinei respectiv [52, 192].

Oxigenul singlet este un oxidant generat de fotoexcitarea oxigenului triplet, de aceea, formarea lui este importantă în organele expuse luminii (pielea). Formarea oxigenului singlet este crescută pe fonul componentilor fotosenzitivi; ei absorb energia luminii care cauzează excitarea lor, iar moleculele fotoexcitate reacționează prin transferul energiei de excitație către oxigenul triplet generând oxigenul singlet.

Peroxidarea lipidelor este un proces indus de SRO. Acest proces odată inițiat, poate decurge în ciclu reproducând un număr mare de produse. Printre acestea sunt **aldehizii**, care difuzează la distanțe mari și pot fi agenți distrugători secundari. Aldehizii reacționează cu grupele tiolice și aminice, de aceea, ei pot afecta proteinele și bloca grupele aminice ale ADN-lui manifestând efect mutagenic și cancerogen [82, 86].

1.2. Componenta sistemului de protecție antioxidantă și modalități de evaluare ale acestuia

Organismele aerobe sunt echipate cu diverse mijloace de apărare contra reacțiilor de oxidare nedorită cauzată de SRO constituite din molecule cu masă mică și proteine (tab. 1.3.)

Tabelul 1.3. Cei mai importanți antioxidanți cu masă moleculară mică, după [131]

Hidrofilii	Hidrofobi
• Glutathionul (GSSH) • Acidul ascorbic (Vit. C) • Acidul uric • Carnosina • Anserina • Fenolii din plante • Antocianinele	• Tocoferolii și tocotrienolii (Vit. E) • Carotenoizii • Coenzima Q • Acidul lipoic • Bilirubina • Melatonine • Hormonii estrogeni • Fenolii din plante

1.2.1. Mecanisme neenzimatice de protecție antioxidantă

Independent de mecanismele prooxidative descrise anterior [130], există mai multe sisteme antioxidative care inhibă oxidarea biologică. Cu aceste sisteme antioxidative trebuie să fie asigurate fluidele și structurile subcelulare. Stresul oxidativ poate fi stopat, prin inhibarea moleculelor activate, de către sistemul antioxidant de protecție constituit din vitamina A, vitamina C, vitamina E, riboflavină, carotenoizi, acid uric, acidul fulvic, bilirubină, glutathion, coenzima Q și albumine [160].

Sunt cunoscute mecanismele neenzimaticale ale antioxidanților ca captatori ai radicalilor liberi și ionilor metalelor de tranziție, de sechestrare a ionilor de metale de către ceruloplasmină și metalotioneine.

Antioxidanții sunt compuși chimici care reduc radicalul superoxid anion (O_2^-) până la forma de peroxid de hidrogen, care la rândul său este rapid descompus de către catalază (CAT) și peroxidază (GSH-Px) [156]. Cei mai importanți antioxidanți cu masă moleculară mică sunt acidul ascorbic, vitamina E și glutatiunea redusă [120].

Antioxidanții cu masa moleculară mică prezenți în celule și fluidele extracelulare sunt componenți hidrofobi (în membrane celulare) și hidrofilii (în compartimentele lichide). Tripeptidul glutatiune (gama-glutamil-cisteinil-glicin) este principalul antioxidant hidrofilic intracelular, concentrația sa în afara celulelor este foarte mică. În plasma sanguină acidul ascorbic și acidul uric sunt mai importanți. Principalii antioxidanți hidrofobi sunt tocoferolii, carotenoizii, coenzima Q (în forma redusă) și bilirubina. Rolul antioxidant al melatoninei se studiază, dar nivelul fiziologic al hormonului este prea mic pentru a juca un rol semnificativ în protecția antioxidantă [123, 142].

De menționat că antioxidanții cu masa moleculară mică după proveniența sa sunt în majoritate sau exclusiv de origine nutrițională. Acest aspect este important pentru erbivore, în special, pentru rumegătoare. Plantele furagere conțin numeroși flavonoizi care au diverse acțiuni biologice, printre care și ca antioxidanți. Aceștea contribuie semnificativ la menținerea statusului antioxidant la vaci la nivel adecvat [183, 194].

Acidul ascorbic are proprietăți antioxidative și pro-oxidative. Ca antioxidant acidul ascorbic este oxidat până la acid dehidroascorbic în prezența ionilor de Cu^{2+} . Este demonstrat, că ascorbatul protejează eritrocitele bovinelor de hemoliza cauzată de t-butil hidroperoxid (t-BHP) și oxihemoglobina de oxidare în metemoglobină de către t-BHP. Acidul ascorbic rămâne a fi un subiect interesant al cercetărilor, deși a fost descoperit mai mulți ani în urmă. De interes este abilitatea lui de a minimaliza influența dăunătoare a factorilor de mediu asupra metabolismului. Această proprietate unică în felul său, rezultă din abilitatea acidului ascorbic de a trece ușor din forma redusă în forma oxidată și vice-versa. Această moleculă în concentrații mici lucrează ca un antioxidant în metabolismul celular. Totodată, acidul ascorbic poate accelera formarea radicalului hidroxil din peroxidul de hidrogen în prezența ionilor metalelor în forma redusă. A fost dovedit, că vitamina C împreună cu ionii de Fe și Cu, sau cu peroxidul de hidrogen poate influența declanșarea peroxidării lipidelor prin reacția de tip Fenton [129].

Toate animalele, cu excepția maimuțelor, porcului de Guineea și omului, au abilitatea de a sintetiza acidul ascorbic. Sinteza acidului ascorbic se face din acidul glucuronic. Concentrația

acestor indici în serul sanguin la bovine nu este stabilă, ea variază în dependență de abilitatea ficatului de a absorbi și sintetiza vitamina C. Totodată, sunt cunoscuți mai mulți factori care afectează biosinteza vitaminei C. Biotina accelerează procesele de biosinteză. Pe cînd, acizii grași volatili (acidul propionic, acid butiric și acidul acetic) au abilitatea de a descrește absorbția acidului ascorbic, efect similar o are și dieta bogată în hidrați de carbon [146].

Vitamina E are proprietăți antioxidative puțin mai joase decât vitamina C. Vitamina E este liposolubilă, de aceea, proprietățile sale antioxidative sunt observate în special în membranele celulare. Vitamina E este activă numai la concentrații mari ale peroxizilor lipidici. În procesul de oxidare, atomul de hidrogen se dezlipește de la grupul hidroxil și molecula se transformă în radicalul tocoferil, iar cu ajutorul acidului ascorbic acest radical trece prin reacția de inversie [164].

Glutathionul redus, în special, grupele tiolice elimină peroxidul de hidrogen și radicalul hidroxil, superoxid anion, alcoxil și hidroperoxizii din celule [137]. Concentrația majoră de glutathion se află în mitocondrii. În celulă glutathionul îndeplinește mai multe funcții-chee: sinteza acizilor nucleici și proteinelor, dezvoltarea și proliferarea celulelor, reglarea morții programate a celulelor, reglarea imună, transportul aminoacizilor, metabolismul xenobioticilor ș.a. [161].

Ca „**măturători**” ai radicalilor liberi se consideră bilirubina, biliverdina, carnozina, adrenalina, acidul uric, etanolul, butanolul, manitolul și glucoza. Majoritatea dintre ei au abilitatea de a „mătura” radicalii hidroxil din celule, de a le proteja de afectarea oxidativă prin donarea atomului de hidrogen al radicalului peroxil, vitaminei C și carotenoizilor [59].

Ionii metalelor de tranziție – Zn, Mn, Cu și Fe (cele mai răspândite în organism) iau parte la transferul de electroni către diverse macromolecule cum sunt proteinele, lipidele și acizii nucleici. Ionii metalelor de tranziție sunt incluși în centrele catalitice ale enzimelor, cum ar fi SOD; ei sunt atașați (legați, lipiți) de proteine sau agenți biochimici de chelatare cu masă moleculară mică, sau se află în formă liberă; pe de asupra, elementele menționate i-au parte la protecția contra influenței oxidative a oxigenului prin creșterea activității enzimelor, „măturarea” radicalilor de oxigen, inhibarea oxigenului molecular singlet, descreșterea ratei proceselor prooxidative și utilizarea ionilor de metale în canalizarea disproporționării O_2^- [124, 59].

Cuprul neatașat de proteine în forma de ion (Cu^{2+}) poate avea efect dăunător pentru organism, deoarece crește abilitatea de formare a radicalilor liberi. Lipsa proteinelor de atașare a ionilor de Fe în creier, fac acest țesut foarte sensibil la creșterea concentrației de Fe. Excesul ionilor de fier (Fe^{2+}) care catalizează reacția tip Fenton și alte asemănătoare poate provoca afectarea acizilor polinesaturați [63].

Sechestrarea ionilor metalelor de tranziție stopează capacitatea unor ioni de metale, cum ar fi Cu^{2+} de a participa în reacția de tip Fenton ($\text{Cu}^+ + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{HO}^\cdot + \text{Cu}^{++} + \text{HO}^-$) și tip Haber-Weiss ($\text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2^- \rightarrow \text{O}_2 + \text{HO}^- + \text{HO}^\cdot$). Astfel sechestrarea ionilor metalelor de tranziție de către unul din sistemele de apărare a celulelor, protejează celulele împotriva generării radicalilor hidroxil ($\text{HO}^\cdot$) [130].

Cuprul care nu este implicat în reacțiile de tip Haber-Weiss este depozitat în proteinele de rezervă cum ar fi **ceruloplasmina** și **metalotioneinele**. Sechestrarea ionilor metalelor de tranziție de către sistemele protectoare asigură evitarea creșterii excesive a concentrației de Cu și Zn în serul sanguin. Se asigură controlul homeostaziei Cu și Zn în organism și disponibilitatea lor pentru diverse reacții chimice [69]. Totuși, anionul superoxid-radical în prezența H_2O_2 și ionilor metalelor de tranziție sechestrați, cum este cuprul, formează radicalul hidroxil, care este periculos pentru structurile subcelulare.

Ceruloplasmina (CP) este o proteină sintetizată în ficat care are proprietatea de a „mătura” radicalii liberi. Ceruloplasmina poate fi un indiciu al deficienței de cupru chiar și în faza subclinică, în contrast cu SOD, care chiar și în concentrații mari nu indică tulburări funcționale a celulelor [182, 127]. Molecula de **CP** conține 6-8 atomi de Cu, de aceea, este capabilă să fixeze 60-72% din cuprul din plasmă. Această proteină este sintetizată de hepatocite, de aceea are o activitate înaltă extracelulară și foarte mică activitate intracelulară [150].

CP este responsabilă de transportarea Cu către țesuturi, joacă un rol în oxidarea Fe^{2+} în Fe^{3+} și ca antioxidant, de aceea, poate modula procesele inflamatorii. Această proteină accelerează oxidarea și incorporarea a 4 atomi de Fe în transferină, de aceea ea diminuează activitatea prooxidativă totală [86]. Cuprul împreună cu Zn au abilitatea de a spori concentrația CP în sânge la vaci. CP poate fi un factor important în absorbția Cu la vaci și în evaluarea stării de sănătate [132].

Metalotioneinele (MT) sunt proteine cu greutate moleculară mică. Ele sunt constituite din aminoacizi cu aproximativ 20 grupe cisteinil. Metalotioneinele pot lega ușor diferiți ioni cum ar fi Cu^{2+} , Zn^{2+} și Fe^{3+} , asigurând protecția contra excesului de oligoelemente [80, 96].

Creșterea concentrației de Cu și Zn în furaje este însoțită de îmbunătățirea mecanismelor de protecție antioxidantă, prin creșterea conținutului de metalotioneine în ser, grație prezentei de grupe tiol în moleculele. Acestea au abilitatea de a reacționa cu anionul superoxid radical, radicalul hidroxil, pe care îi „mătură” [59].

1.2.2. Mecanisme enzimatice de protecție antioxidantă

Superoxid dismutaza (SOD) este o enzimă foarte stabilă și destul de utilizată pentru analize biochimice. Diverse stări de boală se caracterizează prin diferit nivel al activității

acesteia. Este cunoscut că *activitatea SOD se intensifică la creșterea concentrației de oxigen în țesuturi și fluidele constitutive*, sau în procese inflamatorii a diferitor organe, cum este ficatul, articulațiile, glanda mamară, în leucemie, boli ale sistemului cardiovascular, diabet zaharat, afecțiuni musculare ale sistemului respirator, ale sistemului nervos central, rinichi și testicule [135]. Creșterea activității SOD a fost observată sub influența creșterii concentrației de Cu, Zn și a oxigenului, și în caz de inflamație [128].

Activitatea **SOD** descrește în boli reumatice, anemie și disfuncții imunologice. Mai mult ca atât, în caz de deficit nutrițional de Cu la vaci, crește susceptibilitatea lor la infecții și apar tulburări reproductive. De aceea, măsurarea activității SOD în eritrocite poate fi utilizată pentru diagnosticarea hipocuprozei la vaci [182, 124].

Cu ajutorul SOD, speciile reactive de oxigen sunt „măturate” din celule prin disproporționare ($O_2^{\cdot-} + O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$). Ionii de Cu, Zn Mn și Fe sunt considerați activatori ai SOD-ei, deoarece specificitatea tipurilor de SOD, depinde de prezența acestor metalele. Astfel, Cu-, Zn-SOD este enzimă citozolică din celulele eucariote, iar Fe-SOD se găsește în bacterii. Mn-SOD este prezentă în mitocondriile celulelor eucariote și în citozolul celulelor procariote. Mai mult decât, atât există o dismutaza Cu-Zn dependentă asociată cu carbohidrații de la suprafața celulelor de la mamifere, de aceea deseori este atârnată la SOD extracelulară. Mecanismul de dismutare constă în catalizarea radicalului anion superoxid în peroxid de hidrogen. În prima fază, anionul superoxid reduce ionul de metal din enzimă urmat de eliberarea oxigenului molecular ($SOD-Me + O_2^{\cdot-} \rightarrow SOD \cdot Me^{n-1} + O_2$), iar în a doua fază, anionul superoxid oxidează ionul de metal ($SOD-Me^{n-1} + O_2^{\cdot-} + 2H \rightarrow SOD - Me^n + H_2O_2$) [131].

Glutation peroxidaza (GSH-Px), reprezentant tipic al peroxidazelor, se află în concentrație mare în citozol și în concentrație mică în mitocondrii. Sunt cunoscute două tipuri de glutathion peroxidaze: Se-dependente și Se-independente. GSH-Px catalizează reacția dintre peroxidul de hidrogen și glutathion, prin formarea de bisulfid de glutathion și apă ($2GSH + H_2O_2 \rightarrow GSSG + 2H_2O$), unde GSH – glutathionul redus și GSSG – glutathionul oxidat. Activitatea peroxidazică constă în înlăturarea peroxidului de hidrogen. Pe parcursul reacției catalizate de GSH-Px are loc reducerea Se^{+4} în Se^{2-} din centrul catalitic legat cu glutathion [63].

Subiectul multiplelor studii este activitatea GSH-Px în sânge, ca unul din componentele majore ale sistemului antioxidant la vaci. Ea este unica enzimă Se-dependentă care face parte din sistemul antioxidant și protejează celulele față de stresul oxidativ. Totodată GSH-Px hidropoxid-fosfolipidică metabolizează hidropoxidizii acizilor grași aflați în fosfolipide și

seleno-proteina P sintetizată în ficat și secretată în plasmă, care îndeplinește funcția de proteină de transport a seleniului [71].

Catalaza (CAT) este proteină Fe-dependentă localizată în peroxisomi. Catalazele sunt proteine care conțin grupul hem legat cu un atom de Fe în forma oxidată de gradul III. Un mol de proteină conține patru atomi de fier. Descompunerea peroxidului de hidrogen este dependentă de activitatea catalazei care crește în special ($2\text{H}_2\text{O}_2$ (**CAT**) $\rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$). Când activitatea catalitică a acesteia este joasă, peroxidul de hidrogen este descompus de către peroxidază. Necătând la similitudinea funcțiilor catalazei și peroxidazei, ele au o structură moleculară diferită. Activitate mare a acestei enzime s-a constatat în sânge, ficat și rinichi [46].

Reductazele au abilitatea de a regenera substraturile destinate regenerării. Un exemplu din acest grup este glutathion reductaza (**GR**), care reduce glutathionul oxidat. Această enzimă este localizată în citozol și mitocondrii. Flavin reductaza se găsește în eritrocite și hepatocite, catalizează reducerea flavinului oxidat, în prezența NADPH. O sarcină similară o îndeplinește dehidroascorbat reductaza în celule vegetale [59].

Antioxidanții pot fi divizați în trei grupe: prima (SOD, GSH-Px, catalaza), a doua (vitaminele C și E, beta caroten, albumina, bilirubina și acidul uric) și a treia grupă de antioxidanți cum ar fi biomoleculele mecanismelor de restabilire, inclusiv a celor de restabilire a ADN și metionin sulfoxid reductaza [182].

1.2.3. Evaluarea statusului antioxidant prin determinarea markerilor oxidativi și antioxidativi

Starea bună de sănătate și productivitatea înaltă este rezultatul echilibrului dintre procesele prooxidative și antioxidative în fluide și la nivel celular. Prin ridicarea nivelului de vitamine și oligominerale (inclusiv din grupul de antioxidanți) în furaje la animale, inclusiv și la vaci, se poate asigura controlul statusului antioxidant din celule și fluidele organismului.

Evaluarea stării de sănătate a vacilor și eficienței metodelor de prevenire pot fi obținute cu ajutorul mai multor indici: SOD, GSH-Px, activitatea totală antioxidantă, ceruloplasmina, acidul ascorbic, vitamina E, carotenoizii și nivelul de Cu, Zn, Mn și Se. Când animalele sunt sănătoase, antioxidanții pot avea rolul de prevenire contra influenței nefavorabile a oxidării biologice. Statusul de sănătate și productivitatea înaltă este rezultatul echilibrului dintre statusul antioxidant și prooxidativ. Funcționarea corectă a mecanismelor de apărare previne acumularea de radicali liberi stopându-i pe aceștea și captând SRO din celule [131].

Activitatea sumară a tuturor moleculelor menționate, din plasmă, constituie statusul antioxidant. Studiile efectuate demonstrează o corelație pozitivă dintre statusul antioxidant și conținutul tuturor moleculelor de antioxidanți din plasma sanguină. De aceea, este importantă

estimarea statusului antioxidant total, folosind testul „Randox”, care evaluează activitatea antioxidantă a sângelui [120].

Antioxidanții inhibă moleculele activate și reacțiile de formare a radicalilor liberi în lanț. Moleculele biologic active din rația vacilor sunt foarte importante pentru menținerea statusului antioxidant, cum ar fi, de exemplu, carotenoizii depozitați în special în ficat. Aceste molecule sunt destul de eficace în inhibarea oxigenului molecular singlet și oxigenului triplet care posedă proprietăți oxidative foarte pronunțate [120]. A fost observat că retinoizii și tocoferolii previn oxidarea fosfolipidelor și lipoproteinelor din plasmă [117].

Posibilitatea determinării reacțiilor antioxidative a componentelor plasmei sanguine este teoria modernă științifică a cercetărilor in vivo și in vitro. Sunt cunoscute câteva metode de estimare a nivelului statusului antioxidant în plasma sanguină. Cele mai importante metode sunt TRAP (total Radical Trapping Parameter), ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) și TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) [153, 191].

Tabelul 1.4. Indicii pentru determinarea statusului pro- și antioxidant, după [85]

• Marker antioxidant: Capacitatea antioxidantă hidrofilă a plasmei Capacitatea antioxidantă lipofilă a plasmei • Marker oxidant: Peroxizi lipidici Proteine oxidate Dialdehida malonică (DAM)	• Antioxidant enzimatic: Superoxid dismutaza (SOD) Glutation peroxidaza (GSH-Px) Catalaza (CAT) • Antioxidant hidrofil: Acidul ascorbic Glutationul redus (GSH) Glutationul oxidat (GSSG) • Antioxidant lipofil: Vitamina E β-caroten etc.
---	--

Perioada de activitate a SRO este foarte scurtă, de aceea este dificil de măsurat concentrația lor. Concentrația lor poate fi măsurată indirect, prin stabilirea concentrației de peroxizi lipidici care se formează prin reacționarea SRO cu acizii grași nesaturați. Este cunoscut că concentrația peroxizilor lipidici se raportează la concentrația aldehizilor, în particular, a dialdehidei malonice (DAM). DAM este produsul final al descompunerii peroxizilor lipidici. De aceea, concentrația DAM poate fi folosită ca indiciu al procesului de peroxidare a lipidelor. Conținutul înalt de aldehyde în lichidele organismului sugerează un grad înalt al stresului oxidativ [128].

Este dificil să pui în evidență un stres oxidativ în mod direct deoarece SRO au o viață extrem de scurtă. Tehnicile de dozare a radicalilor sunt complexe, costisitoare și dificil realizabile în practică. De aceea, produsele oxidării, numite **markeri oxidativi** sunt utilizați

pentru a determina indirect și a cuantifica stresul oxidativ în organism. În plus antioxidanții pot fi dozați pentru o eventuală constatare a curenței sau dezichilibrului între anti- și pro-oxidanți [131].

Aplicarea practică, pe teren, a acestor metode nu este posibilă, deoarece determinarea markerilor oxidativi și antioxidativi se poate face numai într-un laborator dotat. Atenție deosebită trebuie acordată prelevării probelor și respectării prescripțiilor de centrifugare, condițiilor de temperatură în timpul transportării și realizarea analizei în detalii adecvate [85]. Problemele evaluării sistemului antioxidant sunt legate și de lipsa metodelor standardizate, de aceea sunt puține date publicate referitor la valorile de referință ale antioxidanților în plasma sanguină [101].

1.3. Impactul stresului oxidativ și modalitățile de prevenire ale acestuia

1.3.1. Consecințele stresului oxidativ la nivel celular

SRO sunt implicate, atât la oameni cât și la animale, în patogeniza unui număr mare de maladii cum ar fi: distrofia ganglionilor, meningita, artrita reumatoidă, distrofia musculară, glomerulonefritele, vasculitele, dermatitele, ulcerul gastric și duodenal, pancreatitele, carcinoma intestinală, hepatitele, hipertiroidismul, imunodeficiența, cancerul, arterioscleroza, diverse boli cardiovasculare, ischemia cerebrală, boala spongiformă a bovinelor și altele [168, 151].

Multe procese oxidative sunt încă neexplorate, dar, fără îndoială că peroxizii lipidici cauzează inactivarea enzimelor celulare și mitocondriale, denaturarea proteinelor, lezarea membranelor celulare și moartea celulelor [109]. Afectarea lipidelor, proteinelor, acizilor nucleici și hidraților de carbon din celula, cauzează la rândul său degenerarea elementelor subcelulare [175].

Peroxidarea lipidelor este extrem de periculoasă pentru membranele celulare. Procesele de peroxidare încep prin reacțiile radicalice, de exemplu, acizii polinesaturați pot fi transformați de către oxigenul singlet în forma de hidroperoxid (lipid-OOH). Alți radicali liberi pot descompune hidroperoxizii în radicali mai reactogeni, cum sunt cei oxialcoolici (lipid-O $\cdot$), iar acestea contribuie la extinderea distrugerilor în structurile lipidice celulare până la formarea de dialdehid malonic (DAM). Descreșterea concentrației de DAM în serul sanguin, indică descreșterea proceselor de peroxidare obținută în cazul suplimentării de cupru la tăurași [130].

Afectarea ADN de către radicalii liberi este foarte periculoasă pentru celule, deoarece poate fi însoțită de efecte mutagene și cancerogene [126].

Inducerea de către SRO sau alte substanțe reactogene a diverselor modificări a proteinelor este implicată în procesul de îmbătrânire și în patogeniza bolilor de vârstă [167]. Responsabil pentru (modificarea) oxidarea proteinelor deseori este radicalul hidroxil (OH $\cdot$), sursa

majoră a căruia la animale sănătoase este reducerea peroxidului de hidrogen. Ionii metalelor de tranziție cum este Fe^{+++} și Cu^{++} sunt principalele componente ale acestei reduceri. De aceea, oxidarea proteinelor depinde de reducerea Fe^{+++} în Fe^{++} urmată de formarea H_2O_2 .

Este cunoscut că radicalul hidroxil se formează la concentrații înalte de ioni metalelor și H_2O_2 . În așa caz radicalul hidroxil poate modifica aminoacizii proteici și pe rând, poate cauza fragmentarea sau agregarea lanțurilor polipeptidice. Pe de altă parte, în concentrații normale a ionilor metalici și peroxidului de hidrogen se formează cantități mici de radical hidroxil. Radicalul hidroxil se atașează de proteine în locurile de fixare ale metalelor. Acțiunea dăunătoare a radicalului hidroxil se referă numai la reziduurile de aminoacizi din lanțurile polipeptidice și la proteinele cu locuri asemănătoare. Este constatată acumularea modificărilor oxidative ale proteinelor cu ioni metalelor de tranziție odată cu îmbătrânirea. Mai mult ca atât, s-a observat că există creșterea concentrației de cupru în plasmă odată cu înaintarea în vârstă [163].

Stresul oxidativ se caracterizează prin creșterea concentrației de radicali liberi cu durata de existență scurtă și reactivitate chimică înaltă. În general, este clar, că ioni unor metale joacă un rol crucial în mecanismul de declanșare a stresului oxidativ [131].

1.3.2. Impactul asupra funcției de reproducție și a dezvoltării fetoșilor

Fenomenele de formare a radicalilor liberi pot influența diverse procese fiziologice la animale cum este reproducția, dezvoltarea fizică, eficiența utilizării nutrețurilor, la fel și calitatea produselor obținute. Intensificarea acestor fenomene poate fi provocată de numeroși factori stresanți: nutriționali, fizici, emoționali sau infecțioși, pe parcursul întregii perioade de dezvoltare a organismului, începând, chiar de la formarea gameților. Până în prezent, studiile referitoare la efectele stresului ignoră, deseori, procesele de formare a radicalilor liberi [56].

Pentru medicina veterinară aceste fenomene (radicalice) au o importanță deosebită, mai cu seamă, în studierea patologiilor legate de perioada de parturiție, sau mai bine zis **perioada de tranziție** de la gestație la lactație (trei săptămâni până la parturiție și trei săptămâni după). Problemele întâlnite în această perioadă la vacile de lapte (retențiile placentare, edemul ugerului, mamitele, febra vituleră, imunodeficiențele, mai târziu și infertilitatea) constituie în jur de 40-50% din toate patologiile înregistrate la vacile de lapte pe parcursul ciclului de lactație-reproducție [145, 92].

Fenomenele de formare a radicalilor liberi legate de gestație, parturiție sau lactație provoacă diminuarea rezistenței organismului și predispunerea lui către diverse patologii. Există o corelație dintre diminuarea potențialului antioxidant al sângelui către sfârșitul gestației și frecvența patologiilor, bazată pe faptul, că aportul zilnic de 1000 UI de vitamina E pe parcursul a ultimilor 40 zile de gestație aduce la scăderea incidenței retențiilor placentare. De aceea, drept

prioritate se consideră aportul optimal de vitamine în această perioadă prin furage de calitate bună, sau prin suplimentarea alimentară [144].

Aportul exogen de compuși cu acțiune antiradicalică (vitamina E, Se), în perioada de estrus, pot ameliora performanțele reproductive ale femelelor. O administrare intramusculară de 500 mg vitamina E și 50 mg de seleniu, la 30 zile după fătare, poate ameliora fertilitatea la vacile aflate într-un mediu nestresant, dar acest aport este insuficient pentru a înlătura dereglările de reproducție la animale aflate în condiții defavorabile [54].

Radicalii liberi sunt implicați și în procesele de multiplicare și diferențiere a diferitor linii celulare la embrion. O ameliorare a dezvoltării embrionului, *in vitro*, a fost constatată în urma expunerii lor, în faza de gameți, acțiunii controlate din partea radicalilor liberi [162]. Totodată, supraexpunerea fetoșilor acțiunii radicalilor liberi de oxigeni poate provoca leziuni ale ADN-lui și apariția la ei a malformațiilor [99].

Adaptarea nou-născuților la noile condiții, care pentru ei sunt stresante nu este determinată în totalitate de potențialul său genetic sau de perioada fetală. La naștere capacitățile lor de sinteză a vitaminelor și enzimelor care fac parte din sistemul de protecție antiradicalică sunt mult diminuate. Resursele inițiale de apărare le formează glutathionul, vitamina C, vitamina E, carotenoizii stocați în țesuturi sau ingerați prin colostru sau cu laptele. Aportul exogen de acești compuși ameliorează sănătatea și dezvoltarea animalelor [142].

Suplimentarea substituenților de lapte cu vitamina E și vitamina C are efecte pozitive proporționale cu doza utilizată și în dependență de starea fiziologică a animalelor, de aceea deseori este nevoie de aport important. Totodată, s-a constatat, că întreținerea vițelilor în cuște individuale favorizează diminuarea conținutului de vitamina C și a statusului imun, pe când întreținerea lor în padocuri, în afara încăperilor are efecte opuse [79].

1.3.3. Implicarea factorilor fizici, climaterici, emoționali și nutriționali în declanșarea stresului oxidativ

Consecințele negative ale exercițiului fizic asupra sănătății sunt mai mult studiate la oameni și la șobolani – folosiți ca model. Un exercițiu fizic intens la subiecții neantrenați este însoțit de creșterea spectaculoasă a nivelului de radicali liberi sau, chiar de afectarea țesuturilor. Totodată, carența de vitamina E duce la scăderea rezistenței organismului la efort fizic. Pe parcursul antrenamentului, sistemul de protecție antiradicalică se adaptează și devine mai eficient, astfel organismul tolerează expoziția la eforturi tot mai intense [190].

Exercițiul fizic, în aceeași măsură, poate duce la dereglarea echilibrului antioxidant și la cail de sport, instalându-se stresul oxidativ, cu implicarea acestuia în diverse patologii [85]. Frigul, la rândul său, stimulează fluxul de radicali în organism. La mieii tineri după 12 ore de

aflare la temperatura mediului de 5 °C s-a înregistrat creșterea considerabilă a fragilității globulelor roșii și scăderea cu 50 % a glutathionului redus în sânge, fiind o dovadă concludentă a consumului exagerat de glutathion redus în pocișele de protecție antiradicalică [56].

La oameni expoziția la frig mare provoacă diminuarea nivelului de glutathion, pe când expoziția la frig mai puțin intensiv aduce la creșterea activității enzimelor antioxidante în special în mușchi [159]. Expoziția pe timp de 2 ore la temperatura de 14-16 °C a șoricelilor nu provoacă modificări în conținutul de glutathion la acei mai tineri, pe când la animalele mai în vârstă se constată scăderea nivelului de glutathion [176].

Condițiile de căldură excesivă în sezonul de vară, la fel, acționează negativ, provocând o situație de stres oxidativ moderat la vaci în perioada de tranziție, confirmat prin creșterea conținutului de produse de peroxidare (dialdehid malonic), în special în eritrocite, comparativ cu nivelul acestora constatat la vaci în tărziție, în perioada de primăvară [60].

Ingerarea nutrețurilor bogate în energie poate atenua consecințele stresului de frig la viței. Adaptarea progresivă a animalelor la frig și suplimentarea rației cu compuși protectori ameliorează cu mult rezistența organismului [171].

Întreținerea vițelilor în condiții de izolare are efect stresant asupra lor. Conform cercetărilor, la vițelii întreținuți în cuște individuale pe parcursul a 50 zile nivelul de vitamina C și imunoglobuline este diminuată, comparativ cu viteii întreținuți în grupuri la aer liber [79].

Izolarea și imobilizarea mieilor înainte de sacrificare este însoțită de nivelul crescut de noradrenalină, cortizol și insulină. În rezultatul mobilizării rezervelor de lipide și glicogen s-a înregistrat glicemie și lactacidemie înaltă, pH muscular mărit și diminuarea capacității de conservare a carcaselor [53].

La șobolani s-a demonstrat intensificarea proceselor de formare a radicalilor liberi în caz de imobilizate. La ei s-a constatat diminuarea glutathionului redus în mușchi și creșterea formei oxidate, creșterea cantității de substanțe reactogene cu acidul tiobarbituric, rezultate în urma peroxidării lipidelor tisulare. Suplimentarea cu vitamina E a contribuit la diminuarea substanțială a consecințelor menționate [133].

Un alt tip de stres întâlnit în creșterea animalelor și studiat mai detaliat este transportul către noile unități de producție sau la abator. Pe parcursul transportului animalele deseori nu primesc nici nutrețuri, nici apă, ceea ce favorizează formarea radicalilor liberi. În consecință animalele pierd în greutate, devin sensibile la infecții sau la alte tipuri de stres. Pentru restabilirea parametrilor tisulari, a greutății corporale și rezistenței organismului după transport este nevoie de mai multe săptămâni de zile [77]. Totodată, s-a stabilit că înfometarea și transportul influențează negativ calitatea carcasului la animale [131].

Modificările brutale ale sortimentului de alimente, a cantității de nutrețuri ingerate sau a echilibrului dintre componentele rației aduce la creșterea fluxului de radicali liberi în organism. S-a constatat pe șobolani, că restricția de proteine din rație duce la diminuarea activității enzimelor antioxidante și provoacă peroxidarea componentelor peretelui tractului digestiv și a altor țesuturi [116].

Pe de altă parte, activitatea SOD-ei, peroxidazei, catalazei și reductazelor, care constituie mecanismele enzimaticе ale protecției antioxidative, depinde de disponibilitatea oligoelementelor, cum este Cu, Mo, Zn, Mn, Fe, Se și Si [128, 125, 180]. Diminuarea conținutului de Zn în hrana vacilor de la 1/3 până la 1/10 din necesitatea zilnică, cauzează descreșterea activității SOD cu 20% și din contra, creșterea concentrației de Zn sau Mo cauzează limitarea absorbției de Cu, ceea ce limitează activitatea SOD [182].

Cuprul este un element unic în felul său, prin aceea că are un rol dublu de prooxidant și antioxidant, în dependență de forma sa. Ionul de Cu liber, joacă rolul de ion de tranziție și devine un prooxidant foarte puternic. Totodată, Cu ca component al SOD sau Ceruloplasminei funcționează ca antioxidant, de aceea, examenarea influenței oligoelementelor în balanța oxidativă este destul de complicată și trebuie de luat în considerație interacțiunea sinergică și antagonistă și abilitatea multidirecțională de a intra în reacțiile biochimice (Kleczkowski M. et al., 2006).

În situația, când nivelul de alimentare este prea înalt, sau în caz de mobilizare a lipidelor se constată un aport intensiv de substanțe energetice în mitocondrii și producerea de O_2^- și H_2O_2 la nivelul ciclului respirator celular. Atacul oxidativ asupra țesuturilor s-a dovedit a fi mult mai sever în cazul, când aprovizionarea organismului cu nutrienți bogați în energie crește brutal [149].

Intensificarea fenomenelor de formare a radicalilor liberi poate fi indusă prin deficitul sau excesul de cupru. În primul caz, fenomenul i-a amploare, deoarece scade nivelul de superoxiddismutază dependentă de cupru, iar în cazul al doilea cuprul stimulează direct formarea radicalilor liberi în organism. În ambele cazuri protecția antiradicalică a organismului se epuizează și are loc scăderea concomitentă a conținutului de vitamina A și E [179].

În caz de aport îndelungat al cuprului în cantități minimale în raport cu necesitățile organismului se constată diminuarea ritmului de creștere, scade calitatea carcasului sau eventual survine moartea animalelor [66].

Alți factori de risc pot fi micotoxinele, care aduc la scăderea substanțială a asimilării antioxidantilor din nutreț, metalele grele și alte substanțe toxice (pesticide, fungicide, erbicide ș.a.), grăsimile oxidate din rație, inducând oxidarea nutrienților în tractul digestiv, se soldează cu

intensificarea proceselor de formare a radicalilor liberi în organism, însoțită de scăderea imunocompetenței, performanței productive și reproductive la păsări și animale [11].

1.3.4. Sindromul de peroxidare - expresie clinică a stresului oxidativ la animale

În viziunea științifică actuală, stresul oxidativ provocat de acțiunea nocivă a radicalilor liberi de oxigen poate fi una din cauze în declanșarea leziunilor celulare primare [8], sau, altfel exprimat, supraproducția de radicali liberi și stresul oxidativ poate fi considerat unul din mecanismele patobiochimice implicate în inițierea sau etapele de progresare a diverselor boli [174].

Acțiunea toxică a produselor oxidării radicalice se exprimă în inactivarea grupelor sulfhidrice a proteinelor, activarea lipazelor, apariția în celule a picăturilor de lipide, inhibarea fosforilării oxidative; deformarea sau chiar distrugerea mitocondriilor, aberații cromosomiale, activarea proceselor de autoliză. Are loc modificarea integrității și funcționalității membranelor biologice urmată de dereglarea metabolismului celular și a procesului de mitoză. La nivel de organism se observă scăderea greutății corporale, apatie, diminuarea reacției la factorii excitanți externi, eroziuni pe conjunctivă și mucoasa nazală, anemie, dereglări digestive, respirație aritmică, leucopenie, prevalarea proceselor distrofice față de cele regenerative [22].

În caz de dereglare a sistemului antioxidant fiziologic, dezlănțuirea proceselor de oxidare radicalică a lipidelor provoacă un complex de manifestări patologice specificat ca **sindrom de peroxidare**. El se caracterizează prin afectarea membranelor celulare și a structurilor intracelulare, dereglarea activității enzimelor antioxidante și a celor membranare, acumularea de produse primare și secundare ale peroxidării lipidelor în sânge și diferite organe. Oxidarea provocată de radicalii liberi favorizează descompunerea lipoproteinelor și fosfolipidelor, provoacă descompunerea fibrelor elastice, induce fibroza și îmbătrânirea colagenului. Cele mai vulnerabile sunt membranele eritrocitelor și celulelor endoteliale ale arterelor, deoarece în componența lor sunt incluse multe fosfolipide ușor oxidabile și, totodată, ele se află în contact cu concentrații mari de oxigen [13].

Radicalii liberi și hidroperoxizii sunt capabili să producă modificări oxidative ale diferitor substraturi biologice afectând astfel celulele. În consecință, are loc degradarea proteinelor și lipidelor structurale ale membranelor, modificări ale acizilor nucleici, inhibarea enzimelor, modificarea structurii și proprietăților hormonilor și a receptorilor [22].

Reproducerea experimentală a sindromului de peroxidare la epuri prin excluderea din rație a antioxidanților, a constatat la ei modificări morfologice caracteristice îmbătrânirii (arterioscleroză, disfuncții hipotalamo-hipofizare, modificări în testicule etc.), iar la nivel

biochimic - creșterea procentului de hemoliză peroxidică, diminuarea cantității de glutatyon și ascorbat în sânge, creșterea activității SOD și diminuarea catalazei în ficat și în sânge [16].

Modificări asemănătoare cu cele descrise la animale de laborator, cum ar fi scăderea rezistenței peroxidice a eritrocitelor, acumularea produselor de peroxidare în sânge, cât și semne clinice de anemie, diminuarea masei corporale, scăderea productivității ș.a., au fost constatate și în cercetările noastre efectuate pe vacile cu cetoză clinică [19, 115].

La animale, după părerea unor autori, procesele de formare a radicalilor liberi și peroxidare a lipidelor sunt responsabile de provocarea diferitor maladii, cât și de diminuarea productivității și a calității produselor [143].

1.3.5. Modalitățile de prevenire ale stresului oxidativ la animale

Pe parcursul întregii vieți, începând cu fecundarea și terminând cu abatajul, animalele sunt expuse acțiunii radicalilor liberi. În condiții normale, există un echilibru între sistemele generatoare de specii reactive de oxigen și sistemele antioxidante [3].

Cunoscând factorii care prin acțiunea lor favorizează declanșarea stresului oxidativ pot fi elaborate măsuri respective de profilaxie. Unul din factorii frecvent întâlniți în creșterea animalelor care influențează negativ statusul antioxidant este factorul nutrițional. Anume prin aportul alimentar insuficient, sau neechilibrat a compușilor nutritivi cu proprietăți antioxidante, sau prin aportul excesiv de ingredienți oxidativi se ajunge la dezechilibru în procesele respective. De aceea, este important de a cunoaște necesitățile fiziologice ale animalelor atât în condiții normale, cât și în caz de suprasolicitari ale sistemului antioxidant.

După părerea lui [138] necesitățile zilnice ale vacilor cu productivitate înaltă în antioxidanți sunt mult mai mari, decât se credea în trecut și ele nici de cum nu sunt acoperite prin distribuirea rațiilor obișnuite. Pentru aceste animale este necesară suplimentarea rațiilor cu antioxidanți sau administrarea lor parenterală.

Antioxidanții necesari trebuie furnizați toți în ansamblu și în cantități optimele fiecare. În afară de efectele sinergiste dintre antioxidanți poate avea loc anihilarea efectului respectiv, dacă unul dintre antioxidanți este în cantitate insuficientă. În domeniul acesta rămâne mult de cercetat, dar în fond, trebuie de utilizat cei mai efectivi antioxidanți cunoscuți cum sânt vitaminele A, C, E și oligoelementele Fe, Cu, Zn, Mn, I, Co [145, 138].

Aportul alimentar de compuși antioxidanți, în particular de vitamina E, este efecace numai după depășirea pragului de asimilare. După ingerare concentrația substanțelor respective în sânge este mai înaltă comparativ cu cea din țesuturi. Pentru a obține o protecție optimală a țesutului muscular la viței de patru luni suplimentarea trebuie făcută pe parcursul a 1,5 – 2 luni, iar pentru a obține un nivel de acumulare maximală trebuie administrat timp de patru luni [55].

Un regim alimentar echilibrat nu impune administrarea unor cantități suplimentare de antioxidanți exogeni, organismul obținând vitaminele și factorii nutritivi necesari. Administrarea antioxidanților este însă utilă în stări de subnutriție, rații alimentare dezechilibrate, expunerea la noxe chimice, radioactive sau primăvara când animalul este cu deficit în factori alimentari naturali [9]. Pentru rumegătoare nutrețul preferat sunt plantele în floare – bogate în vitamina E, carotenoizi și ubiquinon [189].

În lexicul medical, încă din anii '80 a fost introdus de către specialiștii japonezi, termenul de **aliment funcțional** care se referă la alimentele procesate ce conțin ingrediente ce adaugă la factorul nutritiv și un stimulator specific funcțiilor organismului [3].

Definiția a fost extinsă la toate alimentele sau ingredientele ce au un impact pozitiv asupra sănătății individuale, stimulării performanțelor fizice, comportamentale sau a celor mentale în plus față de valoarea nutritivă. Deci, în afară de consumul de alimente ce conțin antioxidanți naturali, se subînțelege și consumul de alimente procesate care au fost suplimentate cu antioxidanți naturali utilizați frecvent precum: tocoferolii, acidul ascorbic, extracte din plante ca rozmarin, flavonoide, lycopene și altele, care pot asigura statusul antioxidant [90].

Rolul alimentelor funcționale constă în profilaxia nutrițională a stresului oxidativ. Când se consumă alimente cărora li s-au adăugat antioxidanți sintetici precum uleiurile vegetale, margarina, maioneza, diferite gustari etc., antioxidanții trebuie să se metabolizeze în vederea solubilizării lor în lipide, fie în substanțe mai puțin solubile în lipide, fie în metaboliți hidrosolubili [3].

Dovezile epidemiologice acumulate sprijină ideea precum, că antioxidanții naturali pot preveni dezvoltarea timpurie a unei patologii legate de radicalii liberi oxigenați, precum bolile cardiovasculare, unele stări canceroase, afecțiuni neurologice etc., oferind totodată o viață mai bună reflectată prin starea de sănătate și calitate a vieții.

Determinarea aportului optim de antioxidanți naturali, prin utilizarea de alimente funcționale, este una din provocările cele mai mari ale nutriției, fiziologiei și fiziopatologiei. Pentru cunoașterea antioxidanților naturali, a mecanismelor de acțiune, care să aibă o înaltă putere antioxidantă și o slabă toxicitate, cu o mare solubilitate în faza apoasă sau în cea organică, sunt angajați nutriționiști, biochimiști, fiziologi și fiziopatologi din domeniul nutriției omului și animalelor, chimiei alimentare, ingineriei și tehnologiei alimentare. În general, antioxidanții naturali sunt compuși care păstrează în mod natural calitatea alimentelor și protejează sănătatea omului și animalelor de efectele nedorite ale speciilor reactive de oxigen [3].

Reeșind din cele relatate mai sus, este evidentă importanța nutriției echilibrate și pentru menținerea sănătății animalelor. De aceea, în nutriția animalelor, la fel sunt introdusi diferiți

compuși naturali sau de origine sintetică, cu acțiune protectoare sau unele elemente care ar favoriza funcționarea sistemului antioxidant al organismului. În prezent această idee se realizează prin introducerea în rațiile animalelor a premixurilor mineralo-vitaminice care posedă proprietățile menționate.

Utilizarea antioxidantilor în pregătirea nutrețurilor este un fapt deja cunoscut. Includerea lor în componența nutrețurilor sporește termenul de păstrare a acestora și valoarea nutritivă. Acțiunea protectoare a antioxidantilor se exercită asupra substanțelor ușor oxidabile din nutrețuri, cum ar fi lipidele nesaturate, vitaminele liposolubile ș.a.. În cazul oxidării acestora, ele se transformă în produse toxice, care influențează negativ dezvoltarea și productivitatea animalelor [21].

În nutrețurile combinate la care s-au adăugat antioxidanți sintetici (santoxină sau diludină), conținutul de peroxizi lipidici și indicele acidității sunt mult mai diminuați, decât în mostrele fără antioxidanți. Pe parcursul păstrării nutrețurilor stabilizate (4-6 luni), nivelul de grăsime brută și de acizi grași nesaturați, cât și a vitaminelor liposolubile (A,E) este mai înalt, decât în cazul stocării fără antioxidanți. Totodată, se menționează, că efect stabilizator mai pronunțat s-a obținut în cazul asocierii a câtorva antioxidanți cum ar fi: santoxina, ionolul și acidul [21].

Această modalitate de utilizare a antioxidantilor sintetici a găsit aplicare practică în toate domeniile zootehniei intensive, inclusiv și în creșterea bovinelor.

Altă modalitate de utilizare a antioxidantilor, decât cea de stabilizare a nutrețurilor este includerea acestora în rațiile zilnice cu scopul de prevenire a oxidării substanțelor nesaturate în organismul animalelor. Un șir numeros de cercetări efectuate, în această direcție, pe viței și vaci confirmă acțiunea pozitivă a antioxidantilor asupra dinamicii de dezvoltare la tineret, a nivelului productivității și indicilor reproductivi la animale mature.

În experiența efectuată pe câteva loturi de viței [24], privitor la utilizarea diludinei în diferite doze s-a constatat, că efectul stimulator asupra dezvoltării fizice este mai evident la loturile care au primit zilnic câte 4 și 6 mg / kg m.c., paralel, cu diminuarea consumului de unități nutritive și de proteină digestibilă la 1kg de surplus de masă corporală.

S-a constatat sporirea energiei de dezvoltare, diminuarea consumului de hrană la 1 kg de surplus, creșterea nivelului de proteine și caroten în ser, la tăurași în vârstă de 10 luni, care au primit diludină și ionol în doză de 5 mg/kg m.c. în perioada de vară [23].

În altă experiență efectuată pe tăurași la îngrășare, la fel s-a constatat efectul stimulator al diludinei (2-4 mg /kg m.c.) asupra dinamicii de dezvoltare și nivelului de asigurare cu vitamina A, dar numai în perioada de iarnă a anului [48].

Cercetări recente [43], vizând acțiunea adaptogenilor asupra proceselor metabolice au fost efectuate pe tăurași cu vârsta de 11 luni. În cadrul acestui experiment fiziologic s-a stabilit influența pozitivă asupra digestibilității substanțelor nutritive în organism a câtorva preparate adaptogene, inclusiv diludină. Conform autorilor, sub acțiunea preparatelor cercetate, printre care și diludina (12,5 mg/kg), a crescut coeficientul digestibilității substanței uscate, a substanțelor organice, a proteinei, grăsimii și celulozei brute din rație, cu efect pozitiv asupra balanței azotului și în metabolismul energetic.

Multiple cercetări efectuate pe vaci de lapte confirmă, în repetate cazuri, acțiunea benefică a diludinei și a altor antioxidanți sintetici (santohină, ionol) și naturali (vitamina E, A) asupra funcției de reproducție și productivității animalelor.

Acțiunea diludinei în doză de 1,2 g/animal/zi asupra indicilor productivi la vaci în lactație, în comparație cu santohina (1,2g/ animal / zi) și vitamina E (50mg/ animal / zi) administrate pe parcursul a 90 zile este descrisă de [21]. Din rezultatele prezentate s-a constatat, că productivitatea exprimată prin cantitatea medie zilnică de lapte de 4% la lotul de vaci, care a primit diludină, a fost cea mai înaltă dintre toate loturile (18,5% decât lotul martor), iar procentul de grăsime a laptelui a atins valoarea de 4,61%, fiind la fel cel mai înalt. Prin efectuarea analizei laptelui, la acest lot s-a constatat nivel mai ridicat de caroten și vitamina A, decât la celelalte loturi. Pe baza acestor rezultate autorii concluzionează, că diludina este un preparat mai eficient în stimularea producției și sporirea procentului de grăsime în lapte, comparativ cu alți antioxidanți, fapt confirmat și de [31].

[40] au obținut rezultate similare în experiența, care viza administrarea la vaci, a diludinei care a fost inclusă în nutrețuri combinate în raport de 50 și 100 g la tonă, pe parcursul a 92 zile. La vacile din loturile experimentale de asemenea s-a obținut creșterea considerabilă a cantității de lapte (cca. 38 %) și a procentului de grăsime (cu 0,2-0,3 %).

Alt aspect, al acțiunii pozitive a antioxidanților *santohina* și *diludina*, îl constituie stimularea funcției de reproducere a vacilor fapt confirmat de cercetările mai multor autori [44]. Ei afirmă că îmbunătățirea funcției de reproducere și a productivității se datorează nivelului mai înalt de vitamina A, constatat la vacile care primesc în rație antioxidanți.

Folosirea vitaminei A pentru compensarea deficitului de caroten din rație, în combinație cu antioxidanții sintetici (santoxină și diludină) a descoperit posibilitatea introducerii unor doze mai mici de această vitamină. Conform autorilor, [21], administrarea diludinei (1,5 g/zi) în combinație cu vitamina A în diferite doze (100, 150, 200 și 250 mii UI/zi), a influențat pozitiv asimilarea acesteia, constatând un nivel mai înalt de caroten și vitamina A în serul sanguin și în lapte, comparativ cu loturile cărora li s-a administrat numai vitamina A.

Eficiența antioxidantilor sintetici depinde în mare măsură de dozele utilizate [21]. Dozele mici - nu manifestă efect biostimulator, iar dozele mari pot provoca atitudine concurențială cu antioxidanții naturali din organism. Dozele optime pentru santohină și diludină în rațiile vacilor, confirmate prin efect pozitiv asupra productivității, funcției de reproducție, nivelului de caroten și vitamina A în lapte și sânge - sânt de 150 – 200 mg la o unitate nutritivă. Rezultate similare au fost obținute de [31, 30].

Într-un șir de experiențe efectuate pe loturi de vaci multiparte și juninci, la care s-a administrat santohină, diludină sau vitamina E, s-a constatat diminuarea activității transaminazelor lizozomale AST, ALT și a PA în serul sanguin. Acest fapt are o interpretare pozitivă, deoarece creșterea activității serice a enzimelor intracelulare pe fondalul deficitului de vitamina E, după cum s-a constatat se produce din cauza acumulării de peroxizi lipidici, care la rândul sau influențiază permeabilitatea membranelor celulare și a structurilor subcelulare. Prin urmare, deficitul de vitamina E în rație poate fi pațial compensat de către antioxidanții sintetici (santohină, diludină) [21].

Un aspect important al utilizării antioxidantilor este acela, că eficiența lor crește în cazul combinării a câtorva substanțe de proveniență sintetică, sau cu cele de origine naturală, datorită efectului sinergic [21]. Administrarea concomitentă a santohinei (2 g/ zi) și vitaminei E (50 mg/ zi), sau a diludinei (2,4 g/ zi) cu vitamina E în aceeași doză, s-a soldat cu îmbunătățirea funcției de reproducție la vaci, creșterea viabilității și micșorarea morbidității vițelor de dispepsie, sporirea conținutului de vitamina A, proteine, lipide și fosfor în lapte. În serul sanguin s-a constatat mărirea cantității de fosfor neorganic, magneziu, zahăr și scăderea activității fosfatazei alcaline [45].

Rezultate bune în ameliorarea funcției de reproducție și productivității la vaci au fost obținute în cazul utilizării asociate a câtorva preparate cu acțiune antioxidantă: diludină (2,0 g), selenit de natriu (1,0 mg), vitamina E (200 mg) și A (100-150 mii UA) [30, 32].

Totodată, se menționează, că în aceste experiențe s-a constatat atât creșterea digestibilității substanțelor nutritive din rație (proteină, substanță uscată, substanțe organice), cât și ameliorarea fonului metabolic la animale. Ultimul s-a exprimat prin creșterea rezervei alcaline, a carotenului și fosforului neorganic în ser; sporirea numărului de eritrocite, a concentrației de hemoglobină, a cantității de glutatation redus și a rezistenței eritrocitelor la hemoliză [32].

La momentul actual, în creșterea bovinelor de lapte sau carne, interes sporit prezintă includerea în rație a micronutrienților cu rol biologic (vitamine, oligoelemente), în primul rând pentru asocierile constatate în vederea asigurării imunității, rezistenței la boli și funcției reproductive [111].

Ținând cont de faptul, că oligomineralele constituie centrul activ al enzimelor cu rol de protecție antioxidantă (SOD-za (Cu, Zn și Mn), CAT-za (Fe), GSH-Px (Se)), fluctuațiile valorilor fiziologice ale oligoelementelor în organism pot cauza tulburări ale metabolismului acestora și a balanței oxidative în sânge și țesuturi.

Pentru prevenirea deficiențelor de oligominerale la vaci, ca și la alte specii, trebuie de perfecționat nutriția și managementul, deoarece chiar și formele subclinice ale diverselor deficiențe minerale se manifestă prin scăderea producției de lapte cu schimbarea componenței acestuia la animale lactante și tulburări în creșterea și dezvoltarea tineretului [147].

Suplimentarea rației cu oligoelemente (Cu, Zn, Mn, Se ș.a.) este importantă pentru asigurarea protecției antioxidative, în special, odată cu creșterea necesităților la vaci cu diferit nivel de producție. Dar trebuie de ținut cont atât de efectul pozitiv, cât și cel negativ al componenței rației, după cantitatea de oligominerale, asupra balanței oxidative și antioxidative [141, 182].

Situațiile, în care este necesară administrarea oligomineralelor la vaci, sunt următoarele: 1) perioada de repaus mamar; 2) perioada înainte și după fătare; 3) situațiile de stres (parturiția, transportarea ș.a.); 4) perioada de montă (30 – 60 zile) [111].

La momentul actual problema deficienței oligoelementelor cu funcție biologică se soluționează prin două metode. Prima, adoptată de mai mulți ani în urmă, este utilizarea în nutriție a oligoelementelor în formă anorganică (sulfati sau cloruri ș.a.), dar care are și o serie de efecte nedorite.

A doua modalitate, mai modernă, constă în utilizarea microelementelor în formă proteinată (organică) – legate cu aminoacizi. Oligoelementele în forma proteinată sunt promovate pe piața mondială cu mai mult de două decenii în urmă. Una din firmele specializate în domeniul dat, este „Alltech” (SUA), care a implementat așa produse cum este Sel-Plex (Se), Bioplex (Zn, Mn, Cu, Fe și Se) pentru diferite specii de animale (păsări, porcine, rumegătoare, cabiline ș.a.) [11].

Rezonabilitatea utilizării oligoelementelor organice, constă în primul rând, în biodisponibilitatea sporită a acestora, care crește cu 10 – 30 %, vizavi de cele anorganice [73].

Biodisponibilitatea oligoelementelor și distribuirea lor în organism este influențată de mai mulți factori, principalii dintre care sunt: forma chimică, alți componenți ai rației, starea fiziologică, specia ș.a. [178].

Este dovedit că absorbția intestinală a oligoelementelor organice, în special a Se în formă de selenometionă (SeMet), spre deosebire de formele anorganice (selenit de sodiu sau selenat) se produce pe calea de absorbție a aminoacizilor [193].

Prin acest mecanism se asigură transportarea mai activă a Se prin mucoasa intestinală și acumularea în țesuturi (ficat, mușchi ș.a.), asigurându-se, astfel rezerva necesară care poate fi utilizată eficient în cazuri de necesitate (condiții de stres) când cerințele de seleniu sunt mai mari decât ceea ce poate fi furnizat zilnic prin rație [11, 174].

Utilizarea oligoelementelor organice, în special a seleniului, în nutriția animalelor, inclusiv la bovine, se soldează cu efecte pozitive, dintre care pot fi menționate următoarele: creșterea concentrației de seleniu în colostru și lapte, creșterea nivelului de imunoglobuline și T_3 în ser [58], creșterea sporului zilnic la viței și a nivelului de Se în sânge și în ficat [185], reducerea degenerării musculare de origine nutrițională la viței, reducerea numărului de celule somatice în lapte, reducerea numărului de înșămânțări pe montă fecundă la vaci [113, 97].

Modernizarea fermelor de vaci de lapte a dus la apariția a noi factori de stres care influențiază asupra animalelor, iar creșterea cerințelor pentru producția de lapte impune reconsiderarea cerințelor de nutrienți pentru vacile de lapte. De aceea, cercetările din ultimii ani sugerează o abordare mai practică a îmbunătățirii statusului seleniului la vaci prin utilizarea formei organice (Sel-Plex) [97].

Studiile din ultimii ani indică asupra faptului că îmbogățirea alimentelor de origine animală cu Se prin suplimentarea rațiilor animalelor, ar putea fi un mod eficient de creștere a statusului de Se la om acolo unde aportul este scăzut. De aceea, prin crearea de alimente funcționale este posibilă punerea la dispoziția consumatorilor a unei mari varietăți de produse avicole, din carne de porc, vită și produse lactate care pot reprezenta o dietă pentru menținerea unei bune stări de sănătate [12].

1.4. Concluzii la capitolul 1

1. Reacțiile de formare a radicalilor liberi și altor specii reactive de oxigen, reprezintă unul din aspectele metabolice vitale pentru menținerea homeostaziei în organism, iar destabilizarea echilibrului dintre procesele pro- și antioxidative la nivel umoral și celular, reprezintă starea de stres oxidativ, care poate deveni unul din mecanismele fiziopatologice importante în declanșarea diverselor patologii la om și la animale.

2. Studiarea fenomenelor „redox” din organism, mult mai extinsă în medicina umană, a avut drept rezultat constatarea implicării proceselor oxidative în diverse patologii sistemice și de organ la om, dar și mai nou, - elaborarea unor metodologii de utilizare a antioxidantilor în tratamentul și profilaxia acestor procese.

3. În medicina veterinară, amploarea cercetărilor de acest gen este mult mai modestă, fapt ce explică volumul relativ mic de informație, cu referire la incidența stresului oxidativ și

implicarea acestuia în patologiile animalelor de diferite specii, în general, și a celor de producție, în special.

4. Evaluarea statusului antioxidant la vacile de lapte este importantă atât din punct de vedere al diagnosticării stresului oxidativ în perioadele fiziologice „critice” sau la acțiunea unor factori de risc, cât și în privința evaluării posibilităților de prevenire a acestuia, prin suplimentarea rației cu oligominerale, antioxidanți naturali sau sintetici, care contribuie eficient la modularea sistemului antioxidant, fortificarea sănătății și sporirea potențialului productiv.

Reieșind din cele expuse, **scopul lucrării** constă în evaluarea sistemului antioxidant la bovine în funcție de starea fiziologică și vârsta animalelor (vacii în tranziție și debutul lactației; tineret taurin), elucidarea rolului stresului oxidativ în patogeneza unor stări morbide (cetoza, SML), și aprobarea unor măsuri complexe de optimizare ale statusului antioxidant la vacii și viței.

Obiectivele cercetărilor:

- evaluarea particularităților statusului antioxidant la vacile sănătoase (perioada de tranziție și debutul lactației) și tineretul taurin, și elucidarea factorilor de risc în destabilizarea echilibrului “redox”;
- studierea eventualei implicări a stresului oxidativ în patogeneza cetozei și sindromului de mobilizare a lipidelor la vacii;
- elaborarea și aprobarea unor modalități de optimizare ale parametrilor statusului antioxidant la vacii și viței, prin utilizarea substanțelor cu proprietăți antioxidante de origine naturală și sintetică.

2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE

Cercetările au fost efectuate în perioada anilor 1988-1990, 2002, 2004 și 2006 în patru gospodării specializate în creșterea bovinelor, pe un număr total de 152 de animale, dintre care 124 de vaci și 28 de viței. Vacile incluse în experiențe aveau vârsta cuprinsă între 3 și 7 ani și nivelul mediu al productivității între limitele de 3800 - 5000 kg de lapte în lactație, iar vârsta vițelor a variat de la 6-8 săptămâni până la 6-7 luni.

În scopul facilitării procesului de descriere și analiză a materialului experimental, inclus în lucrare, loturile de animale supuse cercetărilor au fost nominalizate convențional prin următoarele litere latine: “A”, “B”, “C”, “D”, “E”, “F” și “G”.

În **prima parte** a cercetărilor, cuprinse în **capitolul 3**, sunt analizate rezultatele evaluării statusului antioxidant la **vaci sănătoase** și la **vaci bolnave de cetoză**, prin determinarea indicilor (markerilor) pro- și antioxidativi (**RPE**, **CAT** și **DAM**), în perioada de tranziție (gestație-lactație). De rând cu aceștia, s-a studiat dinamica indicilor eritronului, ai parametrilor clinici și ai productivității, în vederea monitorizării complexe a stării de sănătate a vacilor în perioada “critică” periparturientă și de debut a lactației (cercetarea “A” și “B”).

A doua parte a cercetărilor, descrise în **capitolul 4**, cuprinde rezultatele evaluării a unor modalități de optimizare ale **statusului antioxidant la vaci** prin includerea în rație a substanțelor cu proprietăți antioxidante, precum este:

a) antioxidantul sintetic Diludină, utilizat la vaci în perioada de tranziție sau în lactație (experiența “C” și “D”);

b) premixul mineralo-vitaminic pentru vaci în debutul lactației cu oligoelemente în formă anorganică (Cu, Zn, Co, I₂ și Se), inclusiv vitamina E și A, și metionina (experiența “F”).

A treia parte a cercetărilor (**capitolul 5**) cuprinde rezultatele, privind optimizarea **statusului antioxidant la viței** prin folosirea oligomineralelor (Cu, Zn, Co, Mn și Se) în formă **anorganică și proteinată** (experiența “G”) și investigațiile, referitoare la variațiile de vârstă ale statusului antioxidant la un lot de vaci în lactație și un lot de viței (cercetarea „E”).

Influența produselor menționate a fost apreciată prin determinarea a mai multor indici, dintre care: cei ai sistemului antioxidant (**RPE**, **CAT** și **DAM**), ai eritronului, ai profilului metabolic, ai parametrilor clinici și ai performanței productive, în experiențele cu Diludină; cei ai statusului antioxidant (**AAT**, **AOT**, **DAM** și **HPL**), ai indicilor hematologici, ai profilului metabolic, ai parametrilor clinici și ai performanței productive în experiența “F”; cei ai statusului antioxidant (**AAT**, **AOT**, **SOD**, **CAT**, **GR**, **GSH-Px**, **DAM** și **HPL**), ai eritronului, ai parametrilor clinici și ai performanței productive în experiența “G” și „E”.

În ansamblu, pe parcursul cercetărilor efectuate s-a ținut cont de structura rației, corespunderea acestora particularităților de specie și perioadei sezoniere, randamentului productiv și necesităților zilnice ale animalelor. Investigațiile s-au realizat în lunile de toamnă-iarnă, primăvară și primăvară-vară.

Experiențele nominalizate “**F**”, (2006) și “**G**”, (2004) au fost efectuate în colaborare cu colaboratorii “*Laboratorului de nutriție a animalelor și tehnologia nutrețurilor*”, condus de dr. habilitat în biologie Coșman Sergiu, din cadrul IȘPBZMV, c. Maximovca, r-l Anenii-Noi.

Investigațiile de laborator au fost îndeplinite la catedra de Terapie a UASM, în laboratoarele raionale veterinare (r-l Criuleni și Ungheni), laboratorul CRDV, (anii 1989-1990) și în *Laboratorul Central de Cercetări Științifice a USMF “N. Testemițanu”* (an. 2002, 2004 și 2006).

2.1. Evaluarea statusului antioxidant la vacile sănătoase și la vacile cu cetoză (cercetarea „A” și „B”)

Cercetările descrise în acest capitol s-au desfășurat în două efective de vaci, din diferite unități economice, urmărind dinamica stării de sănătate și a statusului antioxidant al acestora, în perioada de tranziție.

Din primul efectiv (c. Colonița, r-l Criuleni; IV-V, 1989)) au fost selectate 10 vaci, care în perioada respectivă de monitorizare, de la 20-14 zile antepartum până la 21 zile post-partum, au fost sănătoase, constituind astfel, lotul **A** de referință.

Din cel de al doilea efectiv, (c. Mălăiești, r-l Orhei; IV-V, 1989) în care s-a constatat îmbolnăvirea vacilor de cetoză, au fost cercetate 39 de animale divizate în trei loturi în funcție de perioada lactației și starea clinică: lotul **B₁** – 22 vaci în perioada post-partală (7-14 zile); lotul **B₂** – 10 vaci-recordiste (peste 25 kg/zi) la 30-60 zile de lactație, și lotul **B₃** – 7 vaci la 60-90 zile de lactație, grav bolnave în stare de cașexie.

Pe parcursul cercetărilor, de rând cu examenul clinic al animalelor s-a efectuat analiza probelor de urină, înregistrarea ECG-ei, determinarea indicilor sistemului antioxidant (**SAO**) și a indicilor eritronului, în conformitate cu schema experienței (tab. 2.1.).

Starea clinică a vacilor din efectivul „**A**” s-a determinat prin inspecția zilnică a animalelor, începând de la 20-14 zi până la parturiție și finalizând cu a 21-22 zi postpartum. La începutul cercetării, la 2-4 zile și la trei săptămâni postpartum la aceste vaci, de rând cu aprecierea stării generale, s-a efectuat măsurarea parametrilor clinici (**T**, **P** și **R**) și colectarea probelor de sânge pentru analize hematologice și biochimice. La ultima cercetare (21 zi

postpartum) la nouă vaci din acest lot s-au colectat probe de urină și s-a efectuat înregistrarea ECG-ei.

Tabelul 2.1. Schema cercetărilor privind starea clinică și statusul antioxidant la vaci sănătoase și vaci bolnave de cetoză în perioada de tranziție

Experi-ența	Lotul	Perioada	n	Producția	Mențiuni	Indicii
„A”	A	20-14 zi a/part. 2-4 zi p/part. 18-21 zi p/part.	10	16-18 kg/zi	sănătoase	T, P, R; ECG; Eritr., Hb, Ht; DAM, RPE, CAT; corpi cetonic
„B”	B₁ B₂ B₃	7-14 zi p/part. 30-60 zi lact. 60-90 zi lact.	22 10 7	----- peste 25 kg/zi scăzută	cetoză cetoză cașexie	T, P, R; ECG; Eritr., Hb, Ht; DAM, RPE, CAT; corpi cetonic; Exam. anatomo- patologic

Examenul clinic la animalele din efectivul „B” s-a efectuat simultan, la toate trei loturi menționate (39 animale în total), prin determinarea parametrilor clinici (**T, P** și **R**), inspecția conjunctivei și a mucoaselor aparente, aprecierea comportamentului, stării de întreținere etc. La 10 animale din lotul **B₁** și la 7 din lotul **B₂** s-au colectat probe de urină în vederea determinării proteinelor (testul cu acid sulfo-salicilic 20%) și a corpiilor cetonic (testul-expres cu reagentul, Lestrade-Roter).

Concomitent cu investigațiile clinice s-au prelevat probe de sânge pentru analize hematologice (**eritrocite, Hb** și **Ht**) și biochimice, de la 16 vaci din **B₁**, la zece din **B₂** și la cele 7 din lotul **B₃**. Ultimele s-au făcut în vederea determinării prin teste biochimice a indicilor sistemului antioxidant (lotul **B₁** și **B₂**) precum este: rezistența peroxidică a eritrocitelor (**RPE**), activitatea catalazei (**CAT**) și cantitatea de dialdehidă malonică (**DAM**) în ser (capitolul 2.6.1.).

La 8 animale din lotul **B₁** și la 10 din lotul **B₂** s-a efectuat examinarea detaliată a sistemului cardiovascular prin metodele clinice și prin înregistrarea electrocardiografei (ECG). Prin palpație s-a determinat prezența și calitatea șocului cardiac, iar prin auscultație – frecvența, ritmicitatea și intensitatea zgomotelor cardiace.

Electrocardiograma (ECG) a fost înregistrată în poziție frontală bipolară toracică după metoda propusă de M.P. Roșcevschi, 1958. S-au înregistrat trei derivații standard (I, II și a III) prin fixarea electrozilor de tip „crocodil” în regiunea posterioară a articulațiilor scapulo-humerale: pe dreapta-electrodul roșu, pe stânga-electrodul galben și la baza apendixului xifoidian - electrodul verde. Locul de amplasare a electrozilor se tunde, se degresa cu soluție de alcool etilic și se umezea cu soluție hipertonică de clorură de sodiu.

Pentru înregistrarea ECG-lor s-a utilizat electrocardiograful de tip ЭК1Т-04 cu un canal cu hârtie termosensibilă. Aparatul a fost etalonat la $1\text{mV} = 10\text{ mm}$, cu viteza de rulare a hârtiei de 50 mm/s ($1\text{mm} = 0,02\text{ s}$). Pentru fiecare derivație au fost înregistrate de la 7 până la 10 cicluri cardiace.

Analiza ECG-lor s-a efectuat prin descifrarea fiecărei din cele trei derivații înregistrate. În acest scop s-a determinat amplitudinea undelor **P**, **Q**, **R**, **S** și **T** (mV), durata intervalelor **/P-Q/**, **/Q-T/**, **/R-R/** și complexului **QRS** în secunde, lungimea segmentului **S-T** și poziția sa față de linia izoelectrică. Pe baza măsurărilor efectuate a fost analizată ritmicitatea cardiacă, s-a calculat frecvența cardiacă, indicele sistolic ventricular (**ISV**) exprimat în procente ($\text{Q-T/R-R} \times 100$) și coeficientul diastolo-sistolic (**CDS**), care arată de câte ori durata diastolei depășește durata sistolei ventriculare (T-Q/Q-T).

În vederea stabilirii diagnosticului pato-morfologic la vacile bolnave din lotul **B₃**, în stare de cașexie gravă, cinci animale au fost sacrificate și supuse examenului anatomo-patologic. Sacrificarea animalelor și examenul respectiv s-a efectuat la combinatul de carne din or. Bălți, în prezența comisiei de experți.

S-a examinat starea carcaselor și a organelor interne (cord, pulmon, ficat, splină, pancreas, rinichi, intestine, prestomac etc.) prin metode macroscopice și histologice. Pe baza modificărilor constatate a fost întocmit un certificat, referitor la rezultatele examenului anatomo-patologic (anexa 1).

2.2. Modalități de optimizare ale statusului antioxidant la vaci

2.2.1. Utilizarea antioxidantului sintetic Diludină la vaci în perioada de tranziție și primele luni de lactație (experiența „C” și „D”)

Diludina (2,6-dimetil-3,5-dicarbetoxi-1,4-dihidropiridina)- preparat sintetic cu formula chimică $\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{NO}_4$ și masa moleculară – 254, reprezintă o pulbere de culoare galben-verzuie cu miros specific puțin pronunțat, care nu se dizolvă în apă și este puțin solubil în alcool etilic, cloroform, uleiuri vegetale. Conform instrucțiunii de folosire (anexa 3), este recomandat ca stimulator al creșterii la tineret și a productivității la animalele mature. Sub acțiunea lui în organism crește nivelul de tocoferol, scade cantitatea de peroxizi din ficat. Ca antioxidant stabilizează carotenul, vitamina A, D, E, uleiurile vegetale și lipidele.

Materialele din acest capitol includ rezultatele a două experiențe efectuate pe vaci în lactație în perioada anilor 1988-1990. Experiențele s-au desfășurat în gospodăria „Ungheni” și GEP „Colonița” și au cuprins un număr total de 45 animale (tab. 2.2.). Nivelul de productivitate al animalelor varia între 4250 și 4700 kg de lapte în mediu pe lactație. În fiecare caz, vacile

selectate în perioada de repaus mamar sau în lactație, au fost divizate în lotul martor și experimental, și beneficiau de condiții identice de întreținere și nutriție.

Tabelul 2.2. Schema experiențelor cu utilizarea Diludinei la vaci

Experiența	Lotul	Perioada	n	Producția (kg/lactație)	Mențiuni	Indicii testați
“C”	C₁ (mart.)	de la 10-20 până la 140 zile lactație	10	4700	Rație obișnuită	T, P, R; Eritr., Hb, Ht; prot., caroten, Ca, P, RA; DAM, RPE, CAT; (două reprize)
	C₂ (exper.)		10		Rație + <u>Diludină</u> (2,5 g/zi)	
“D”	D₁ (mart.)	60–45 zile a/part. – 60 zile lactație	10	4250	Rație obișnuită	T, P, R; Eritr., Hb, Ht; prot., caroten, Ca, P, RA; DAM, RPLE, CAT; (patru reprize la interval de ≈30 zile)
	D₂ (exper.)		15		Rație + <u>Diludină</u> (2,5 g/zi)	

Nutriția se efectua în conformitate cu normativele existente la moment, ținându-se cont de perioada fiziologică, nivelul productivității al animalelor ș.a. criterii recomandate. Rațiile erau întocmite, reieșind din asortimentul nutrețurilor stocate în gospodărie în perioada respectivă a anului.

Experiența „D” a fost realizată la ferma de bovine a gospodăriei „Ungheni” (X. 1989 - II. 1990). Pentru aceasta s-au selectat 25 de juninci aflate în ultimele luni de gestație care s-au împărțit în două loturi: martor, **D₁** – 10 animale și experimental **D₂** -15 animale.

Junincilor din lotul experimental li s-a administrat zilnic câte 2,5 g Diludină, începând cu 60-45 zile înainte de fătare și pe parcursul a 60-75 zile după fătare. Animalelor din lotul martor, aflate în condiții similare de întreținere, nu li s-a administrat Diludină.

Pe parcursul a patru luni de experiență animalele au fost zilnic supravegheate. S-a evaluat starea generală, prezența poftii de mâncare, specificul actului de defecare și urinare, iar la sfârșitul experienței s-a măsurat temperatura corporală, s-a numărat frecvența pulsului și a mișcărilor respiratorii. În primele luni de lactație a fost urmărită productivitatea individuală prin efectuarea mulșurilor de control.

Pentru testarea acțiunii preparatului de la ambele loturi de animale au fost prelevate probe de sânge din vena jugulară, în patru reprize: la începutul experienței, la 7, 30 și 60 zile după parturiție. În probele de sânge au fost determinați următorii indici morfologici și biochimici: numărul de **eritrocite**, cantitatea de **hemoglobină**, **hematocritul**, **proteinele** totale, **carotenul**, **calciul** total, **fosforul** neorganic, **rezerva alcalină**. Paralel, s-au determinat și câțiva

indici ai sistemului antioxidant: rezistența peroxidică a lipidelor eritrocitare (**RPLE**), activitatea catalazei (**CAT**) și cantitatea de dialdehidă malonică (**DAM**) în plasmă conform descrierilor ce urmează în capitolul 2.6.1..

Experiența „C” a fost desfășurată la ferma de bovine a GEP „Colonița” (X. 1988 - II. 1989). Productivitatea medie anuală a unei vaci din această gospodărie constituia circa 4700 kg de lapte. În experiență au fost incluse 20 de vaci aflate la începutul lactației (10-20 zile după parturiție) împărțite în două loturi numeric egale: **C₁**- martor și **C₂** - experimental. Condițiile de întreținere și nutriție au fost pentru ambele loturi aceleași. Rația era balansată după ingredientii nutritivi de bază și în general, corespundea nivelului de productivitate. Ca și în cazul precedentei experiențe, pe parcursul a 120 zile vacile din lotul experimental au primit suplimentar la rația zilnică câte 2,5 g de diludină, începând cu cea de a 20-ea zi după parturiție, iar în rația vacilor din lotul martor nu a fost inclus produsul studiat.

În timpul cercetărilor toate animalele au fost zilnic supravegheate. În debutul experienței – pe parcursul a 12 zile și la finele ei – timp de patru zile la rând, la toate vacile s-a măsurat temperatura corporală, frecvența pulsului și a mișcărilor respiratorii. Productivitatea animalelor a fost determinată prin efectuarea mulșorilor de control lunare. Paralel cu investigațiile clinice, la începutul și sfârșitul experienței, de la ambele loturi au fost prelevate probe de sânge în care au fost determinați aceiași indici ca și în experiența „D” (tab. 2.2.).

2.2.2. Utilizarea premixului mineralo-vitaminic la vaci în debutul lactației (exp. „F”)

Cercetarea dată, cu durata de 90 de zile, s-a efectuat la ferma de bovine din gospodăria Maximovca, r-l Anenii-Noi (IV-VI, an. 2006), unde au fost formate două loturi a câte 5 vaci, începând cu ziua a 14-a a lactației (tab. 2.3.). La selectarea animalelor a fost luată în considerație: producția de lapte în lactația anterioară, conținutul de grăsime în lapte, vârsta animalelor și starea sănătății.

Pentru desfășurarea experienței a fost elaborată o rețeta de premix mineralo-vitaminic care după conținutul în macro-, microelemente și vitamine, corespundea necesităților biologice a vacilor în perioadă de lactație timpurie. În componența lui au fost incluse următoarele ingrediente: sulfat de cupru -1,06 g, sulfat de zinc -11,3 g, carbonat de cobalt – 100 mg, iodură de potasiu – 70 mg, selenit de sodiu – 45 mg, vitaminele: A – 830 mg, D – 170 mg, E – 1,33 g, aminoacidul metionina – 167 g; bicarbonat de sodiu – 652 g și suport până la 1000 g.

Distribuirea premixului s-a efectuat prin amestecarea lui cu nutrețul combinat în raport de 3% din greutate, care la rândul său, se repartiza individual în dependență de nivelul productivității al animalelor. Nutrețurile voluminoase (fîn, siloz) au fost distribuite în cantități

egale, iar evidența consumului lor s-a efectuat pentru fiecare lot în parte, prin cântărire o dată la 10 zile. Rația se întocmea și se corecta o dată în zece zile luându-se în considerație datele mulsorilor de control care reflectau performanțele productive.

Tabelul 2.3. Schema experienței cu utilizarea premixului la vaci în debutul lactației

Experiența	Lotul	Perioada	n	Producția (kg/zi)	Mențiuni	Indicii testați
„F”	F₁ (mart.)	14-105 zile lactație	5	16	Rație obișnuită	T, P, R; eritr., Hb, Ht, leucoc.; prot., caroten, Ca, P, ASAT, ALAT; AAT, AOT, DAM, HPL; (două reprize)
	F₂ (exper.)	14-105 zile lactație	5	16	Rație + premix MV	

Pentru aprecierea eficienței premixului a fost monitorizată starea clinică și productivitatea animalelor, dinamica indicilor hematologici, profilul metabolic și indicii sistemului antioxidant.

Monitorizarea productivității de lapte se efectua prin mulsorile de control, o dată la 10 zile. Colectarea probelor de sânge s-a efectuat la începutul experienței (14-21 zile după fătare) și peste 45 zile. Probele de sânge s-au prelevat de fiecare dată dimineața, între orele 8 și 9, în eprubete cu anticoagulant (heparină).

În sânge s-au determinat indicii hematologici (**Ht, Hb, eritrocitele și leucocitele**), indicii biochimici (**proteine totale, albumine, calciu, fosfor, ALAT și ASAT**) și indicii care reflectă starea sistemului antioxidant: activitatea antioxidantă totală (**AAT**) în plasmă și în eritrocite, activitatea oxidativă totală (**AOT**) în plasmă, conținutul de hidroxiperoxizi lipidici (**HPL**) și dialdehidul malonic (**DAM**) în plasmă și în eritrocite.

2.3. Modalități de optimizare ale statusului antioxidant la viței și variații de vârstă ale acestuia

2.3.1. Influența oligomineralelor în formă organică și anorganică asupra statusului antioxidant la viței cu vârsta de 2,5 – 6 luni (experiența „G”)

Experiența „G” a fost efectuată la ferma de bovine din gospodăria Maximovca, r-l Anenii-Noi, pe 12 viței de tip Bălțată cu Negru Moldovenesc cu vârstă de 70–73 zile, în lunile aprilie-august (an. 2004). La începutul experienței, animalele au fost examinate clinic, cântărite individual, apoi împărțite în conformitate cu principiul analogiei în două loturi, a câte șase viței (trei tăurași și trei vițele) în fiecare. Experiența a durat 4 luni (până la vârsta de 196 – 198 zile),

perioadă pe parcursul căreia vițeele din ambele loturi au fost hrăniți și întreținuți în condiții similare.

Nutriția vițeelelor s-a efectuat în conformitate cu rațiile elaborate preventiv, structura cărora prevedea folosirea următoarelor sortimente: fân de lucernă, siloz de porumb, masă verde de lucernă, de mazărice-ovăz sau iarbă de sudan; nutreț combinat din uruială de porumb (45 %) și orz (25 %), cu un adaos proteino-mineralo-vitaminic (APMV) (30 %).

În componența APMV pentru lotul martor (**G₁**) s-a inclus mazăre (35 %), tărâțe de grâu (12 %), drojdie furajeră (10 %), macuh floarea soarelui (35 %), fosfat tricalcic (3 %), sare de bucătărie (2 %) și premix P68-2-89 (3 %), care includea vitaminele A, D₃, E și oligomineralele Cu, Zn, Co, Mn și Se sub formă de compuși tradiționali, de săruri neorganice.

Pentru lotul experimental (**G₂**), APMV a fost preparat din aceeași ingrediente cu includerea premixului INZMV (3%) care conținea vitaminele respective și aceleași oligominerale, numai că în formă proteïnă (produsul “Bioplex”).

Aditivul furajer „Bioplex” pentru bovine produs de firma Alltech (SUA) reprezintă o pulbere amorfă de culoare cenușie-gălbui cu miros specific, în componența căreia intră cinci oligoelemente legate cu aminoacizi. Conținutul oligoelementelor din produsul respectiv este următorul: Zn = 0,18 %, Mn = 0,18 %, Cu = 0,025 %, Co = 0,00025 % și Se = 10 ppm. Includerea acestui aditiv în rația animalelor nu prevede perioadă de așteptare.

Astfel, în nutrețul combinat s-a conținut cantitatea de oligominerale, corespunzătoare normelor în vigoare (STAS 68-1-89), recomandate pentru vițeele de vârstă respectivă, însă la lotul **G₁** (martor) acestea s-au folosit în forma anorganică, iar la lotul **G₂** (experimental) - oligominerale proteinate „Bioplex” (tab. 2.4.).

Nutrețurile voluminoase și concentratele au fost disponibile la discreție pentru ambele loturi, cu evidența consumului prin cântărirea acestora dimineața la administrare și a rămășițelor la sfârșitul zilei.

Tabelul 2.4. Schema experienței cu utilizarea produsului “Bioplex” la vițeele

Experiența	Lotul	Perioada (vârsta)	n	Greutatea (kg)	Mențiuni	Indicii testați
„G”	G₁ (mart.)	70-196 zile	6	74	Rație + oligominerale anorganice	T, P, R; Eritr., Hb, Ht, leucoc.; AAT, AOT, DAM, HPL, SOD, CAT, GSH-Px, GR; (patru reprize la interval de ≈30 zile)
	G₂ (exper.)	70-196 zile	6	74	Rație + oligominerale “Bioplex”	

Pe parcursul experienței animalele au fost supravegheate, luându-se în considerație următorii indici: starea generală - monitorizată zilnic, indicii clinici (**T**, **P** și **R**) – apreciați la fiecare 7 zile în prima lună a experienței, consumul de nutrețuri prin cântărirea cantității administrate și a rămășițelor, și surplusul de masă corporală apreciat o dată în lună.

La începutul experienței și peste fiecare 30 – 35 zile (în total de 4 ori), de la cinci animalele au fost prelevate probe de sânge (din vena jugulară) în care s-au determinat indicii hematologici (**Ht**, **Hb**, **eritrocite**, **leucocite**) și indicii-markeri ai statusului antioxidant: activitatea antioxidantă totală (**AAT**) și activitatea oxidativă totală (**AOT**); activitatea superoxide dismutazei (**SOD**), catalazei (**CAT**), glutathion peroxidazei (**GSH-Px**) și glutathion reductazei (**GR**); conținutul de hidroperoxizi lipidici (**HPL**) și conținutul de dialdehidă malonică (**DAM**) în plasmă și eritrocite (capitolul 2.6.1.).

2.3.2. Studiarea statusului antioxidant la viței cu vârsta de 1,5-2 luni și la vaci în prima lactație (experiența „E”)

Cercetările au fost efectuate în condițiile fermei de bovine din c. Colonița, r-l Criuleni, începând cu a doua jumătate a lunii noiembrie (XI-XII, an. 2002), pe un lot de vaci primipare (20 animale) – în lunile 3-4 de lactație cu productivitatea medie de 12 kg de lapte în zi și un lot de viței (16 animale) cu vârsta de 6–8 săptămâni (tab. 2.5.).

Pe parcursul cercetărilor, care s-au desfășurat 30 de zile, la categoriile menționate, s-a studiat dinamica indicilor sistemului antioxidant (**AAT**, **AOT**, **SOD**, **CAT**, **GR**, **GSH**) și a conținutului produselor de peroxidare a lipidelor (**HPL** și **DAM**) în plasmă și în eritrocite, conform metodelor biochimice descrise în continuare (capitolul 2.3.1.). În acest scop, de la loturile respective (**E₁** și **E₂**), în trei reprize, cu interval de 14-15 zile, au fost prelevate probe de sânge cu heparină. De rând, cu monitorizarea zilnică a stării generale, în ziua prelevării probelor de sânge, animalele au fost supuse examenului clinic prin aprecierea temperaturii corporale (**T**, °C), a frecvenței pulsului (**P**, contr./min) și respirației (**R**, mișc./min).

Tabelul 2.5. Schema experienței privind statusul antioxidant la vaci și viței

Experiența	Lotul	Specificare	n	Producția	Mențiuni	Indicii testați
„E”	E₁	Juninci la 3-4 luni lactație	20	12 kg/zi	-----	T, P, R; eritr., Hb, Ht; AAT, AOT, DAM, HPL, SOD, CAT, GSH, GR (trei reprize la interval de 14-15 zile)
	E₂	Viței de 6-8 săptăm.	16	-----	greutatea 53-58 kg	

De menționat, că în perioada investigațiilor animalele au fost expuse influenței unor condiții meteorologice, mai puțin favorabile din punct de vedere ale confortului termic, exprimate prin răcirea timpului până la temperaturi diurne negative de minus 2-3 °C. Perioada respectivă s-a menținut aproximativ pe parcursul a doua săptămâni și a coincis calendaristic cu momentul cercetării a doua, după care a survenit o ușoară încălzire a timpului, cu valori diurne pozitive (puțin peste 0°C), la momentul investigației a treia.

Un al doilea factor de care trebuie ținut cont, este acela că la momentul cercetărilor, gospodăria nu dispunea de sortimentul necesar de nutrețuri prin care să se asigure aprovizionarea animalelor cu rații complete, în special a vacilor, dar care pe parcurs au fost parțial înlăturate.

2.4. Metodele de cercetare și analiză statistică

- **Metodele utilizate pentru determinarea indicilor statusului antioxidant**

Cercetările biochimice, efectuate în vederea testării indicilor statusului antioxidant, sau realizat parțial în laboratorul catedrei de Terapie a Facultății de Medicină Veterinară (anii 1988 - 1990) și în Laboratorul Centrului de Cercetări Științifice a USMF „N. Testemițanu” (anii 2002, 2004, 2006), prin metodele descrise în continuare.

a) Determinarea activității antioxidante totale (AAT) a plasmei și eritrocitelor [47]

Metoda se bazează pe aprecierea gradului de inhibiție a procesului de oxidare a substratului twin-80 până la formare de DAM, prin inducere cu ascorbat și ioni de fier.

Reagenți: sol.1% de twin-80, soluție 1mM de sulfat de fier, soluție 10 mM de acid ascorbic, sol. 40% acid tricloracetic (ATCA), sol. 0,25 % de acid tiobarbituric (ATB).

În două eprubete cu dop ermetic se introduc câte 2 ml sol. de twin-80, 0,2 ml sol. de sulfat de fier, 0,2 ml sol. acid ascorbic. În prima eprubetă (proba experimentală) se adaugă 0,1 ml hemolizat (0,1 ml eritrocite spălate și 0,9 ml apă distilată), sau 0,2 ml plasmă sanguină, iar în eprubeta a doua (proba martor) – aceiași cantitate de apă distilată. Probele se incubează la 40 °C pentru 48 ore, apoi la 2 ml de amestec se adaugă 1 ml ATCA și peste 60 min se centrifughează la 8000 rot./min timp de 15 min. După aceasta se ia 1ml supernatant la care se adaugă 2 ml ATB și se expune fierberii 15 min. Probele se fotometrează la 532 nm față de apa distilată.

b) Determinarea activității oxidative totale (AOT) în plasma sanguină [34]

AOT a plasmei se determină după cantitatea de DAM acumulată în procesul de peroxidare într-un sistem-model; în calitate de substrat se folosește twin-80, iar în calitate de inițiator – plasma sanguină. Reagenți: sol. twin-80 1%, sol. 40% acid tricloracetic (ATCA), sol.0,25 % acid tiobarbituric (ATB).

În două eprubete cu căpăcele ermetice se introduc câte 2 ml sol. 1 % twin-80. În prima eprubetă (proba experimentală) se adaugă 0,2 ml plasmă sanguină, iar în a doua (proba martor) 0,2 ml apă distilată. După incubare la temperatura 40 °C timp de 48 ore în ambele probe se adaugă câte 1ml sol.40 % ATCA și se lasă la temperatura camerei 60 min. Se centrifughează 15 min la 8000 rot/min, apoi 2 ml supernatant se amestecă cu 2 ml sol.0,25 % ATB și se expun 15 min la temperatură de 100 °C . În aceste condiții ATB reacționează cu DAM formând un complex trimetinic de culoare roz. Probele se răcesc, apoi se măsoară densitatea optică la 532 nm față de apa distilată.

c) Determinarea rezistenței peroxidice a eritrocitelor (RPE) [121]

Metoda se bazează pe principiul incubării suspensiei de eritrocite în soluție tampon-fosfat, pH – 7,4 timp de 4 ore la temperatura de 37°C, după ce, probele se fotometrează și rezultatul se exprimă în % de hemoliză.

Reagenți: soluție-tampon cu pH–7,4 se prepară prin dizolvarea a 136 g $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ și 30g NaOH la 1 litru de apă distilată; soluție de clorură de sodiu (170g de NaCl la 1 litru de apă distilată). Soluția pentru incubare se obține prin amestecarea a 50 ml de soluție-tampon cu 50 ml soluție de NaCl și adăugarea de apă distilată până la volumul de 1 litru. Înainte de utilizare această soluție se agită timp de 1-2 min pentru saturație cu oxigen.

Într-o eprubetă conică se introduc 7,5 ml de soluție pentru incubare și 0,1 ml de sânge, proba se agită ușor apoi se centrifughează 10 min la viteza 500 rot./min. Supernatantul se înlătură, iar sedimentul eritocitar se resuspendează cu 7,5 ml de soluție pentru incubare. Câte 1 ml de suspensie eritocitară se adaugă în două eprubete: prima eprubetă (proba experimentală) conține 4 ml de soluție de incubare, iar în a doua eprubetă se adaugă 4 ml de apă distilată. Aceasta servește drept probă de control (100% hemoliză). Toate probele se incubează la 37°C timp de 4 ore.

După incubare probele se centrifughează 10 min la 500 rot./min. Extincția supernatantului se măsoară la 540 nm, în cuva cu grosimea de 1cm. După formula de mai jos se apreciază procentul de hemoliză: $(E_1 + E_2) \times 100 / 2 \times E_{\text{contr.}} = \% \text{ de hemoliză}$.

d) Determinarea rezistenței peroxidice a lipidelor eritocitare (RPLE) [20]

Metoda se bazează pe incubarea suspensiei de eritrocite în soluție de 1% peroxid de hidrogen (H_2O_2) și determinarea ulterioară a produselor de peroxidare acumulate, prin testul cu acid tiobarbituric (ATB). Într-o eprubetă conică, gradată se măsoară 0,5 ml de sânge cu anticoagulant (heparină sau EDTA) la care se adaugă 5 ml de soluție de 0,9 % de NaCl. Amestecul se agită, se centrifughează 8-10 min la 800-1200 rotații/min. Supernatantul se înlătură cu ajutorul unei micropompe, iar stratul de eritrocite se spală în același mod încă de două ori.

După a treia spălare la sedimentul eritrocitar se adaugă soluție 0,9 % de NaCl până la atingerea volumului total de 2 ml. Acest amestec se suplimentează cu 2 ml soluție 1% H_2O_2 , se agită și se incubează 2 ore la $t=37^0\text{ C}$. După incubare în probă se adaugă 2 ml soluție 10 % de acid tricloracetic, se amestecă cu bagheta de sticlă și se centrifughează 10-12 min la 2500-3000 rotații/min. Se toarnă 2 ml supernatant în altă eprubetă, se adaugă 2,5 ml soluție 0,67 % ATB și se apoi se incubează 15 min într-o baie clocotindă. După expirarea timpului de incubare eprubetele se răcesc, soluția se fotometrează la 535 nm, față de proba cu soluție de peroxid de hidrogen. Rezultatul se calculează prin înmulțirea densității optice obținute la coeficientul 1000 și se exprimă în unități convenționale (u.c.).

e) Determinarea hidroperoxizilor lipidici (HPL) [34]

Reagenți: heptan, izopropanol, acid clorhidric (HCl) pH=2,0 . Se pregătește amestec din heptan și izopropanol în raport de 2:1. La 6 ml amestec se adaugă 0,2 ml plasmă sanguină și se agită 15min după care la probă se adaugă 1ml HCl agitându-se intensiv. După separarea fazelor se preia stratul de heptan și se fotometrează la 233 nm față de proba control care în loc de plasmă conține apă distilată.

f) Determinarea cantității de dialdehidă malonică (DAM), după [17]

Metoda se bazează pe capacitatea DAM de a interacționa cu două molecule de acid tiobarbituric (ATB), formând un compus colorat. La 3 ml acid fosforic (H_3PO_4) de 1% (pH 1,15 – 1,45) se adaugă 1 ml soluție de 0,8% de ATB și 0,2 ml ser sanguin. Proba se incubează timp de 45 min în baia de apă la temperatura de 99-100°C. Se scoate din baie și se răcește până la temperatura camerei. În eprubetă se adaugă 5 ml n-butanol, se agită și se centrifughează 15 min la 3000 rot./min. Extractul de n-butanol se colorimetrează la 535 și 580 nm.

Conținutul de **DAM** se calculează după formula: $C = 0,81 + 106 \times \Delta E$, unde C – concentrația de DAM în nmol/ml ser, ΔE – indicele de extincție ($\Delta E = E_{535} - E_{580}$).

g) Determinarea activității superoxid dismutazei (SOD) [33]

Principiul metodei se bazează pe inhibiția procesului de reducere a sării de tetrazolium nitroblue (NBT) în sistemul ce conține fenazinmetasulfat și NADH_2 sub acțiunea SOD. În urma reducerii NBT se formează nitroformazan care are o colorație albastră intensitatea căreia este proporțională cantității de NTB redus.

Prelucrarea preliminară a serului sanguin: la 0,1 ml ser se adaugă 0,03ml etanol, 0,015 ml cloroform (sau 0,045ml amestec etanol:cloroform 2:1) și 30 mg KH_2PO_4 cristalic, se amestecă minuțios cu bagheta de sticlă în decurs de 10-15 min apoi se centrifughează 15 min la 1000 rot./min (4^0C); supernatantul obținut trebuie să fie transparent și incolor.

Prelucrarea preliminară a eritrocitelor: eritrocitele sunt spălate cu soluție fiziologică (0,9% NaCl) prin centrifugări repetate, apoi la 0,1 ml eritrocite anterior hemolizate și diluate de 10 ori cu soluție tampon Tris-HCl 5,0 mmol (pH 7,4) se adaugă 0,05 ml etanol și 0,015 ml cloroform (sau 0,04 ml amestec etanol:cloroform 5:3). Prelucrarea ulterioară este aceeași ca și la probele de ser sanguin.

În microcuvele fotometrice ale analizorului biochimic „FP-901” se măsoară 0,1ml supernatant incolor și transparent la care se adaugă 0,4 ml mediu de incubație compus din 0,033 mmol EDTA, 0,41 mmol NBT și 0,01 mmol FMS în soluție tampon fosfat 0,1M cu pH 7,8. Se măsoară densitatea optică inițială E_0 la 540 nm. Reacția de reducere a NBT se inițiază prin adăugarea a 0,05 ml soluție 0,8 mmol NADH₂. Mediul de reacție se incubează timp de 5 min la t-37°C. După expirarea timpului fixat se înregistrează densitatea optică (E_1) și se determină diferența dintre valorile densității optice înregistrate la prima și la cea de-a doua măsurare ($\Delta E_{exp} = E_1 - E_0$). Cu proba martor se operează în mod similar, însă ea nu conține materialul biologic, deci este lipsită de enzimă, și aici nu are loc inhibiția procesului de reducere a NBT. Activitatea enzimei se exprimă în unități convenționale. În calitate de unitate a activității SOD se ia cantitatea de enzimă necesară pentru inhibiția cu 50 % a reacției de reducere a NBT. Activitatea enzimei se raportează la 1ml de ser, la 1g de proteină sau la 1g de hemoglobină.

h) Determinarea activității catalazei (CAT) [26]

Principiul metodei se bazează pe capacitatea peroxidului de hidrogen (H₂O₂) de a forma un compus color stabil cu molibdatul de amoniu. La 2 ml de soluție de peroxid de hidrogen de 0,03% se adaugă 0,1 ml de ser sangvin. În proba de control la soluția de peroxid de hidrogen se adaugă 0,1 ml de apă distilată. Reacția se stopează peste 10 min prin adăugarea a 1ml soluție 4,0% de molibdat de amoniu, iar în control se adaugă 2 ml de apă distilată. Intensitatea colorării se apreciază la 410 nm față de proba de control.

Activitatea catalazei în eritrocite a fost determinată prin aceeași metodă, după separarea prealabilă a eritrocitelor de plasma sanguină și obținerea unui hemolizat în raport de 1 : 200. Activitatea enzimei se exprimă în nmol/1 ml suspensie eritrocitară.

i) Determinarea activității glutathion reductazei (GR) [15]

Principiul metodei se bazează pe capacitatea GR de a cataliza reacția de reducere a glutathionului oxidat în prezența NADPH₂. Scăderea cantității de NADPH₂ se determină spectrofotometric la 340 nm.

Reactive și utilaje: sol. tampon fosfat 0,05M pH6,6 ce conține 1mmol acid etilen diamintetraacetic (EDTA) (373 mg EDTA la 100 ml soluție-tampon), sol 1,6 mmol NADPH₂

(8mg de NADPH₂ se dizolvă în 10 ml sol. 1 % NaHCO₃), sol. 7,5 mmol glutation oxidat (3 mg glutation se dizolvă în 10ml apă distilată), analizor biochimic.

În microcuvele fotometrice se introduc 0,05 ml material de cercetat (ser sanguin, hemolizat) la care se adaugă 0,55 ml soluție-tampon fosfat 0,05M pH 6,6 ce conține 1 mmol EDTA și 1,5 ml sol. 1,6 mmol NADPH₂. Reacția se declanșează prin suplimentarea a 0,05 ml sol. 7,5 mmol glutation oxidat. După 30 s se înregistrează scăderea densității optice în decurs de 1min la lungimea de undă de 340 nm utilizând programul „măsurarea cinetică cu coeficient” al analizorului. Activitatea enzimei se calculează reieșind din coeficientul molar de extincție a piridinnucleotidelor (la t=37 °C și $\lambda = 340$ nm, $\epsilon = 6\text{mmol} \cdot \text{cm}^{-1}$ sau $\epsilon = 5,66 \mu\text{mol} \cdot \text{cm}^2$). Activitatea enzimei se exprimă în nmol de NADPH₂ oxidat timp de 1s la 1g de țesut (nmol/s·g) sau la 1l ser (nmol/s·l).

j) Determinarea activității glutation peroxidazei (GSH-Px) [38]

Activitatea GSH-Px se determină după viteza de oxidare a glutationului redus până și după inoculare. La baza reacției cromatice se află interacțiunea grupelor SH cu acidul 5,5 – ditiobis (2-nitrobenzenic) (DTNB) cu formarea produsului colorat – anionul tionitrofenol (TNFA). Cantitatea acestuia este direct proporțională cu numărul de SH grupe, care au reacționat cu DTNB. Activitatea GSH-Px este exprimată în micromol (μmol) ai substratului pe minută la 1g de hemoglobină.

k) Determinarea conținutului de glutation redus (GSH) [36]

Principiul metodei se bazează pe proprietatea glutationului de a reacționa cu 5,5’– ditiobis (2-nitrobenzoatul) (DTNBC) cu formarea unui produs colorat în prezența NADPH₂ și glutation reductazei (GR). Densitatea optică a probei se măsoară la 405 nm la interval de 5 min, calculându-se $\Delta\text{DO} = \text{DO}_2 - \text{DO}_1$. Calculul se efectuează după curba de calibrare obținută prin diluții consecutive ale soluției standard de glutation. Cantitatea de glutation se exprimă în $\mu\text{mol/l}$.

• Metodele utilizate pentru analize hematologice și determinarea profilului metabolic

În probele recoltate pe parcursul cercetărilor, s-au determinat următorii indici hematologici: **numărul de eritrocite** – prin metoda fotocolorimetrică (cu soluție de clorură de sodiu 3,5 %), **cantitatea de hemoglobină** – prin metoda fotocolorimetrică (reactiv Drabchin) și **indicele hematocritului** – prin microcentrifugare, **numărul de leucocite** – prin numărare în camera Gorjaev. Determinarea indicilor hematologici menționați s-a efectuat în laboratorul catedrei de Terapie și la Centrul Republican de Diagnostic Veterinar.

Profilul metabolic s-a determinat prin dozarea în plasmă sau ser sanguin a conținutului de **caroten**, **calciu total**, **fosfor neorganic**, **proteine totale**, **albumine**, **glucoză**, **activitatea ASAT**,

ALAT și rezerva alcalină – prin metode standardizate efectuate în laboratoarele veterinare raionale (r-l Criuleni și Ungheni) și în laboratorul catedrei de „Terapie”, FMV, cu ajutorul analizatorului biochimic semiautomat (Stat FAX 1904), utilizând chituri standarde de reagenți (*Elithech, France*).

- **Analiza statistică** a fost realizată prin utilizarea programului Excel cu aprecierea următorilor parametri: **M** – media aritmetică, **m** – deviația standard, **lim** – limitele variațiilor individuale, **p** – criteriul indicelui de autenticitate și **r** – coeficientul de corelație.

2.5. Concluzii la capitolul 2

1. Din punct de vedere metodologic studiul are un caracter complex, cu implicarea a mai multor loturi de vaci și viței, în vederea evaluării particularităților de vârstă ale statusului antioxidant, identificării factorilor de risc în apariția stresului oxidativ și aprecierii modalităților de prevenire a acestuia.

2. Metodele folosite în cercetare au inclus monitorizarea condițiilor de întreținere, nutriție și exploatare, examenul clinic al animalelor, analiza probelor de urină și de sânge, în vederea supravegherii profilului metabolic, fapt care a asigurat posibilitatea evaluării multilaterale a stării de sănătate a animalelor și aprecierea factorilor care puteau să influențeze statusul antioxidant.

3. Dozarea unui spectru larg de markeri pro- și antioxidativi (**RPE, AAT, AOT, SOD, CAT, GR, GSH-Px, GSH, HPL și DAM**) în plasmă și eritrocite, a asigurat în bună măsură, evaluarea capacității funcțional-adaptive a statusului antioxidant la vaci și viței în diferite perioade fiziologice, sau în condiții de suprasolicitare.

4. Ținând cont, că metodele de dozare a indicilor SAO erau actualizate în continuu, pentru realizarea cercetărilor au fost selectate acele variante, care erau adecvate sarcinilor propuse și accesibile pentru condițiile noastre.

3. STRESUL OXIDATIV LA VACI SĂNĂTOASE ȘI LA VACI BOLNAVE DE CETOZĂ

Perioada de tranziție pentru vacile de lapte, care începe cu trei săptămâni înainte și se termină cu trei săptămâni după parturiție [108], este una critică pentru sănătatea, productivitatea cât și profitabilitatea acestora. În această perioadă se declanșează un șir de patologii care afectează sănătatea animalelor primele dintre care sunt parezia de parturiție, cetoza, distrofia grasă a ficatului, retenția placentară, metritele, dislocarea abomazului ș.a.; incidența majoră a cărora se plasează disproporțional anume în această perioadă relativ scurtă [92]. După părerea autorilor [104], tranziția de la starea de repaus mamar (gestație), urmată de parturiție și debutul lactației, poate fi o experiență dezastruoasă pentru animale, de aceea este nevoie de a lărgi cunoștințele referitor la factorii care favorizează incidența înaltă a maladiilor la vaci în perioada periparturientă.

Reieșind din importanța menționărilor de mai sus, sarcina propusă a fost aprecierea stării de sănătate a vacilor în perioada de tranziție după criterii clinice, prin evaluarea dinamicii eritronului și a statusului antioxidant, și elucidarea factorilor care favorizează diminuarea funcției protective a sistemului antioxidant.

Cercetările au fost efectuate în două efective de animale, din diferite unități economice. Din primul efectiv au fost selectate 10 vaci (lotul **A**) care, în perioada respectivă de monitorizare, au fost sănătoase și au constituit lotul de referință. Din cel de-al doilea efectiv, în care s-a constatat îmbolnăvirea vacilor de cetoză, au fost cercetate 39 de animale divizate în: lotul **B₁** cu 22 vaci la începutul lactației (7-14 zile); lotul **B₂** – 10 vaci-recordiste cu productivitatea de peste 25 kg/zi la 30-60 zile de lactație și lotul **B₃** cu 7 vaci la 60-90 zile de lactație, grav bolnave în stare de cașexie.

Pe parcursul cercetărilor, de rând cu determinarea indicilor sistemului antioxidant (**RPE**, **CAT** și **DAM**) și a indicilor eritronului, s-a efectuat examenul clinic, înregistrarea ECG-ului, analiza probelor de urină și examenul anatomo-patologic, la o parte din animale.

3.1. Starea clinică, analiza probelor de urină și examenul anatomo-patologic

Investigațiile clinice efectuate pe vacile din lotul **A**, aflate în repaus mamar, au arătat că în perioada respectivă animalele manifestau temperament vii, consumau cu poftă nutrețurile incluse în rație, aveau stare de întreținere bună sau foarte bună, iar unele dintre ele erau supraponderale (grase). În ultimele săptămâni de gestație vacile au devenit mai apatice, mișcându-se mai lent și adoptând mai frecvent decubit sterno-abdominal; a scăzut consumul de nutrețuri.

La examenul fizic s-a constatat conjunctiva și mucoasele aparente umede, de culoare roz-pală, iar mucoasa vaginală de culoare roz, edemațiată. La determinarea indicilor clinici s-a constatat tahicardie și tahipnee moderată, caracteristice perioadei de gestație avansată; temperatura corporală s-a aflat în limitele fiziologice.

În perioada de după fătare starea generală a vacilor (lotul **A**) s-a modificat, observându-se diminuarea poftei de mâncare sau apetit selectiv. Restabilirea parțială a apetitului, la vacile cu fătări normale s-a produs în 3-5 zile, iar la cele cu parturiții mai dificile – după 7-10 zile. Restabilirea deplină a apetitului și creșterea consumului necesar de nutrețuri s-a observat peste 3-4 săptămâni.

Pe parcursul a 2-3 săptămâni după parturiție la toate vacile s-a constatat slăbirea corporală mai mult sau mai puțin accentuată. La majoritatea animalelor aceasta s-a exprimat prin stare de întreținere satisfăcătoare, iar la câteva – nesatisfăcătoare, dar fără consecințe grave asupra stării de sănătate și productivității. Productivitatea vacilor din lotul **A** a constituit, în mediu, cca 16 kg/zi în prima lună a lactației, consemnată cu o ușoară creștere în cea de a doua.

Tabelul 3.1. Dinamica indicilor clinici la vaci în perioada de tranziție

Lotul	n	Perioada lactației	Indicii clinici		
			T (°C)	P (contr./min)	R (mișc./min)
			M ± m /(lim)	M ± m /(lim)	M ± m /(lim)
A (sănătoase)	9	18-21 zile	38,88 ± 0,07 (38,5-39,1)	76,6 ± 2,82 (69-93)	24,6 ± 2,65 (17-36)
			xx	xx	$p_{A-B1} < 0,001$
B₁ (cetoză)	22	14-20 zile	38,92 ± 0,06 (38,3-39,4)	77,4 ± 1,35 (64-96)	51,1 ± 1,98 (40-78)
			xx	xx	$p_{A-B2} < 0,01$
B₂ (cetoză)	9	30-60 zile	39,08 ± 0,17 (38,6-39,3)	83,0 ± 2,63 (70-96)	36,1 ± 2,85 (25-49)
			xx	xx	$p_{B1-B2} < 0,001$

Din tabelul 3.1., în care sunt prezentați indicii clinici (**T**, **P** și **R**) determinați la 2-3 săptămâni de la fătare (lotul **A**), se vede că mediile acestora, nu depășesc limitele fiziologice, fiind egale cu 38,8 °C, 76,6 contr./min și 24,6 mișc./min, respectiv. La un singur animal din acest lot (nr. 356), s-a constatat o depășire a frecvenței pulsului și respirației peste maximele de referință (93/min și 36/min respectiv).

După încheierea perioadei de tranziție (3 săptămâni de la parturiție) starea clinică și starea de întreținere a vacilor pe parcursul supravegherii s-a menținut satisfăcătoare, ele manifestau apetit stabil, consumul de nutrețuri decurgea energic, cu poftă, comportamentul fiind la

majoritatea animalelor vii, adecvat circumstanțelor. Probele de urină colectate de la 9 vaci din acest lot și testate la prezența corpurilor cetonice și a proteinelor au fost negative (tab. 3.2.).

La examenul clinic al vacilor din lotul **B₁** (n=22), aflate în perioada de postparturiție, s-a constatat, că temperatura corporală și frecvența pulsului erau în limitele fiziologice cu valori medii de 38,91°C și 77,4 contr./min, respectiv, iar frecvența respirației la toate animalele depășea limita superioară de referință, media pe lot, fiind de 51,1 mișc./min. Variațiile individuale ale frecvenței pulsului în acest lot se aflau între 64-96 contr./min, iar a respirației între 40-78 misc./min. Totodată, la circa 14% din animalele cercetate s-a constatat frecvență cardiacă de peste 80 contr./min, iar la circa 50% - tahipnee cu valori de peste 50 mișc./min (tab. 3.1.).

Și la vacile din lotul **B₁** s-a constatat scăderea greutateii corporale manifestată prin slăbire corporală, evidentă în primele săptămâni după parturiție. Din cele 22 de animale cercetate clinic numai cinci dintre ele aveau stare de întreținere bună, altele opt – stare de întreținere satisfăcătoare, iar celelalte nouă – stare de întreținere nesatisfăcătoare (40%). La inspecția mucoaselor aparente s-a constatat: conjunctiva de culoare roz-pală în 11 cazuri, culoare pală (anemică) – în patru cazuri, pală-icterică – în patru cazuri și congestionată – la trei dintre cele 22 de vaci. Mucoasa gingivală la majoritatea animalelor cercetate avea culoare pală, iar la opt dintre ele capilarele mucoasei erau injectate (27%). La patru dintre animalele cercetate s-a constatat clătinarea dinților, iar în opt cazuri - afecțiuni podale. În probele de urină colectate de la 10 animale din lotul **B₁** s-au depistat două probe cu cetonurie marcată convențional prin trei plusuri („+++”) și opt probe (80%) marcate cu patru plusuri („++++”) (tab. 3.2.).

Tabelul 3.2. Analiza probelor de urină

Lotul	n	Proteine	Corpi cetonici			
			+	++	+++	++++
A (sănătoase)	9	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ
B₁ (cetoză)	12	negativ	_____	_____	2 probe	8 probe
B₂ (cetoză)	10	negativ	_____	_____	_____	10 probe

La animalele cu productivitate de peste 25 kg/zi (lotul **B₂**) slăbirea corporală devenise deosebit de accentuată, exprimată prin stare de întreținere nesatisfăcătoare. La aceste vaci s-au constatat și modificări de comportament: arătau mai abătute, indifferente, cu reacție întârziată la factorii mediului, apetitul diminuat etc.. Unele animale puteau fi surprinse cu capul sprijinit de iesle sau alte obiecte din jur. La majoritatea vacilor, din acest lot, s-a constatat înmuierea ultimilor vertebre caudale. Conjunctiva și mucoasele aparente aveau nuanță anemică pronunțată,

iar la unele și nuanță icterică. La o parte din vaci aerul expirat avea miros dulceag de acetona. În timpul mulsului, la unele, s-a constatat apariția de sânge în ultimile porții de lapte. Dinamica productivității după primele 4-5 săptămâni de lactație s-a exprimat prin tendință de scădere.

La examinarea clinică a vacilor din lotul **B₂** s-a constatat, că media temperaturii corporale se afla în limitele fiziologice (38,94 °C), iar frecvența pulsului și a respirației depășea limita superioară de referință, exprimându-se prin medii de 81,8/min și 36,1/min, respectiv (tab. 3.1.). La 75% de animale din acest lot s-a constatat o ușoară depășire a frecvenței pulsului și a respirației peste valorile de 80/min și 30/min respectiv, iar la 37,5% și respectiv la 50% din animale valorile acestor indici au trecut de 85/min și 40/min. La examenul probelor de urină, la toate animalele din acest lot s-a constatat cetonurie pronunțată marcată convențional prin „++++” (tab. 3.2.).

Animalele din lotul **B₃**, care se aflau într-o perioadă a lactației (tab. 2.1.) mai avansată decât cele din lotul **B₂**, aveau stare de întreținere nesatisfăcătoare exprimată prin slăbire corporală foarte accentuată, care a atins proporții egalabile cu iepuizarea totală (marasm). În aceeași măsură s-a diminuat și nivelul productivității. La majoritatea animalelor din acest lot, s-a înregistrat scăderea evidentă a apetitului, hipotonia prestomacelor, conjunctiva și mucoasele aparente pronunțat anemice, iar la unele cu nuanță cianotică. Animalele din acest lot, având o stare generală gravă, devenise totalmente apatice, preferau decubitul sterno-abdominal, iar la eforturi minore manifestau dispnee și tahicardie intensă. La ele au fost observate hematoame subcutanate și hemartroze, apărute în urma unor traume neînsemnate. Din cauza cașexiei avansate, a stării generale nesatisfăcătoare și scăderii productivității cinci animale din acest lot au fost trecute la rebut și sacrificate.

Examenului morfo-patologic au fost supuse 5 vaci din lotul B₃ cu starea de sănătate precară, exprimată prin inaniție și prăbușirea curbei de productivitate după primele luni de lactație. Sacrificarea acestora s-a efectuat la abator în prezența unei comisii de experți în domeniu. Conform certificatului întocmit de comisie, la examinarea prealabilă a animalelor s-a constatat starea de întreținere nesatisfăcătoare și mucoase aparente anemice.

La examinarea carcaselor și organelor interne s-a constatat:

- grăsimea din jurul rinichilor și a cordului de culoare galbenă (ca lămâia) și consistență cazeinică – steatită;
- prezența de hemoragii pe epiploon;
- cordul mărit în volum din contul ventricolului drept, miocardul de consistență moale;
- ficatul mărit în volum (într-un caz până la 12 kg), de consistență moale, culoare neuniformă;
- rinichii măriți în volum de consistență moale cu hotarul dintre zona corticală și centrală nepronunțată, zona corticală mărită;
- mucoasa

ruminală cu sectoare de paracheratoză; - în abomaz s-au constatat modificări de tipul inflamației catarale.

La examenul histologic a probelor de organe s-au constatat următoarele modificări:

- în ficat distrofie granulară a hepatocitelor, un caz cu distrofie grasă, edemațiunea țesutului interstițial (posibil din cauza insuficienței cardiovasculare); - în rinichi distrofie granulară a epiteliului tubular, la două animale s-a constatat glomerulonefrită seroasă; - în cord – distrofia miocardului; - în splină – hiperplazie a parenchimului (două cazuri).

Pe baza modificărilor morfologice și histologice constatate s-a făcut concluzia, că animalele cercetate au avut de suferit în urma unor tulburări grave ale metabolismului proteic, lipidic și glucidic, exprimate prin transformări de ordin, preponderent, distrofice ale organelor vitale, care au fost condiționate de dezechilibrul raportului zahăr/proteine din rație, carența de fibră brută, de vitamine A, E, C și aminoacizi cu grupe sulfhidrice, pe fundalul autointoxicației parvenită din partea tractului digestiv (anexa 1.).

• Astfel, **rezultatele cercetărilor clinice** au arătat, că vacile gestante, aflate în perioada de repaus mamar (lotul **A**), erau sănătoase și aveau stare de întreținere bună, sau foarte bună. La ele a fost constatată accelerarea moderată a frecvenței cardiace și a respirației - considerate pentru perioada de gestație avansată ca modificări fiziologice [6]. Tot înainte de parturiție, la vaci s-a observat diminuarea apetitului – fenomen ce poate fi explicat, prin reducerea în volum a rumenului, din cauza avansării în greutate a fătului, care ocupă o bună parte din cavitatea abdominală. De aceea volumul rumenului, în această perioadă, poate fi micșorat cu circa o treime față de cel normal [104].

Inapetența poate fi cauzată, totodată, de restructurările neuroendocrine, în special de hiperestrogenism [4, 104] specific perioadei antepartum. Nu este exclusă reducerea capacității de consum pe fonul hipocalcemiei [104], cât și în cazul acidozei ruminale subclinice [148].

Observațiile efectuate asupra animalelor în primele săptămâni după parturiție au permis constatarea modificărilor de comportament și a stării generale la loturile **A** și **B₁**. S-a observat, că inapetență „fiziologică”, care a început cu câteva zile înainte de parturiție, a persistat și în primele zile după fătare, iar la unele animale a avut să continue și pe parcursul următoarelor săptămâni.

După părerea unor autori, restabilirea deplină a apetitului și a consumului voluntar necesar, se produce abea în săptămâna a 10-a după parturiție, astfel că, în această perioadă se menține discrepanța dintre intensificarea producției de lapte și dinamica consumului voluntar [4]. Din acest context, reiese că cantitatea de energie necesară pentru menținerea metabolismului

tisular și a producției de lapte depășește cantitatea de energie pe care vacile o pot obține din nutrețurile ingerate [104]. Un factor limitativ în obținerea energiei din rație în această perioadă îl constituie și abilitatea redusă a rumenului de a produce și absorbi AGV, în special propionatul [104, 148].

Aflându-se, într-un deficit energetic, cu atât mai pronunțat, cu cât capacitatea productivă este mai mare, vacile sunt nevoite să utilizeze lipidele corporale drept sursă de energie [104]. Fiind un mecanism eficient de acoperire a deficitului energetic, lipomobilizarea este cu atât mai accentuată, cu cât organismul dispune de rezerve lipidice mai importante din perioada repausului mamar [4].

În cazul cercetărilor efectuate de noi, s-a stabilit, că inapetența „fiziologică” pe de o parte și lipomobilizarea pe de altă parte, au avut impact negativ asupra stării fizice a vacilor, manifestându-se prin slăbirea lor corporală chiar din primele zile după fătare, cu progresarea acestui fenomen în următoarele săptămâni. Scăderea masei corporale a fost mai substanțială la vacile din loturile **B₁**, **B₂** și **B₃** care făceau parte dintr-un efectiv cu o productivitate sporită (25 kg/zi), comparativ cu lotul **A** (16 kg/zi). Acest fapt este confirmat prin aceea, că circa 40 % din animalele lotului **B₁**, care se aflau doar la două săptămâni de la fătare, aveau de acum, stare de întreținere nesatisfăcătoare. În afară de aceasta, la ele s-a stabilit cetonurie de diferite grade, care este expresia, unei cetoze clinice, sau cel puțin subclinice, caracterizată prin incidența sa majoră în perioada de la 10 zile până la trei săptămâni după parturiție [104] pe fundalul mobilizării lipidelor corporale [4] și, totodată, a infiltrării lipidice a hepatocitelor [93, 95].

Slăbirea fizică accentuată s-a dovedit a fi prezentă în 100 % de cazuri la vacile-recordiste din lotul **B₂** (>25 kg/zi). La ele, paralel cu slăbirea corporală substanțială au fost semnalate și alte simptome clinice cum este tahicardia trecută de 80 contr./min în 75 % de cazuri, tahipnea trecută de 40 mișc./min în 50 % de cazuri, paliditatea conjunctivei și a mucoaselor aparente, osteomalacie și **cetonurie pronunțată** la toate animalele din acest lot. Simptomele constatate sunt dovadă, că starea de sănătate a vacilor după prima lună de lactație a avut de suferit, din cauza lipomobilizării avansate, care s-a soldat cu hipercetonemie (confirmată prin cetonurie) și semne de anemie pasageră.

O situație și mai critică a fost constatată la vacile din lotul **B₃**, care se aflau într-o perioadă mai avansată a lactației (2-3 luni), decât celelalte două loturi. Starea lor generală era deosebit de gravă: animalele devenise apatice, preferau decubitul sterno-abdominal, manifestau dispnee și tahicardie intensă chiar la eforturi neînsemnate, iar cașexia avansată și scăderea catastrofală a producției de lapte mărturisesc despre epuizarea totală a animalelor. Aceste simptome au fost, „de facto”, consecința tulburărilor metabolice, menționate, dar deja într-o

fază mai avansată și a unor organopatii severe instalate pe parcurs. Examenul morfopatologic și histologic a confirmat ulterior prezența modificărilor distrofice grave în organele vitale (cord, ficat, rinichi), care sunt dovadă a dereglărilor metabolismului proteic, lipidic și glucidic la nivel tisular (anexa 1.).

Modificările clinice constatate la loturile **B₁**, **B₂** și **B₃**, după părerea noastră, fac parte din așa-zisul „sindrom de mobilizare a lipidelor” la vaci. După [4], slăbirea vacilor după parturiție, uneori impresionantă, este una din manifestările caracteristice ale acestui sindrom, la care se adaugă tendința animalelor la decubit și indicii unei cetoze subclinice. [155, 113] menționează și faptul, că mobilizarea lipidelor din țesutul adipos este însoțită de depozitarea lipidelor în ficat, mușchi și alte țesuturi, iar [92, 95] au stabilit, în acest caz, creșterea în ficat a cantității de acizi grași neesterificați (AGNE) și acumularea de trigliceride (TG). La rândul său, depunerea masivă de lipide în ficat (până la 70 % din masa organului) înseamnă o corespunzătoare reducere a unora, sau a tuturor funcțiilor hepatice, cu tulburări biochimice consecutive [4].

Totodată, [51, 81] constată, că diminuarea în perioada de lactație timpurie a indicelui stării de întreținere (BCS – body condition score) la vaci, exprimat fizic prin slăbirea corporală, afectează performanțele productive ale acestora, fapt ce a fost confirmat și în cercetările noastre.

În contextul celor relatate, perioada de tranziție și de debut a lactației este cu adevărat, una critică, deoarece este, de fapt, perioada în care incidența dismetaboliilor (cetoza, steatoza, dismineraloze etc.) este maximă [4], mai cu seamă pentru vacile cu productivitate înaltă. Una din cauzele majore a dismetaboliilor o constituie erorile admise în raportul dintre cantitatea de energie și proteină din rație [166].

În cercetările noastre s-a constatat, că animalele înalt-productive din loturile **B₁**, **B₂** și **B₃** au avut de suferit, anume, *în urma comiterii unor erori de ordin nutrițional, care și s-au soldat cu tulburări metabolice grave ireversibile. Acestea din urmă, au fost posibile din cauza admiterii dezechilibrului în aportul de glucide și proteine, exprimat prin deficit de zahăr cu 34% și exces de proteină cu 8,6 %, cât și ale altor deficiențe constatate la analiza rației (anexa 2.).*

Prin urmare, în cazul efectivului „B”, din motivul comiterii unor erori la întocmirea rației, vacile au avut de suferit din cauza dereglării grave a proceselor metabolice cu impact asupra stării de sănătate a animalelor. Acest fapt se remarcă prin decurgerea insidioasă a perioadei de tranziție și lactație timpurie, marcată prin lipoliză exagerată și creșterea conținutului de corpi cetoni în organism, care s-au exprimat prin slăbire corporală avansată și cetonurie accentuată, instalarea ulterioară a unor organopatii severe de ordin distrofic și pierderea capacității productive (loturile B₁₋₃).

3.2. Sistemul cardiovascular

La examinarea sistemului cardiovascular prin auscultație, s-a constatat ritmicitate cardiacă normală și zgomote cardiace bine pronunțate la majoritatea animalelor, cu excepția, a circa 50% de vaci din lotul **B₁** și **B₂**, la care s-a depistat diminuarea zgomotelor și a șocului cardiac.

Rezultatele examenului electrocardiografic sunt prezentate în tabelul 3.3. Conform datelor din tabel frecvența cardiacă medie s-a constatat a fi mai mare de 70 contr./min la toate cele trei loturi. De menționat, că la lotul **B₂** (vacii-recordiste) valorile acestui indice se situează la limita superioară de referință 81,78 contr./min respectiv. La toate animalele s-a constatat ritm cardiac sinusal fără aritmii.

Tabelul 3.3. Parametrii electrocardiografici la vaci (derivația a II, sistem frontal bipolar toracic); („xx” – $p > 0,05$)

Indicii		Lotul		
		A (n=9)	B ₁ (n=8)	B ₂ (n=10)
		M ± m	M ± m	M ± m
Amplituda undelor în D ₂ (mV)	P ^(xx)	0,055 ± 0,007	0,067 ±0,0086	0,058 ± 0,0061
	Q ^(xx)	-	-	-
	R ^(xx)	0,125 ± 0,018	0,108 ±0,032	0,137 ± 0,059
	S	0,462 ± 0,058	0,612 ±0,038	0,940 ± 0,117
		p _{A-B1} < 0,05	p _{A-B2} < 0,01	p _{B1-B2} < 0,05
	T	0,273 ± 0,034	0,343 ±0,035	0,502 ± 0,084
		p _{A-B2} < 0,05	xx	xx
Durata intervalelor (s)	P-Q ^(xx)	0,177 ± 0,0099	0,197 ±0,0075	0,191 ± 0,0086
	Q-T	0,370 ± 0,0085	0,387 ± 0,012	0,351 ± 0,0067
		xx	xx	p _{B1-B2} < 0,05
	T-Q ^(xx)	0,428 ± 0,039	0,461 ± 0,036	0,390 ± 0,048
	R-R	0,798 ± 0,024	0,848 ± 0,028	0,741 ± ± 0,023
		xx	xx	p _{B1-B2} < 0,01
	QRS ^(xx)	0,067 ± 0,0027	0,073 ± 0,0031	0,072 ± 0,0029
FC ^(xx) (contr./min)		75,75 ± 5,51	71,25 ± 5,55	81,78 ± 7,65
ISV ^(xx) (%)		46,36 ± 0,697	45,67 ± 0,651	48,40 ± 1,436
CDS ^(xx) (T-Q/Q-T)		1,15 ± 0,076	1,19 ± 0,071	1,07 ± 0,102

Amplitudinea medie a undelor **P**, **Q**, **R**, **S** și **T** (în derivația a II) variază în limitele normale la toate loturile, cu excepția lotului **B₂**, la care media undelor **R**, **S** și **T** este mai mare decât la animalele din celelalte loturi, având valori de 0,137/0,94/0,502 mV, respectiv. De

menționat, că la 5 animale este pronunțată mărirea amplitudei undei **T**, care variază între 0,5-1,1mV și la 6 animale - a undei **S** care variază între 0,9-1,3 mV, depășind astfel datele de referință.

Intervalele ECG-me au următoarele valori: **P-Q** – scurtat la toate loturile, constituind 0,197/ 0,177/ 0,191s respectiv, **Q-T** este mai mare la vacile din lotul **B₁** (0,387 s), dar nu depășește maxima de referință. Intervalul **T-Q**, care reprezintă diastola ventriculară și intervalul **R-R**, care reprezintă durata unui ciclu cardiac, sunt mai scurte la lotul **B₂**, având valori de 0,390s și 0,741s, respectiv. Intervalul **S-T** și segmentul **S-T** s-au dovedit a fi micșorate considerabil la lotul **B₂**, față de celelalte loturi și constituie 0,268 s și 0,165 s, respectiv. Durata complexului **QRS** la majoritatea animalelor nu este modificată și variază între 0,06-0,08 s, excepție, fiind trei animale din lotul **B₂** la care durata **QRS** constituie 0,09-0,10 s, depășind astfel, valorile de referință.

Indicele sistolic ventricular (**ISV**) la toate loturile este mai mare de 45 %, iar la 4 animale cu productivitate înaltă din lotul **B₂** este mai mare de 50 %.

Media coeficientului diastolo-sistolic (**CDS**) la toate loturile este mai mare de 1,0, care se consideră valoare de referință. La lotul **B₂**, valoarea nominală a **CDS** este mai mică decât la celelalte două, constituind 1,07 unități, iar la trei animale valorile individuale au fost cuprinse în limitele 0,91-0,97.



Figura 3.1. Fragment din ECG-ma înregistrată la vaca cu nr. 4651, lotul **B₂** (50 mm/s)

Deoarece, modificări mai importante s-au constatat la vacile-recordiste din lotul **B₂**, pentru exemplificare se prezintă ECG-a vacii cu nr. 4651 din acest lot (fig. 3.1.). Conform acestei ECG-me frecvența cardiacă este de 92 contr./min cu ritm sinusal puțin pronunțat. În derivația de bază **D₂** amplituda undei **P** este de 0,05 mV, **Q** – absentă, **R** - 0,05 mV, **S** - 1,3 mV și unda **T** -1,0 mV; durata intervalelor: **P-Q** este de 0,16 s, **Q-T** - 0,34 s, **T-Q** - 0,30 s, **S-T** - 0,24

s și **R-R** - 0,65 s, iar durata complexului **QRS** - 0,10 s și este puțin dilatat. În **D₃**, ECG-ma are aceiași parametri cu excepția undei **P**, care capătă configurație bifazică.

Modificări similare s-au consemnat și pe ECG-le altor animale din acest lot: configurația bifazică a undei **P** s-a stabilit la 5 vaci (50 %), mărirea voltajului undelor **T** și **S** – la 6 vaci (60%), dilatarea undei **T** – în 2 cazuri, dilatarea complexului **QRS** – în 3 cazuri, scurtarea segmentului **S-T** și a intervalului **P-Q** s-a constatat în 4 cazuri. De menționat și faptul, că la patru vaci din acest lot (40%) se constată tahicardie ușoară cu variația frecvenței cardiace între valorile nominale de 85 – 94 contr./min.

Rezultatele obținute prin examenul clinic și electrocardiografic al sistemului cardiovascular ne oferă informație suplimentară referitor la starea de sănătate a animalelor. Prin metode clinice s-a depistat diminuarea zgomotelor și a șocului cardiac la 50% din animalele lotului **B₁** și **B₂** cu cetonurie. La analiza ECG-lor (tab. 3.3.) s-a stabilit la unele vaci din lotul **B₂** (recordiste) frecvență cardiacă ridicată până la 94 cont./min și alte modificări, cum ar fi: configurația bifazică a undei **P**, creșterea amplitudinii undei **S** și **T**, dilatarea complexului **QRS** și a undei **T**, scurtarea segmentului **S-T** și a intervalului **P-Q**. Acestea, sunt dovadă a dereglărilor în sistemul de conducere și/sau a proceselor de repolarizare (unda **P**-bifazică), a hipertrofiei miocardului și modificărilor funcționale exprimate prin tahicardie ventriculară, a dereglărilor metabolice și distrofice (dilatarea **QRS**, mărirea undei **T**- hiperkalemie) prezente în miocard.

Astfel, la animalele din lotul D₂ cu cetoză și sindrom de mobilizare a lipidelor, în urma realizării examenului ECG-fic, s-a constatat prezența tulburărilor funcționale și metabolice la nivel de miocard.

3.3. Indicii eritronului

Indicii hematologici prezentați în tabelul 3.4. au fost studiați la vaci aflate în repaus mamar (lot **A**), în perioada puerperală (lot **A** și **B₁**) și în debutul lactației (lot **B₂** și **B₃**). Datele din tabel indică, că în perioada de repaus mamar (vacile din lotul **A**) indicii eritronului (eritrocitele, hemoglobina, hematocritul), s-au aflat în limitele fiziologice, având valori de $5,56 \times 10^{12}/l$, 120 g/l și 35,7 %, respectiv. Valorile individuale ale acestor indici, la fel, se încadrează în normativele fiziologice la toate animalele.

La a doua investigație (2-4 zile postpartum) s-a constatat diminuarea acestor trei indici, față de nivelul înregistrat antepartum, îndeosebi a numărului de eritrocite, care a coborât la unele animale mai jos de minima de referință. Numărul de eritrocite s-a micșorat cu 9,9 %, concentrația de hemoglobină – cu 1,3 % și hematocritul – cu 1,2 unități procentuale, față de prima cercetare.

La a treia investigație efectuată la a 21 zi după fătare s-a constatat, că valorile indicilor eritronului se află în continuă descreștere, astfel, încât și media hematocritului ajunge sub limita inferioară de referință. Diferența procentuală între valorile obținute la I și la a III investigație constituie 22,3 % pentru eritrocite, 11,25 % pentru hemoglobină și 6,3 unități procentuale pentru hematocrit.

Tabelul 3.4. Dinamica indicilor eritronului la vaci în perioada de tranziție; („xx” – $p > 0,05$)

Lotul		n	Eritrocite ($\times 10^{12}/l$)	Hemoglobină (g/l)	Hematocrit (%)
			$M \pm m /(\ell im)$	$M \pm m /(\ell im)$	$M \pm m /(\ell im)$
A (sănătos)	20-14 zi a/partum	10	5,56 $\pm$ 0,4 (5,0 – 6,4)	120,0 $\pm$ 6,4 (108 – 131)	35,5 $\pm$ 2,5 (31 – 40)
			$p_{I-III} < 0,05$	xx	xx
	2-4 zile după fătare	10	5,01 $\pm$ 0,68 (3,5 – 6,0)	118,4 $\pm$ 8,8 (100 – 140)	34,3 $\pm$ 2,04 (29 – 38)
	21 zile după fătare	10	4,32 $\pm$ 0,27 (3,57 – 5,0)	106,5 $\pm$ 12,8 (80 – 130)	29,2 $\pm$ 1,68 (25 – 36)
B₁ (cetoză)	7-14 zile după fătare	16	5,93 $\pm$ 0,35 (5,1 – 6,9)	115,3 $\pm$ 8,97 (98 – 138)	32,2 $\pm$ 1,96 (27 – 37)
			xx	$p_{B1-B3} < 0,001$	$p_{B1-B3} < 0,05$
B₂ (cetoză)	30-60 zile (recordiste)	10	5,38 $\pm$ 0,46 (4,2 – 6,1)	91,4 $\pm$ 9,72 (72 – 110)	29,6 $\pm$ 2,96 (21 – 35)
			xx	$p_{B2-B3} < 0,01$	xx
B₃ (cetoză)	60-90 zile (stare gravă)	7	4,91 $\pm$ 0,45 (4,2 – 5,8)	48,2 $\pm$ 6,5 (42 – 66)	23,7 $\pm$ 2,84 (20 – 29)

Cercetările efectuate pe vacile din efectivul „B”, realizate în paralel la toate trei loturi (**B₁**, **B₂** și **B₃**), reflectă dinamica indicilor eritronului la animale cu productivitate înaltă (cca. 25 kg/zi) la care, spre deosebire de lotul **A** (16-18 kg/zi), s-a constatat îmbolnăvirea de cetoză (tab. 3.4.). Datele din tabel ne arată, că la vacile recent fătate (7-14 zile) din lotul **B₁**, valorile medii ale eritronului se află în limitele fiziologice și constituie $5,93 \times 10^{12}/l$ de eritrocite, 115,3 g/l de hemoglobină și 32,2 % hematocritul. La analiza individuală s-a constatat, că la trei vaci (18%) din cele 16 cercetate hematocritul era mai jos de limita inferioară de referință.

La lotul **B₂** (vacii-recordiste, peste 25 kg de lapte/zi) numărul de eritrocite este, în mediu, de $5,38 \times 10^{12}/l$ – valoare ce se înscrie în normativele fiziologice, iar media hemoglobinei și a hematocritului s-a aflat în apropierea limitei inferioare de referință: 91,4 g/l și 29,6 %, respectiv. La analiza valorilor individuale a acestor indici, s-a constatat scăderea sub limita inferioară de referință a numărului de eritrocite în 3 cazuri (33,3 %), a hemoglobinei – în patru cazuri (40 %) și a hematocritului – în trei cazuri (33,3 %) din cele zece cercetate.

La vacile din lotul **B₃** (2-3 luni de lactație), în stare clinică gravă, valorile medii ale indicilor eritronului s-au dovedit a fi mult sub nivelul normativelor fiziologice. Deosebit de scăzută este cantitatea de hemoglobină și hematocritul, care constituie 48,2 g/l și 23,7 %, respectiv. La analiza individuală s-a constatat, că numărul de eritrocite se află sub nivelul de $5,0 \times 10^{12}/l$, la 60 % din animale, iar nivelul hemoglobinei și a hematocritului sunt diminuate, în comparație cu datele de referință, la toate animalele (100 %) din acest lot.

Prin efectuarea analizei comparative a indicilor eritronului s-a stabilit (tab. 3.4.), că în perioada de tranziție, la vacile din lotul **A** are loc micșorarea valorilor a tuturor trei indici, față de nivelul consemnat antepartum, iar la loturile **B₂** și **B₃**, comparativ cu nivelul constatat în primele zile după fătare (lotul **B₁**).

La animalele sănătoase din lotul **A** la 2-4 zile post-partum diminuarea eritrocitelor este de 9,9 %, a hemoglobinei de 1,3 % și a hematocritului de 3,4 %, iar la 21 zile este egală cu 22,3 %, 11,25 % și 17,8 %, respectiv, comparativ cu prima cercetare (fig. 3.2.). Prin urmare, se conturează o tendință de scădere a valorilor eritronului în primele săptămâni după fătare, ceea ce se confirmă și prin rezultate similare obținute anterior [26, 1].

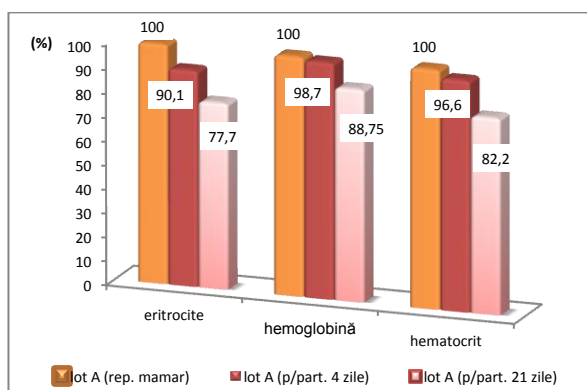


Fig. 3.2. Dinamica eritronului la vacile sănătoase

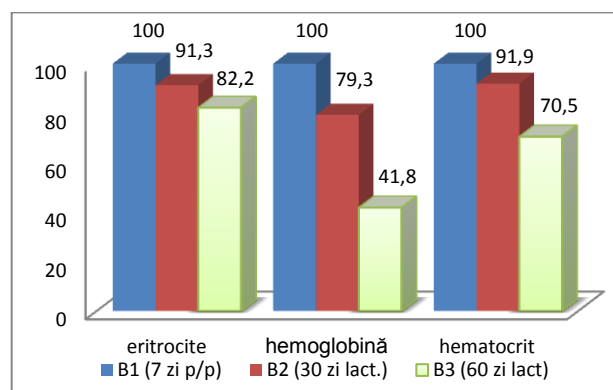


Fig. 3.3. Dinamica eritronului la vacile cu cetoză

Dinamica descendentă a eritronului poate fi explicată prin acțiunea a mai multor factori cunoscuți, cum ar fi: posibilele hemoragii postpuerperale, diminuarea poftei de mâncare în periparturiție, inițierea secreției de lapte - cu efect spoliativ pentru organism, dar și de intensificarea proceselor de formare a radicalilor liberi, în același timp. Aceștia din urmă, cauzează peroxidarea lipidelor polinesaturate, influențând permeabilitatea și integritatea membranelor eritrocitare [13] și condiționând astfel, micșorarea indicilor respectivi.

La vacile cu cetonurie pronunțată din lotul **B₂** (30-60 zile de lactație) s-a înregistrat scăderea numărului de eritrocite cu 9,3 %, a **Hb**-ei cu 20,7 % și **Ht**-lui cu 8,2 %, iar la lotul **B₃** constituit din animale cu dereglări metabolice evidente diminuarea a ajuns până la valori de 17,2

%, 58,2 % ($p < 0,001$) și 26,4 % ($p < 0,05$), respectiv, comparativ cu lotul **B₁** (7 zile post-partum), valorile căruia au fost luate drept inițiale (fig. 3.2.).

De remarcat, că la 30-40 % din vacile recordiste din lotul **B₂** s-a constatat diminuarea valorilor individuale ale eritronului, iar la lotul **B₃** - în 100 % de cazuri s-a constatat scăderea marcată a **Ht**, **Hb** și **eritrocitelor** până sub pragul de referință. Aceste rezultate corelează cu apariția simptomelor clinice de anemie (paliditatea mucoaselor), tahicardie și tahipnee înregistrate la vacile din aceste loturi.

Date similare, privind tendința de instaurare a stării de anemie la vaci cu cetoză sunt aduse și de alți autori [25, 158].

Prin urmare, pentru vacile sănătoase din lotul A, în perioada de tranziție este specifică dinamica descrescătoare a constantelor eritrocitare directe (eritrocite, Hb și Ht), iar în cazul îmbolnăvirii de cetoză (loturile B₁, B₂ și B₃) se constată instaurarea stării de anemie într-un grad destul de avansat.

3.4. Indicii sistemului antioxidant (SAO)

Indicii SAO, prezentați în tabelul 3.5., au fost determinați la lotul **A** - în repaus mamar și în dinamica perioadei de postparturiție, la lotul **B₁** - în primele săptămâni după fătare și la lotul **B₂**, compus din vaci-recordiste cu productivitate zilnică de peste 25 kg, la 1,5-2 luni de lactație.

Analizând rezultatele obținute la lotul **A**, s-a constatat, că după parturiție (cercetarea a II) activitatea catalazei și cantitatea de dialdehidă malonică (**DAM**) în ser cresc de 3,1 și 1,25 ori, respectiv, față de valoarea constatată antepartum, iar activitatea catalazei în eritrocite scade cu aproximativ 34 % ($p < 0,05$) față de aceeași perioadă. Concomitent, la aceste vaci (recent fătate), s-a constatat scăderea considerabilă a rezistenței peroxidice a eritrocitelor (**RPE**), exprimată printr-un procent mai înalt de hemoliză (3,84 %), care s-a dovedit a fi de 4,3 ori mai mare față de indicele inițial (de 0,89 %).

La a treia investigație, în dinamica unor indici se constată tendința de descreștere: a procentului de hemoliză (**RPE**) - de 3,0 ori, a activității catalazei (**CAT**) în ser - cu 49 % și a cantității de dialdehidă malonică (**DAM**) în ser - cu 14 %, față de valorile înregistrate la a doua cercetare, pe când activitatea catalazei în eritrocite crește aproximativ cu 18 %, față de perioadă respectivă. Prin urmare, valorile indicilor determinați (**RPE**, **CAT**, **DAM**), după diminuările menționate în primele zile după fătare, către cea de a 21 zi postpartum, au tendința de revenire la nivelul constatat în perioada repausului mamar.

Tabelul 3.5. Dinamica indicilor sistemului antioxidant la vaci în perioada de tranziție;
(„xx” – $p > 0,05$)

Lotul		n	RPE^(xx) (% de hemoliză)	Catalaza		DAM^(xx) în ser (nmol/ml)
				în ser (mkat/l)	în eritrocite (mkat/ml m. eritr.)	
			M ± m / (lim)	M ± m / (lim)	M ± m / (lim)	M ± m / (lim)
A (sănătos)	20-14 zi a/part.	10	0,89 ± 0,32 (0,32-1,72)	58,25 ± 26,54 (27,3-112,7)	249,0 ± 20,7 (191,8-295,7)	2,48 ± 0,41 (1,89-3,27)
			xx	xx	$p_{I-II} < 0,05$	xx
	2-4 zile după fătare	10	3,84 ± 1,80 (1,21 – 9,48)	181,7 ± 79,64 (66,6 – 293,0)	164,03 ± 30,54 (125,2 -215,8)	3,11 ± 0,43 (2,4 – 4,1)
	21 zile după fătare	10	1,28 ± 0,63 (0,53 – 2,3)	92,62 ± 61,21 (20,0 -193,1)	194,1 ± 33,45 (143,9-274,7)	2,67 ± 0,43 (2,19 –3,67)
B₁ (cetoză)	7-14 zile după fătare	16	4,94 ± 1,29 (2,94 – 8,7)	145,04 ± 62,6 (53,0-295,7)	—	3,4 ± 0,81 (2,04 –4,93)
			xx	$p_{B1-B2} < 0,05$	xx	xx
B₂ (cetoză)	45-60 zile (recordiste)	10	6,3 ± 1,35 (3,64 -10,68)	369,1 ± 67,1 (183,8-483,5)	—	4,31 ± 0,77 (2,88-5,47)

Investigațiile realizate, în paralel, la loturile **B₁** și **B₂** au arătat că la animalele din lotul **B₂** (peste 25 kg/zi), rezistența peroxidică a eritrocitelor este mai scăzută, deoarece procentul de hemoliză la acest lot, fiind de 6,3 %, este mai mare de 1,27 ori decât respectivul parametru la lotul **B₁**. Activitatea catalazei în ser și cantitatea de **DAM** la vacile din lotul **B₂** la fel sunt mai înalte decât la celălalt lot de 2,54 ($p < 0,05$) și 1,26 ori, respectiv.

În acest context, este important de menționat, că la vacile-recordiste, din lotul **B₂**, indicele **RPE**, activitatea catalazei și cantitatea de **DAM** au valori mai înalte și față de lotul **A**, ceea ce servește drept dovadă a intensificării proceselor de hemoliză a eritrocitelor și a proceselor de peroxidare a lipidelor, în cazul de față, la vacile cu randament productiv mai sporit care erau și bolnave de cetoză (tab. 3.5.).

Conform multiplelor constatări, stările fiziologice extreme cum ar fi graviditatea la femei, efortul fizic, precum și situațiile de stres [16] sunt însoțite de creșterea formării de radicali liberi de oxigen și acumularea produselor de peroxidare în țesuturi.

Determinarea indicilor **SAO**, efectuată în cadrul cercetărilor noastre, consemnează faptul că la vacile din lotul **A**, în perioada de tranziție (după fătare) are loc intensificarea proceselor de peroxidare a lipidelor. Acest fapt se confirmă prin scăderea rezistenței peroxidice a eritrocitelor (**RPE**) și creșterea cantității de **DAM** în ser la vaci sănătoase ($r = 0,9844$), chiar în primele zile după parturiție. Rezultate similare au fost obținute și de alți autori care afirmă că stresul oxidativ este aparent la vaci în perioada de tranziție [41], dar modificările respective sunt de scurtă durată [152].

Metoda de determinare a **RPE** se bazează pe aprecierea procentului de hemoliză a globulelor roșii expuse acțiunii peroxidului de hidrogen [20], care este un oxidant puternic. Prin urmare, creșterea considerabilă a procentului de hemoliză în primele zile după fătare (lotul **A**), comparativ cu perioada de repaus mamar, reflectă diminuarea capacității de rezistență a eritrocitelor la acțiunea unor substanțe cu proprietăți oxidative. Rezultatele obținute ne arată, că punctul critic în această privință, – valoarea maximă a procentului de hemoliză, este înregistrat în primele zile după fătare, iar pe parcursul a următoarelor trei săptămâni se constată micșorarea treptată a acestuia (fig. 3.4.).

Cantitatea de dialdehidă malonică (**DAM**) în ser, care reflectă rata de acumulare a produselor de peroxidare, a crescut față de nivelul constatat în perioada repausului mamar, în primele zile după fătare, după care s-a înregistrat descreșterea acestui metabolit către a 21-ea zi (tab. 3.5., fig. 3.4., lotul **A**).

Aceste două fenomene: de diminuare a **RPE** – indice indirect al saturației membranelor eritrocitare cu vitamina E [17] și de acumulare a **DAM** – produs final al peroxidării lipidelor, pot fi explicate prin faptul, că parturiția deși, fiind un proces fiziologic, în momentul realizării sale, devine un factor stresant pentru organism, care de rând cu suita de perturbări biochimice cunoscute, este însoțită și de intensificarea proceselor de formare a radicalilor liberi și de peroxidare a lipidelor. Totodată, fenomenele neuroendocrine, menite să dirijeze parturiția se realizează prin intermediul anumitor hormoni (prostaglandine), sinteza cărora este însoțită, la fel, de procese de peroxidare.

Creșterea activității catalazei (**CAT**) în serul sanguin, tot în această perioadă, corelează pozitiv ($r = 0,9886$) cu dinamica procentului de hemoliză a eritrocitelor expuse acțiunii peroxidului de hidrogen (**RPE**) (tab. 3.5.). Acest fapt poate fi explicat prin aceea, că catalaza, fiind o enzimă intracelulară și găsindu-se în concentrații mari anume în eritrocite poate apare în ser în urma distrugerii acestora [24], sau a creșterii permeabilității membranei eritrocitare. Astfel, se poate presupune, că creșterea activității **CAT** în ser în primele zile după parturiție se datorează intensificării hemolizei eritrocitelor, sau cel puțin, sporirii permeabilității membranelor acestora, fenomen ce poate fi cauzat de acțiunea factorilor pro-oxidativi, care induc și diminuarea **RPE**.

Un alt aspect al dinamicii catalazei (**CAT**) îl constituie activitatea acestei enzime în eritrocite, care în perioada de postparturiție scade, comparativ cu nivelul antepartum, în timp ce activitatea sa în ser crește ($r = -0,9140$). Prin urmare, ținând cont de creșterea permeabilității membranelor eritrocitare se poate presupune, că diminuarea activității catalazei în eritrocite poate fi cauzată, cel puțin parțial și de difuziunea intensă a enzimei în mediul extracelular. Cu

atât mai mult, cât în perioada următoare, până la a 21-a zi postpartum, activitatea catalazei în eritrocite crește față de ziua a 4-a, în paralel cu diminuarea sa în serul sanguin (fig. 3.5.), și restabilirea treptată a **RPE** (fig. 3.4.).

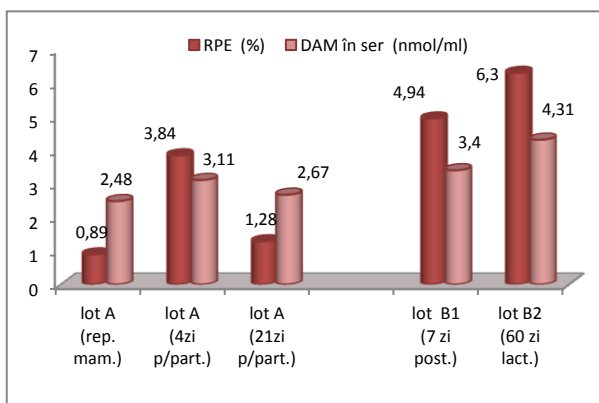


Fig. 3.4. Dinamica RPE și DAM la vaci

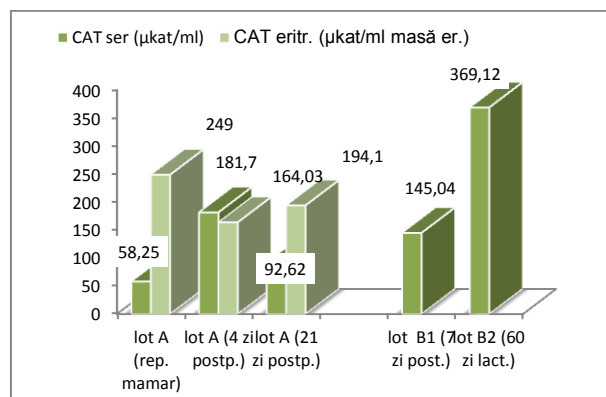


Fig. 3.5. Dinamica CAT la vaci

Un moment important constatat în cercetările noastre, care se merită menționat, este acela, că la vacile cu cetoză (lotul **B₁** și **B₂**) dinamica **RPE**, a conținutului de **DAM** și a activității **catalazei** în ser s-a dovedit a fi cu totul deosebită de cea constatată la vacile sănătoase din lotul **A**. Astfel, la lotul **B₁** în zilele 7-14 de la parturiție și la lotul **B₂** după 30 zile de lactație, s-a constatat diminuarea continuă a **RPE**, creșterea cantității de **DAM** și a activității **CAT** în ser, - indici care atestă intensificarea proceselor de peroxidare și diminuarea progresivă a capacității funcționale a sistemului antioxidant pe fonul cetonemiei (fig. 3.4. și 3.5.).

*Prin urmare, referitor la statusul antioxidant în perioada de tranziție se poate menționa, că comparativ cu repausul mamar, în postparturiție se constată intensificarea proceselor de peroxidare și diminuarea capacității funcționale a sistemului antioxidant exprimată prin scăderea rezistenței peroxidice a eritrocitelor (**RPE**), creșterea în ser a dialdehidei malonice (**DAM**) și a activității catalazei (**CAT**) și descreșterea activității **CAT** în eritrocite. Aceste procese s-au dovedit a fi reversibile și se restabilesc la vacile sănătoase (exemplul lotului **A**) pe parcursul a două-trei săptămâni după parturiție.*

În cazul loturilor **B₁** și **B₂** s-a constatat că, în paralel cu agravarea cetozei, are loc acumularea progresivă a produselor de peroxidare a lipidelor (în special **DAM**) și diminuarea capacității antioxidante a eritrocitelor (scăderea rezistenței peroxidice - **RPE**), cauzate, după părerea noastră, de intensificarea proceselor de formare a radicalilor liberi.

Ținând cont, că aceștia sunt indicii care atestă starea de insuficiență a sistemului antioxidant și de simptomele clinice observate la vacile din loturile **B₂** și **B₃**, în special, scăderea apetitului, slăbirea corporală, diminuarea productivității, anemicitatea pronunțată a mucoaselor aparente și conjunctivei, la unele cu nuanță cianotică, apatie pronunțată, dispnee și

tahicardie intensă la eforturi neînsemnate, hematoame subcutanate și hemartroze, se poate menționa o similitudine vădită cu manifestările „sindromului de peroxidare” reprodus experimental la animale de laborator și citat de mai mulți autori [22, 13, 16].

3.5. Concluzii la capitolul 3

1. S-a efectuat monitorizarea animalelor din două efective diferite („A” și „B”) în perioada de tranziție (gestație-lactație), cu scopul aprecierii dinamicii statusului antioxidant la vacile sănătoase (lotul **A**) și cele bolnave de cetoză din loturile **B₁₋₃**, prin dozarea indicilor **RPE**, **CAT** și **DAM**, paralel cu efectuarea examenului clinic și hematologic.

2. La vacile din lotul **A**, care aveau potențialul productiv de 16-18 kg/zi și au beneficiat de nutriție adecvată în perioada de tranziție, s-au constatat modificări ale parametrilor clinici (tahicardie și tahipnee), a stării generale (diminuarea apetitului, slăbire corporală moderată), ale indicilor eritronului – prin diminuarea acestora în „postpartum”, dar, care au avut un caracter tranzitoriu și sunt considerate de ordin fiziologic.

3. La vacile din loturile **B₁₋₃** cu potențial productiv mai înalt (≈ 25 kg/zi), rația cărora în perioada de tranziție a fost insuficientă după conținutul de glucide și în consecință a provocat îmbolnăvirea de cetoză, s-a constatat stare generală nesatisfăcătoare, cu declanșarea sindromului de mobilizare a lipidelor însoțit de cetonurie, anemie, tulburări metabolice și funcționale în miocard, care au purtat un caracter agravant și s-au soldat cu deteriorarea stării de sănătate și compromiterea capacității productive.

4. Dinamica statusului antioxidant, la lotul **A**, s-a caracterizat prin creșterea în serul sanguin a conținutului de **DAM** de 1,25 ori și a activității catalazei (**CAT**) de 3,1 ori, și a procentului de hemoliză a eritrocitelor (**RPE**) de 4,3 ori, la a patra zi după parturiție, comparativ cu nivelul din perioada repausului mamar, urmată de diminuarea valorilor acestora, către ziua a 21-a de la parturiție, ceea ce reflectă aspectul fiziologic al intensificării proceselor de peroxidare a lipidelor în perioada de tranziție la vacile sănătoase.

5. La animalele din efectivul „B”, **dinamica statusului antioxidant** s-a caracterizat prin valori mai mari ale procentului de hemoliză a eritrocitelor (**RPE**) cu 28,6 % și a conținutului de **DAM** în ser cu 9,3 %, comparativ cu valorile lotului **A**, în prima săptămână după fătare (lotul **B₁**), dar și prin creșterea ulterioară a valorilor **RPE** cu 27,5 %, a conținutului de **DAM** cu 26,7 % și a **CAT** în ser de 2,54 ori (lotul **B₂**), comparativ cu nivelul de la fătare (lotul **B₁**)($p < 0,05$), fapt ce denotă, că în cazul îmbolnăvirii de cetoză, intensitatea proceselor de peroxidare a lipidelor este mai pronunțată decât la vacile sănătoase.

6. Modificările complexe: clinice, hematologice, pato-biochimice și anatomo-patologice, exprimate prin sindromul de mobilizare a lipidelor până la faza de epuizare, scăderea randamentului productiv, cetonurie și anemie severă, diminuarea capacității protective a sistemului antioxidant și acumularea produselor de peroxidare în organism, însoțite de modificări distrofice ale organelor vitale și compromiterea funcțiilor acestora, sunt dovadă a instaurării la vacile cu cetoză a stării de stres oxidativ, echivalent cu „**sindromul de peroxidare lipidică**” reprodus experimental la animale de laborator.

7. Conform rezultatelor obținute, parturiția ca fenomen fiziologic, iar îmbolnăvirea vacilor de cetoză cauzată de nutriția neechilibrată, - ca fenomen patologic, pot fi considerate ca factori majori de risc în perioada de tranziție, care au avut impact asupra statusului antioxidant la vaci, exprimat prin intensificarea proceselor de formare a radicalilor liberi și acumulare a produselor de peroxidare în sânge.

4. MODALITĂȚI DE OPTIMIZARE ALE STATUSULUI ANTIOXIDANT LA VACI

4.1. Utilizarea antioxidantului sintetic Diludină (experiența „C” și „D”)

Investigațiile privind acțiunea Diludinei asupra stării clinice, productivității, profilului hematologic și biochimic, și a *statusului antioxidant* la vaci de lapte, s-au desfășurat în două experiențe (nominalizate convențional „C” și „D”) pe un număr total de 45 de animale. La 25 de vaci, care au constituit cele două loturi experimentale **C₂** și **D₂**, Diludina s-a administrat zilnic câte 2,5 g/animal pe parcursul a 120 zile: 60-45 zile prepartum și 60-75 post-partum în experiența „D”, și începând cu ziua a 10-20 de lactație în cea de a doua - „C”). Alte 20 vaci, care au fost incluse în loturile martor (**C₁** și **D₁**) nu au primit Diludină, dar în timpul cercetărilor au beneficiat de condiții similare de nutriție și întreținere.

4.1.1. Starea clinică și productivitatea

Starea de sănătate a junincilor incluse în experiența „D”, s-a dovedit a fi satisfăcătoare pe întreg parcursul cercetărilor, fiind apreciată zilnic prin inspectarea clinică a animalelor. Unul din criteriile, care confirmă starea de sănătate a animalelor a fost prezența apetitului și consumul deplin al sortimentului de nutrețuri oferite (fibroase, concentrate) în acea perioadă. Până la parturiție starea de întreținere corporală a vacilor din ambele loturi era de nivel mediu, sau cu puțin peste, iar fătările, la majoritatea din ele au decurs satisfăcător, cu excepția a câtorva cazuri mai dificile.

În perioada puerperală, la unele vaci s-au constatat modificări ale statutului clinic exprimate prin mărirea ușoară a frecvenței pulsului și respirației. La toate s-au observat eliminări din organele genitale pe parcursul a 2-3 săptămâni, iar în următoarele 1,5-2,5 luni, majoritatea vacilor au venit în călduri. În privința stării generale a animalelor, în această perioadă, nu a fost

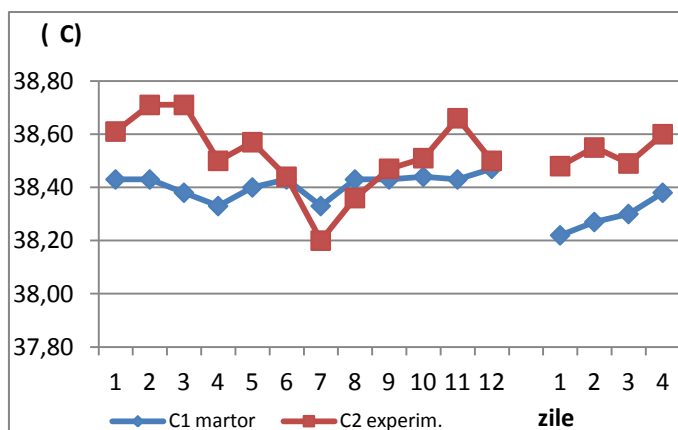


Fig. 4.1.1. Dinamica temperaturii corporale („C”)

cercetări era satisfăcătoare și se exprima prin prezența apetitului și comportament adecvat. Determinarea statului clinic prin măsurarea **T**, **P** și **R** în primele 12 zile ale experienței, a arătat că valorile acestora variază la ambele loturi în limite fiziologice, iar dinamica lor poartă un caracter instabil, pentru a putea desprinde o

observată o oarecare diferență între cele două loturi (**D₁** și **D₂**), fapt care se confirmă și prin valorile parametrilor clinici (**T**, **P** și **R**) apreciați la ambele loturi la sfârșitul cercetărilor.

În experiența „C”, care a început la 10-20 zile după parturiție, starea generală a vacilor selectate pentru

oarecare regularitate, și poate fi explicată prin specificul perioadei puerperale (fig. 4.1.1., fig. 4.1.2. și fig. 4.1.3.).

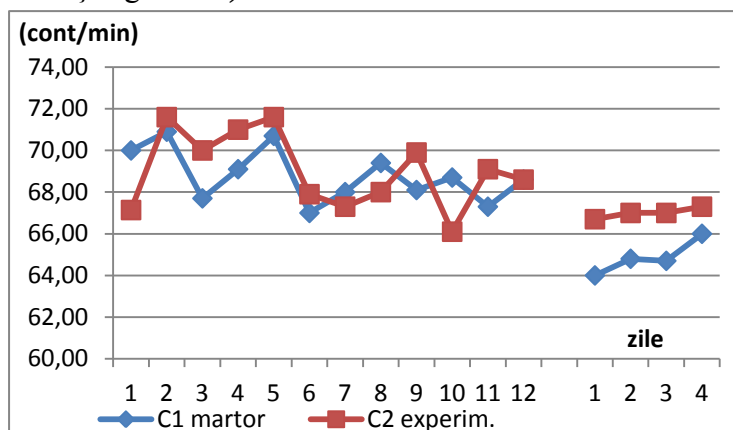


Fig. 4.1.2. Dinamica frecvenței cardiace („C”)

În ceea ce privește dinamica indicilor clinici (**T**, **P** și **R**) la sfârșitul experienței, s-a constatat, că valorile medii ale acestora la lotul experimental **C₂** diferă de cele ale lotului martor (**C₁**), prin aceea că temperatura corporală și frecvența pulsului sunt puțin mai înalte (cu 0,23 °C

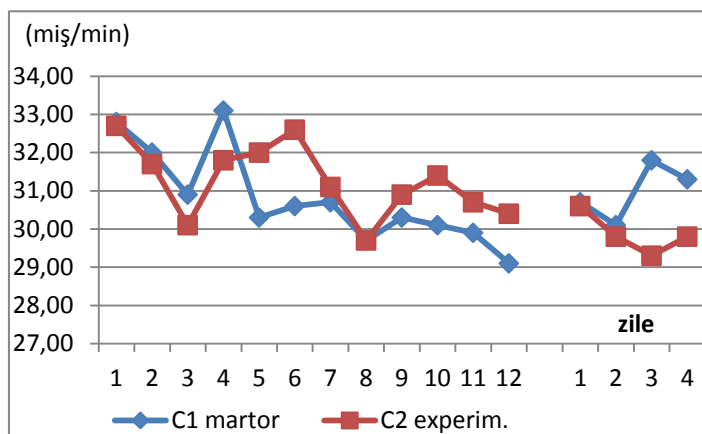


Fig. 4.1.3. Dinamica temperaturii corporale („C”) clinici (fig. 4.1.1., fig. 4.1.2. și fig. 4.1.3.).

și 2,2 contr./min), respectiv ($p_{C_1-C_2} > 0,05$), iar frecvența mișcărilor respiratorii - puțin mai joasă (cu 1,2 mișc./min) ($p_{C_1-C_2} > 0,05$), decât la lotul martor. Această tendință poate servi drept confirmare a influenței pozitive a antioxidantului sintetic Diludină asupra homeostaziei vacilor în lactație exprimată prin ameliorarea parametrilor

Paralel cu aprecierea stării clinice s-a monitorizat și randamentul productiv al vacilor prin efectuarea mulșorilor de control lunare. Rezultatele obținute în experiența „**D**” (tab. 4.1.1.) demonstrează că productivitatea medie lunară a junincilor din lotul experimental în prima lună de lactație este cu 14,4 kg (3,3 %), mai mică decât a acelora din lotul martor (**D₁**). În a doua lună s-a înregistrat diferența de 18,6 kg (4,2 %), dar deja în favoarea lotului **D₂**. Totodată, trebuie de menționat, că la lotul experimental în a doua lună cantitatea de lapte obținut de la fiecare animal s-a mărit cu 23,1 kg (5,2 %), comparativ cu nivelul lunii precedente, iar la lotul martor a scăzut cu cca. 10 kg (2,3 %).

Rezultatele, privind producția de lapte la vacile din experiența „C” (tab. 4.1.1.), indică o creștere progresivă a mediei pe loturi în primele trei luni ale lactației, deși la analiza dinamicii individuale s-a stabilit că în ambele loturi au fost câte două vaci la care proiecția curbei de productivitate în luna a treia consemnează o ușoară descreștere. În experiența “C” producția de lapte la lotul experimental (C_2), a fost la fel mai joasă decât la lotul martor (C_1), în prima lună cu 14,3 %, în lună a doua – cu 6,9 %, iar în cea de a treia lună diferența se reduce până la 1,1 %. Astfel, în a treia lună de lactație cantitatea medie lunară obținută de la vacile din lotul martor este cu 27,5 kg (4,7 %) mai mare față de prima lună, pe cînd la lotul experimental (C_2) depășirea, față de aceeași perioadă, atinge cota de 101,4 kg (17,5 %) de la fiecare animal în mediu.

Tabelul 4.1.1. Producția de lapte la vaci în experiențele „D” și „C”

Expe- riența	Luna lactație	Lotul	Cantitatea de lapte pe lună (kg)		Grăsimea laptelui (%)	
			n	$M \pm m$	n	$M \pm m$
“D”	I	D ₁ -mart.	10	444,0 ± 59,4	----	-----
		D ₁ ↔D ₂	D ₂ < 3,3 %; p > 0,05			
		D ₂ -exp.	14	429,6 ± 57,7	----	-----
	I ↔ II		(D ₁ ↓ 2,3 %); (D ₂ ↑ 5,2 %)			
	II	D ₁ -mart.	10	434,1 ± 52,9	----	-----
		D ₁ ↔D ₂	D ₂ > 4,2 %; p > 0,05			
		D ₂ -exp.	14	452,7 ± 58,5	----	-----
“C”	I	C ₁ -mart.	7	560,5 ± 86,2	7	3,61 ± 0,07
		C ₁ ↔C ₂	C ₂ < 14,2 %; p > 0,05		C ₂ > 1,9 %; p > 0,05	
		C ₂ -exp.	7	480,7 ± 69,1	7	3,68 ± 0,12
	I ↔ II		(C ₁ ↑ 3,9 %); (C ₂ ↑ 11,5 %)		(C ₁ ↓ 0,9 %); (C ₂ ↑ 4,9 %)	
	II	C ₁ -mart.	7	582,7 ± 60,2	7	3,58 ± 0,09
		C ₁ ↔C ₂	C ₂ < 6,9 %; p > 0,05		C ₂ > 7,5 %; p > 0,05	
		C ₂ -exp.	7	542,8 ± 108,1	7	3,87 ± 0,28
	I ↔ III		(C ₁ ↑ 4,7 %); (C ₂ ↑ 17,5 %)		(C ₁ ↑ 2,7 %); (C ₂ ↑ 2,4 %)	
	III	C ₁ -mart.	7	588,0 ± 81,4	7	3,71 ± 0,15
		C ₁ ↔C ₂	C ₂ < 1,1 %; p > 0,05		C ₂ > 1,6 %; p > 0,05	
		C ₂ -exp.	7	582,1 ± 101,8	7	3,77 ± 0,06

Din același tabel se constată că procentul de grăsime din lapte la vacile din lotul C_2 este mai înalt decât la cele din lotul martor și atinge valoarea maximală de 3,87 % în luna a doua, diferența dintre loturi, constituind 7,5 % sau 0,29 unități (procentuale) în favoarea acestuia.

Astfel, rezultatele obținute atestă faptul, că producția de lapte în primele 2-3 luni ale lactației (tab. 4.1.1.) a fost în creștere progresivă, atât la loturile care au primit Diludină, cât și la cele martor. Această tendință este expresia realizării potențialului fiziologic al vacilor, care după cum se știe, are capacitatea de sporire pe parcursul a primelor trei-patru luni după parturiție. La loturile experimentale (**D₂** și **C₂**) s-a constatat, că sporirea cantității de lapte a fost mai importantă decât la loturile martor (**D₁** și **C₁**), fapt ce confirmă acțiunea pozitivă a Diludinei privind stimularea potențialului productiv al vacilor.

Influența pozitivă a Diludinei s-a manifestat nu numai prin obținerea unei cantități mai mari de lapte, dar și prin creșterea conținutului de grăsime în acest produs, care a ajuns la valori mai înalte decât la loturile martor (tab. 4.1.1.). Prin urmare, Diludina a fost factorul care a stimulat potențialul productiv al vacilor din loturile experimentale, fapt ce s-a exprimat atât prin modificări cantitative, cât și a calității laptelui obținut.

După părerea noastră, mecanismul de acțiune a Diludinei este legat de implicarea directă sau/și de activizarea proceselor metabolice, care nemijlocit asigură creșterea randamentului productiv al animalelor. Rezultate similare, privind acțiunea stimuloare a Diludinei asupra producției de lapte la vaci, au fost confirmate anterior în publicațiile mai multor autori [31]. Se afirmă, totodată, că Diludina este un preparat mai eficient în stimularea producției și sporirea procentului de grăsime în lapte, comparativ cu alți antioxidanți [21].

Relatări, care confirmă activizarea metabolismului la animale, în urma administrării Diludinei sau a altor antioxidanți sintetici sunt aduse de mai mulți autori. [21] au ajuns la concluzia, că antioxidanții nimerind în tractusul digestiv, chiar la prima etapă a digestiei protejează vitaminele și alte substanțe nutritive, de alterarea oxidativă, asigurând astfel eficiența utilizării lor și favorizând prevenirea maladiilor nutriționale. Dovezi în favoarea acestei ipoteze au fost obținute de [44], care au constatat, că la vacile care au primit santochină, în conținutul ruminal a crescut nivelul de caroten și vitamina A.

Acțiunea protectoare a antioxidanților la nivel de tractul digestiv, la rândul său, are impact pozitiv asupra stocării vitaminei A în ficat și menținerii unui nivel mai înalt de caroten și vitamina A în sânge [44, 31, 30]. Creșterea concentrației de acizi grași volatili (cu până la 37 %), față de lotul martor, în conținutul ruminal, poate fi explicată prin aceea, că sub influența antioxidanților, se produce activizarea microflorei și a proceselor fermentative, și datorită acestui fenomen are loc formarea unei cantități mai mari de acești acizi [21].

Această constatare poate servi drept unul din argumentele directe în explicarea mecanismelor de stimulare a capacității productive la această specie de către antioxidanții sintetici, printre care și Diludina. Motivul este acela, că digestia în compartimentele pregastrice,

după cum se exprimă [10], are implicații în toate fenomenele metabolice majore la rumegătoare. Este cunoscut și nu necesită confirmări repetate faptul, că **AGV** formați în rumen sunt implicați în procese metabolice esențiale cum ar fi gluconeogeneza (din acidul propionic), sau sinteza grăsimii din lapte (acidul acetic).

Alte cercetări, ne vorbesc la fel despre efectele pozitive la prima etapă a digestiei, prin micșorarea consumului de proteină digestibilă, de unități nutritive și de substanță uscată [24], inclusiv a grăsimii și celulozei brute din rație, cât și în balanța azotului și a metabolismului energetic la tăurași [43] și la vaci [32] care au primit Diludină.

4.1.2. Profilul metabolic și indicii eritronului

Indicii profilului metabolic au fost determinați în serul sanguin, în experiența „C” la începutul și sfârșitul cercetărilor, iar în experiența „D” – în trei reprize, efectuându-se, astfel și o investigație intermediară. De menționat, că în dinamica profilului metabolic, în aceste două experiențe s-au observat unele divergențe, care pot fi explicate prin diferența dintre nivelul nutritiv al rațiilor de care au beneficiat vacile din acele două gospodării diferite în care s-au efectuat cercetările. Totodată, se profilează și unele tendințe comune, care se datorează, după părerea noastră, includerii antioxidantului Diludină în rația vacilor din loturile experimentale.

Tabelul 4.1.2. Indicii biochimici la vaci în experiența “C” („xx” – $p > 0,05$)

Indicii (norma)	Lotul	Cercetare			
		I (20 zile p/p)		II (140 zile lact.)	
		n	$M \pm m / \ell im$	n	$M \pm m / \ell im$
„xx” Caroten (0,4-1,0 mg/dl)	C ₁ -mart.	6	0,57 ± 0,057 (0,44-0,62)	5	0,49 ± 0,103 (0,34-0,64)
	C ₂ -exper.	7	0,48 ± 0,085 (0,34-0,65)	6	0,57 ± 0,10 (0,39-0,70)
„xx” Proteine totale (72-86 g/L)	C ₁ -mart.	6	77,7 ± 3,86 (70-81,6)	4	87,4 ± 2,90 (81,6-93,2)
	C ₂ -exper.	7	72,5 ± 4,51 (64,1-81,6)	6	83,5 ± 4,51 (75,8-93,2)
„xx” Rezerva alcalină (46-66 % CO ₂)	C ₁ -mart.	5	49,78 ± 13,8 (34-68)	5	42,6 ± 5,32 (35,8-53,7)
	C ₂ -exper.	6	44,8 ± 8,30 (34,0-57,3)	5	42,3 ± 9,84 (32,3-55,5)
„xx” Calciu total (9,7-12,5 mg/dl)	C ₁ -mart.	6	10,4 ± 0,41 (10,0-11,0)	5	11,0 ± 1,0 (9,5-12,5)
	C ₂ -exper.	7	10,5 ± 1,0 (9,5-12,0)	7	10,25 ± 0,41 (9,5-11,0)
„xx” Fosfor neorganic (5,6-6,5 mg/dl)	C ₁ -mart.	6	5,41 ± 0,41 (5,0-6,0)	5	5,3 ± 0,36 (5,0-6,0)
	C ₂ -exper.	5	5,6 ± 0,16 (5,5-6,0)	6	5,91 ± 0,13 (5,5-6,0)

Drept confirmare, servește faptul că în experiența „C” mediile a cinci parametri biochimici determinați, variază în limitele valorilor de referință, atât la prima cât și la a doua cercetare, ceea ce în linii mari vorbește despre nivel nutritiv satisfăcător al rației. Însă, nu este de neglijat și faptul că totodată, atât la vacile din lotul martor, cât și la cele din lotul experimental, valorile individuale ale unor indici sunt situate sub limita de referință (tab. 4.1.2.).

Tabelul 4.1.3. Profilul metabolic la vaci în experiența “D” („xx” – $p > 0,05$)

Indicii (norma)	Lotul	Cercetare					
		I (40 zile a/p)		II (7 zile p/p)		III (60 zile lact.)	
		n	$M \pm m / \lim$	n	$M \pm m / \lim$	n	$M \pm m / \lim$
Caroten (0,4-1,0 mg/dl)	D ₁	6	0,179 ± 0,013 (0,15-0,2)	9	0,250 ± 0,027 (0,225-0,3)	7	0,135 ± 0,019 (0,10-0,175)
		„xx”		$p_{D1(I-II)} < 0,05$		$p_{D1(II-III)} < 0,01$	
	D ₂	6	0,175 ± 0,008 (0,15-0,20)	8	0,237 ± 0,012 (0,225-0,250)	7	0,142 ± 0,020 (0,125-0,175)
		„xx”		$p_{D2(I-II)} < 0,01$		$p_{D2(II-III)} < 0,01$	
„xx” Proteine totale (72-86 g/L)	D ₁	6	71,21 ± 2,51 (64,5-75,9)	9	60,78 ± 6,01 (50,3-70,4)	7	66,54 ± 4,72 (59,2-71,5)
	D ₂	6	71,36 ± 2,28 (64,5-73,6)	8	62,51 ± 5,28 (52,5-70,4)	7	64,42 ± 4,97 (59,2-71,5)
„xx” Rezerva alcalină (46-66 %CO ₂)	D ₁	6	37,16 ± 3,43 (31,4-43)	9	45,72 ± 5,49 (37,6-60,9)	7	37,32 ± 5,34 (31,3-51,9)
	D ₂	6	40,90 ± 5,36 (31,4-49,3)	8	47,46 ± 4,27 (41,2-60,9)	7	37,84 ± 4,71 (31,3-51,9)
„xx” Calciu total (9,7-12,5 mg/dl)	D ₁	6	10,50 ± 0,50 (10,0-11,5)	9	10,50 ± 0,55 (10,0-11,5)	7	10,85 ± 0,59 (10,0-12,0)
	D ₂	6	10,75 ± 0,41 (10,0-11,5)	8	11,0 ± 0,50 (10,5-12,0)	7	11,71 ± 0,75 (10,5-13,0)
Fosfor neorganic (5,6-6,5 mg/dl)	D ₁	6	7,31 ± 0,51 (6,8-8,0)	9	5,56 ± 0,57 (4,5-6,5)	7	4,24 ± 0,79 (3,55-6,0)
		$p_{D1(I-III)} < 0,01$		$p_{D1(I-II)} < 0,05$		„xx”	
	D ₂	6	7,35 ± 0,48 (6,5-8,0)	8	5,56 ± 0,53 (5,0-6,5)	7	4,28 ± 0,53 (3,5-5,5)
		$p_{D2(I-III)} < 0,01$		$p_{D2(I-II)} < 0,05$		„xx”	

Referitor la dinamica parametrilor metabolici în experiența “D”, se poate menționa decalajul accentuat al valorilor medii față de datele de referință, exprimat prin nivel mai scăzut al carotenului pe parcursul întregii perioade de cercetare, tendința de menținere la nivelul minim a proteinelor totale și variația pronunțată a fosforemiei, care inițial era peste nivelul maximal, ca apoi să ajungă sub nivelul referințelor. Acest tablou vorbește despre nivelul nutritiv

nesatisfăcător al rației de care au beneficiat animale din această gospodărie în perioada investigațiilor (tab. 4.1.3.).

Totodată, trebuie de menționat, că în dinamica indicilor metabolici în aceste două experiențe au fost consemnate și tendințe asemănătoare exprimate prin menținerea către sfârșitul cercetărilor a unor valori mai mari ale conținutului de caroten și de fosfor în ser la loturile experimentale (**D₂** și **C₂**), comparativ cu loturile martor (tab. 4.1.2. și 4.1.3.), fără a înregistra semnificație statistică ($p > 0,05$).

Date referitoare la acțiunea Diludinei și a altor antioxidanți în următoarele etape ale metabolismului sunt aduse de mai mulți autori, care au stabilit că la viței, sub acțiunea Diludinei are loc o diminuare a cantității de lipide totale și de colesterol în ficat și în serul sanguin. Sub acțiunea santochinei la vaci s-a constatat creșterea cantității de proteine totale pe contul fracției albuminelor și beta-globulinelor, iar la vacile care au primit santochină și vitamina E în serul sanguin s-au constatat niveluri mai mari de fosfor neorganic, magneziu total, glucoză și diminuarea activității fosfatazei alcaline [45]. La fel, se menționează ameliorarea fonului metabolic - exprimat prin creșterea rezervei alcaline, a carotenului și fosforului anorganic în ser la vacile care au primit Diludină în combinație cu Se, vitamina A și E în sezonul de iarnă – primăvară [32].

În experiențele noastre au fost consemnate tendințe asemănătoare în dinamica indicilor metabolici la vaci. Astfel, rezultatele obținute în experiența „**D**” și „**C**”, arată influența pozitivă, deși nesemnificativă ($p > 0,05$), a Diludinei asupra cantității de caroten, calciu total și fosfor neorganic în serul sanguin la vacile din loturile experimentale **D₂** și **C₂** (tab. 4.1.2. și 4.1.3.). De menționat, însă, că la animalele din experiența „**D**” s-au constatat niveluri mai joase decât limitele de referință ale carotenului și proteinelor totale, ceea ce reflectă nivelul nutritiv insuficient al rației cu care au fost hrănite animalele în acea perioadă.

În experiența „**C**” valorile indicilor metabolici s-au aflat în limitele fiziologice, fiind dovadă a unui nivel nutritiv satisfăcător al rației administrate. Necâtând, la diferența menționată, privitor la valoarea nutritivă a rațiilor din cele două experiențe, în loturile experimentale (**D₂** și **C₂**) s-au constatat valori mai mari ale cantității de **caroten** la sfârșitul experienței. Prin urmare, cercetările noastre, confirmă rezultatele obținute de [32] și alți autori menționați mai sus, conform cărora Diludina asigură menținerea unui nivel mai înalt de caroten în sânge la vacile care au primit acest preparat.

Cantitatea de fosfor neorganic în ambele experiențe scade comparativ cu nivelul constatat la începutul lactației, ajungând în apropierea limitei inferioare. Dar, și în acest caz la loturile experimentale se constată un nivel ceva mai înalt – cu 4,1 % la lotul **D₂** și cu 7,2 % la lotul **C₂** -

comparativ cu cele martor (**D₁** și **C₁**). Nivelul de calciu către sfârșitul experienței nu a suferit schimbări esențiale, deși se poate contura aceeași tendință de creștere la loturile experimentale (tab. 4.1.2. și 4.1.3.).

Indicii eritronului, în experiența „C” au fost determinați la începutul și sfârșitul cercetărilor, iar în experiența „D” – în patru reprize. De menționat, că în dinamica eritronului s-au observat unele tendințe comune pentru ambele experiențe descrise.

Datele obținute în experiența „D” sunt prezentate în tab. 4.1.4.. După cum se vede din tabel, la prima investigație indicii eritronului (**Ht**, **Hb** și **eritrocite**), la ambele loturi se aflau în limitele fiziologice. Diferență dintre valorile medii inițiale ale lotului **D₁** (martor) și **D₂** (experimental) este neînsemnată și variază de la 0,3 % până la cca. 2,0 %.

Tabelul 4.1.4. Indicii eritronului la vaci în experiența “D” („xx” – $p > 0,05$)

Cercetare	Lotul	Indicii					
		Ht (%)		Hb (g/l)		Eritrocite ($\times 10^{12}/l$)	
		n	$M \pm m / \lim$	n	$M \pm m / \lim$	n	$M \pm m / \lim$
I ^(xx) (40 zi a/p)	D₁	6	$33,8 \pm 1,16$ (32-35)	6	$116 \pm 9,33$ (102-130)	6	$5,45 \pm 0,20$ (5,1-5,8)
	D₂	6	$33,7 \pm 2,0$ (30-37)	6	$118,3 \pm 8,22$ (102-128)	6	$5,4 \pm 0,50$ (4,0-6,2)
II (7 zi p/p)	D₁	5	$28,2 \pm 1,44$ (26-31)	5	$114,6 \pm 5,68$ (105-120)	5	$4,12 \pm 0,14$ (3,9-4,3)
		$P_{D1(I-II)} < 0,05$		xx		$P_{D1(I-II)} < 0,001$	
	D₂	5	$29,2 \pm 1,84$ (24-31)	5	$117,2 \pm 6,88$ (100-130)	5	$3,98 \pm 0,15$ (3,6-4,2)
		xx		xx		$P_{D2(I-II)} < 0,05$	
III (30 zi p/p)	D₁	4	$29,5 \pm 2,5$ (27-33)	4	$112,0 \pm 8,0$ (96-120)	4	$3,97 \pm 0,42$ (3,2-4,5)
		xx		xx		$P_{D1(I-III)} < 0,05$	
	D₂	5	$28,6 \pm 1,92$ (27-32)	5	$112,0 \pm 11,2$ (90-140)	5	$4,14 \pm 0,44$ (3,6-5,1)
IV (60 zi lactație)	D₁	7	$29,6 \pm 2,17$ (24-35)	7	$107,0 \pm 7,14$ (94-126)	7	$5,46 \pm 0,22$ (5,2-6,1)
		xx		xx		$P_{D1(II-IV)} < 0,001$ $P_{D1(III-IV)} < 0,05$	
	D₂	7	$30,1 \pm 2,64$ (25-36)	7	$112,3 \pm 11,7$ (96-134)	7	$5,5 \pm 0,27$ (5,1-6,2)
		xx		xx		$P_{D2(II-IV)} < 0,001$ $P_{D2(III-IV)} < 0,05$	

La investigațiile următoare, a doua (7 zile post-partum) și a treia (30 zile post-partum) se constată o scădere continuă a valorilor eritronului la ambele loturi în comparație cu nivelul

inițial, urmate de sporirea acestora la cercetarea a IV (60 zile de lactație). Această dinamică este comună pentru toți trei indici, fiind mai pronunțată pentru hematocrit și numărul de eritrocite, care la cercetările II și III ajung să coboare până sub limita inferioară de referință. Această situație este rezultatul actului fiziologic de parturiție urmat de posibile hemoragii declanșate, dar și distrugerii eritrocitelor sub acțiunea factorilor de stres oxidativ.

De menționat, că diminuarea valorilor eritronului la cercetarea a II, față de nivelul inițial, este aproximativ aceeași la ambele loturi și se exprimă la lotul experimental (**D₂**) prin scăderea numărului de eritrocite cu 27,8 %, a hemoglobinei cu 1,0 %, și a hematocritului cu 13,4 %, iar pentru lotul martor (**D₁**), diferență pentru aceeași perioadă atinge valorile de 24,5 %, 1,3 % și 16,6 %, respectiv.

La cercetarea a III (30 zile post-partum) scăderea eritronului continuă, astfel încât diferența față de valorile inițiale (cercetarea I) ajunge să constituie la lotul **D₁** după numărul de eritrocite 27,2 %, după conținutul de hemoglobină 3,5 %, și după valoarea hematocritului 12,8 %, pe când la lotul **D₂** diferența este de 23,4 %, 5,4 % și 15,2 %, respectiv (tab. 4.1.4.).

La cercetarea a IV valorile medii ale eritronului atât la lotul **D₁**, cât și la lotul **D₂**, înregistrează o creștere față de nivelul precedent (III), ajungând la valori ale numărului de eritrocite ce le depășesc pe cele inițiale cu 0,2 % și 1,8 %, respectiv, iar valorile **Hb**-ei și **Ht**-lui, deși la fel au crescut, rămân totuși la un nivel puțin mai scăzut decât cel inițial cu 7,8 % și 12,5 %, sau 5,1 % și 10,7 %, la loturile respective.

Reeșind din datele expuse, se poate constata că, deși în perioada cercetărilor dinamica eritronului la vacile din loturile **D₁** și **D₂** a fost similară, totuși la lotul de vaci care au primit ca supliment furajer Diludină, se constată o influență pozitivă a preparatului, exprimată la ultima cercetare și prin valori medii puțin mai ridicate ale numărului de eritrocite cu 0,7 %, a Hb cu 4,9 % și a Ht cu 1,7 %, comparativ cu lotul martor ($p > 0,05$).

Rezultate parțial similare în dinamica indicilor eritronului s-au obținut și în cea de a doua experiență, privind testarea Diludinei la vacile în lactație. De exemplu, la ambele loturi din experiența „C” (tab. 4.1.5.), la sfârșitul experienței (a patra lună de lactație) s-a stabilit diminuarea **Ht**-lui față de nivelul constatat la 14 zile după fătare, cu 6,4 % la lotul **C₁** și cu 7,7 % la lotul **C₂**. De menționat, însă, că conținutul de hemoglobină la lotul martor, a scăzut cu 4,6 %, iar la lotul experimental a crescut cu 2,5 %, pe când numărul de eritrocite a sporit la ambele loturi cu 1,9 % și 1,8 %, respectiv. Prin urmare, dinamica indicilor eritronului, în special, a Ht și numărului de eritrocite este similară, pentru loturile **C₁** și **C₂**, dar nu și identică pentru ambii parametri, fără a înregistra diferențe elocvente dintre loturi, iar dinamica conținutului de Hb

poartă o tendință evident pozitivă la lotul de vaci care au primit Diludină, deși, fără a avea o autenticitate statistică ($p > 0,05$).

Tabelul 4.1.5. Indicii eritronului la vaci în experiența ”C” („xx” – $p > 0,05$)

Indicii	Lotul	Cercetare			
		I		II	
		n	$M \pm m / \ell im$	n	$M \pm m / \ell im$
„xx” Ht (%)	C₁-mart.	8	$36,0 \pm 3,75$ (30-44)	7	$33,7 \pm 2,24$ (31-39)
			$p_{C_1(I-II)} > 0,05$		$C_1(I \rightarrow II) \downarrow 6,4\%$
	C₁↔C₂		$C_2 > 1,7\%$; $p_{(C_1-C_2)} > 0,05$		$C_2 > 0,3\%$; $p_{(C_1-C_2)} > 0,05$
	C₂-exp.	8	$36,6 \pm 3,28$ (32-43)	7	$33,8 \pm 1,10$ (30-36)
			$p_{C_2(I-II)} > 0,05$		$C_2(I \rightarrow II) \downarrow 7,7\%$
„xx” Hb (g/l)	C₁-mart.	8	$114,0 \pm 9,0$ (100-128)	7	$108,8 \pm 7,83$ (98-134)
			$p_{C_1(I-II)} > 0,05$		$C_1(I \rightarrow II) \downarrow 4,6\%$
	C₁↔C₂		$C_2 < 0,3\%$; $p_{(C_1-C_2)} > 0,05$		$C_2 > 6,7\%$; $p_{(C_1-C_2)} > 0,05$
	C₂-exp.	8	$113,7 \pm 7,18$ (104-126)	7	$116,6 \pm 14,2$ (92-142)
			$p_{C_2(I-II)} > 0,05$		$C_2(I \rightarrow II) \uparrow 2,5\%$
„xx” Eritrocite ($\times 10^{12}/l$)	C₁-mart.	8	$5,22 \pm 0,35$ (4,5-5,7)	7	$5,32 \pm 0,25$ (4,8-5,8)
			$p_{C_1(I-II)} > 0,05$		$C_1(I \rightarrow II) \uparrow 1,9\%$
	C₁↔C₂		$C_2 < 1,8\%$; $p_{(C_1-C_2)} > 0,05$		$C_2 < 1,9\%$; $p_{(C_1-C_2)} > 0,05$
	C₂-exp.	8	$5,13 \pm 0,24$ (4,7-5,6)	7	$5,22 \pm 0,21$ (4,75-5,77)
			$p_{C_2(I-II)} > 0,05$		$C_2(I \rightarrow II) \uparrow 1,8\%$

În acest context, este important de menționat că la lotul de vaci care au primit Diludină diminuarea valorilor eritronului este mai puțin pronunțată decât la lotul martor. Prin urmare, antioxidantul utilizat a avut efect pozitiv asupra procesului de eritropoieză. Rezultatele obținute de noi coincid cu datele prezentate de [32], care a constatat sporirea numărului de eritrocite și a concentrației de hemoglobină la vacile care au primit Diludină în combinație cu alți antioxidanți.

4.1.3. Indicii sistemului antioxidant

În experiențele consacrate testării Diludinei - produs antioxidant sintetic, paralel cu indicii eritronului a fost apreciată și dinamica unor indici care caracterizează starea sistemului antioxidant. Ținând cont, că eritrocitele prin esența funcției lor sunt expuse contactului permanent cu concentrații mari de oxigen și că membranele lor sunt vulnerabile la acțiunea oxidativă, datorită conținutului mare în fosfolipide polinesaturate [13], a fost important de a urmări dinamica unor indici ai sistemului antioxidant în eritrocite și în serul sanguin, pe fondul administrării Diludinei.

Din datele prezentate în tabelul 4.1.6. se observă că rezistența peroxidică a lipidelor eritrocitare (**RPLE**), pe parcursul a trei investigații a fost în limitele de referință caracteristice pentru specia dată [20]. La prima investigație (până la parturiție) s-a constatat că acest indice este mai înalt cu 9,6 % la lotul martor (**D₁**) și această tendință se menține pe tot parcursul experienței. La a doua cercetare (7 zile post-partum) diferența dintre loturi crește, ajungând la 13,9 %. În paralel, are loc creșterea acestui indice față de valoarea inițială cu 29,5 % la lotul martor și cu 24,6 % la lotul experimental (**D₂**).

La a treia investigație indicele **RPLE** se menține la fel mai înalt, comparativ cu nivelul inițial și ajunge la valori aproximativ egale la ambele loturi, cu diferență minimală de numai 1,7 %. La ultima investigație (IV) nivelul **RPLE** scade la ambele loturi, față de nivelul anterior (III), dar rămânând a fi mai înalt decât cel inițial cu 20 % la lotul **D₁** și cu 25,8 % la **D₂**, instalându-se, totodată o diferență dintre loturi egală cu 4,5 %.

Tabelul 4.1.6. Influența Diludinei asupra indicilor **SAO** la vaci (exp. “**D**”); („xx” – $p > 0,05$)

Cercetare	Lotul	Indicii					
		RPLE (u.c.)		Catalaza în ser (mkat/l)		DAM în ser (nmol/ml)	
		n	M ± m /lim	n	M ± m /lim	n	M ± m /lim
I ^(xx) (40 zi a/p)	D ₁	5	46,8 ± 3,8 (42-58)	5	47,68 ± 4,43 (39,9-58,6)	5	1,64 ± 0,13 (1,34-1,98)
	D ₂	6	42,7 ± 6,88 (32-51)	6	49,39 ± 3,97 (39,9-56,6)	6	1,71 ± 0,13 (1,47-1,98)
II (7 zi p/p)	D ₁	6	60,6 ± 4,32 (56-67)	6	113,1 ± 23,3 (73,2-149,8)	5	2,34 ± 0,26 (1,97-2,81)
		$p_{D1(I-II)} < 0,05$		$p_{D1(I-II)} < 0,05$		$p_{D1(I-II)} < 0,05$	
	D ₂	7	53,2 ± 7,44 (43-70)	7	112,4 ± 17,4 (83,2-139,8)	7	2,04 ± 0,17 (1,66-2,29)
		xx		$p_{D2(I-II)} < 0,01$		xx	
III (30 zi p/p)	D ₁	5	59,5 ± 5,0 (52-69)	5	111,5 ± 14,9 (93,24-133,2)	4	2,10 ± 0,12 (1,87-2,29)
		xx		$p_{D1(I-III)} < 0,01$		$p_{D1(I-III)} < 0,05$	
	D ₂	5	58,5 ± 7,75 (52-74)	4	101,5 ± 32,4 (73,2-166,5)	4	1,87 ± 0,37 (1,27-2,61)
IV (60 zi lactație)	D ₁	6	56,2 ± 10,8 (37-77)	5	60,6 ± 10,4 (39,96-86,58)	7	1,67 ± 0,14 (1,44-1,87)
		xx		$p_{D1(III-IV)} < 0,05$		$p_{D1(III-IV)} < 0,05$; $p_{D1(III-IV)} < 0,05$	
	D ₂	7	53,7 ± 9,95 (41-68)	5	69,93 ± 13,3 (46,62-96,57)	6	1,62 ± 0,13 (1,44-1,87)

Activitatea catalazei (**CAT**) în ser la loturile **D₁** și **D₂** (I investigație) este aproximativ la același nivel, diferența fiind de 3,5 %. La cea de a doua investigație s-a constatat o creștere pronunțată a activității acestei enzime: la lotul martor cu 137,2 %, iar la cel experimental cu 137,5 %. La a treia și a patra investigație activitatea catalazei s-a diminuat față de investigația a doua, dar a rămas mai ridicată decât valoarea inițială. Astfel, la cercetarea finală la lotul **D₁** nivelul **CAT** este cu 21,1 %, iar la lotul **D₂** - cu 41,6 % mai mare decât cel inițial (cercetarea I).

Conținutul de dialdehidă malonică (**DAM**) în ser are o dinamică asemănătoare cu cea a indicilor precedenți prin aceea, că după parturiție se constată o creștere a conținutului acestuia, iar spre sfârșitul experienței are loc diminuarea până la nivelul inițial. După cum se vede din tabel 4.1.6. la începutul experienței cantitatea de **DAM** la lotul martor este cu 4,3 % mai joasă decât la cel experimental. La a doua cercetare cantitatea acestui produs în ser crește la lotul **D₁** cu 42,7 %, iar la **D₂** cu 19,3 % față de inițial. La finele experienței acest indice scade aproximativ până la valorile inițiale, dar la lotul martor se dovedește a fi cu 1,8 % mai înalt, iar la lotul experimental cu 5,3 % mai scăzut decât nivelul inițial. Diferența dintre loturi la a patra cercetare este de 3,1 % ($p > 0,05$).

În tabelul 4.1.7. sunt prezentați indicii **SAO** determinați la vacile din experiența „C”, la începutul (10-20 zile de la fătare) și la sfârșitul ei (130-140 zile de lactație). Din tabel se vede, că **RPE** la ambele loturi, este exprimată printr-un procent de hemoliză mai mare în debutul lactației, față de valoarea obținută la sfârșitul experienței. Această situație reflectă faptul, că în perioada de post-parturiție rezistența eritrocitelor la peroxidare, a fost mai joasă comparativ cu indicele constatat, în perioada de lactație avansată (4-5 luni). De menționat, că procentul de hemoliză la a doua investigație scade de 5,9 ori la lotul **C₁** ($P_{C1(I-II)} < 0,01$) și de 5,7 ori la lotul **C₂** ($P_{C2(I-II)} < 0,001$), față de valoarea inițială. Diferența dintre loturi este neînsemnată, atât la prima, cât și la cea de a doua cercetare, fiind egală cu 4,6 % și 8,3 %.

Referitor la dinamica **CAT** și **DAM** în ser se observă, că este asemănătoare cu cea a **RPE**, - adică, după parturiție valorile acestor indici s-au dovedit a fi mai înalte, decât cele înregistrate la a doua cercetare (140 zile de lactație). La lotul **C₁** activitatea **CAT** s-a diminuat cu 31,9 %, iar cantitatea de **DAM** - cu 33,1 %, față de valorile inițiale, pe când la lotul **C₂** a scăzut cu 48,6 % și 30,88 % ($P_{C2(I-II)} < 0,05$), respectiv. Diferența dintre loturi la cea de a doua cercetare este de 24,7 % după activitatea **CAT** și de 6,3 % după conținutul de **DAM** ($P_{C1-C2} > 0,05$) (tab. 4.1.7.).

Dinamica activității **CAT** și cantității de **DAM** în eritrocite (tab. 4.1.7.), spre deosebire de dinamica valorilor din ser, a înregistrat o creștere la a doua cercetare. Din tabel se vede, că la sfârșitul experienței activitatea **CAT** în eritrocite a sporit cu circa 13,3 % la lotul **C₁** și cu circa

32,7 % la lotul **C**₂, iar cantitatea de **DAM** în eritrocite ajunge să fie mai înaltă cu 4,2 % și 0,7 %, respectiv, față de prima cercetare. Diferența dintre loturi, după activitatea catalazei în eritrocite la prima cercetare este de 18,8 %, iar la a doua scade până la 1,5 %; după cantitatea de **DAM** diferența este mai puțin pronunțată, având valori de 3 % și 0,3 %, respectiv ($P_{C_1-C_2} > 0,05$, pentru ambii indici).

Tabelul 4.1.7. Influența Diludinei asupra indicilor **SAO** la vaci (exp. “**C**”); („xx” – $p > 0,05$)

Indicii	Lotul	Cercetare			
		I		II	
		n	$M \pm m / \ell_{im}$	n	$M \pm m / \ell_{im}$
RPE (%)	C ₁	6	5,7 ± 1,13 (4,0-7,7)	7	0,96 ± 0,32 (0, 59-1,72)
		$P_{C_1(I-II)} < 0,01$			
	C ₂	9	5,96 ± 0,65 (4,5-7,3)	7	1,04 ± 0,23 (0,52-1,41)
		$P_{C_2(I-II)} < 0,001$			
^(xx) CAT în ser (mkat/l)	C ₁	7	102,5 ± 20,3 (57,2-129,2)	7	69,9 ± 29,4 (33,3-123,2)
	C ₂	7	102,5 ± 20,3 (57,2-129,2)	6	52,7 ± 19,61 (19,98-99,9)
^(xx) CAT în eritrocite (mkat/ml masă eritr.)	C ₁	7	90,7 ± 15,3 (66,6-143,8)	7	102,8 ± 12,9 (74-122,5)
	C ₂	7	76,3 ± 9,04 (63,93-90,57)	7	101,3 ± 16,08 (74,6-130,5)
DAM în ser (nmol/ml)	C ₁	6	3,88 ± 0,59 (2,61-4,94)	8	2,56 ± 0,16 (2,29-2,98)
	C ₂	5	3,94 ± 0,17 (3,67-4,2)	7	2,73 ± 0,38 (1,66-3,46)
		$P_{C_2(I-II)} < 0,05$			
^(xx) DAM în eritrocite (nmol/ml masă eritr.)	C ₁	6	158,4 ± 5,89 (151,1-170,2)	7	165,0 ± 11,08 (142,6-185,04)
	C ₂	7	163,2 ± 8,12 (146,9-172,3)	7	164,4 ± 11,42 (129,9-185,04)

Urmărind dinamica indicilor sistemului antioxidant în experiența “**D**” (tab. 4.1.6.) s-a constatat, că în perioada de după parturiție (7 zile) la vaci se micșorează rezistența peroxidică a lipidelor eritrocitare (**RPLE**), crește activitatea catalazei (**CAT**) și cantitatea de **DAM** în ser, comparativ cu nivelurile din perioada repausului mamar (fig. 4.1.4., 4.1.5. și 4.1.6.). Iar, către sfârșitul experienței (60-75 zile de lactație) indicele **RPLE** a crescut, iar activitatea catalazei și cantitatea de **DAM** în ser s-a diminuat la ambele loturi. Dinamică acestor indici demonstrează faptul, ca în perioada de după fătare, în organismul femelelor se produce intensificarea

proceselor de peroxidare [61]. Această stare treptat este depășită odată cu acomodarea organismului la noile cerințe metabolice.

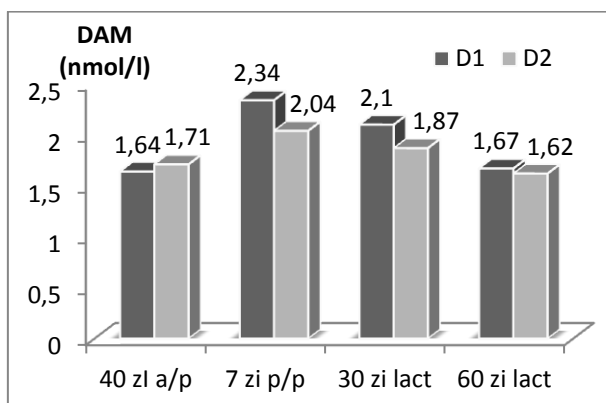


Fig. 4.1.4. Dinamica DAM în ser (exp. „D”)

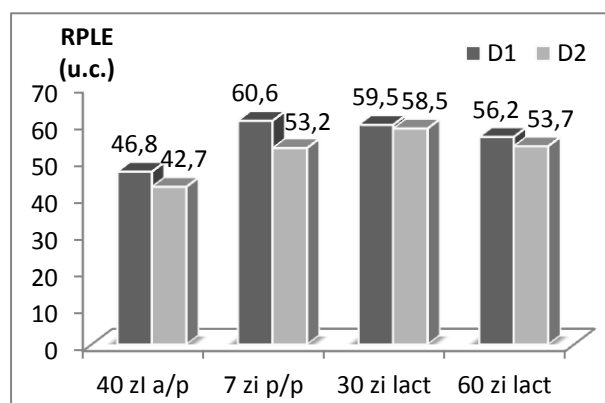


Fig. 4.1.5. Dinamica RPLE (experiența „D”)

Totodată, la lotul **D₂** s-a constatat acțiunea pozitivă a Diludinei asupra indicilor **SAO** exprimată prin nivel mai scăzut de **DAM** și a activității catalazei în plasmă la a doua și la a treia cercetare, fapt ce confirmă diminuarea proceselor de peroxidare la vacile din acest lot.

Acțiunea pozitivă a Diludinei asupra indicilor care caracterizează starea **SAO** a fost constatată și de [32]₂ care afirmă că la vacile care au primit acest preparat a crescut rezistența eritrocitelor la hemoliză și cantitatea de glutatيون redus, unul din cei mai importanți antioxidanți care asigură protecția antiperoxidică a celulelor.

În experiența „C” (tab. 4.1.7.), care a cuprins primele patru luni de lactație, s-a constatat dinamică asemănătoare a indicilor **SAO**, ca și în experiența „D”. Procentul de hemoliză a eritrocitelor (**RPE**) și cantitatea de **DAM** în plasmă au fost mai mari la 14 zile după fătare, comparativ cu valorile constatate la a doua cercetare efectuată peste 120 zile. Următorii doi indici – activitatea catalazei (**CAT**) și cantitatea

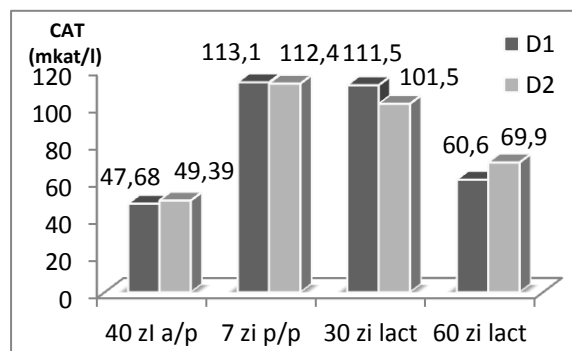


Fig. 4.1.6. Dinamica CAT în ser (exp. „D”)

de primii, au înregistrat la a doua cercetare o creștere a valorilor fapt ce poate fi interpretat ca rezultat al activizării metabolismului, inclusiv și în eritrocite, necesar pentru menținerea producției de lapte.

Referitor la acțiunea Diludinei asupra indicilor statusului antioxidant, care rezumă din aceste două experiențe „C” și „D”, se poate menționa influența pozitivă a remediului asupra dinamicii **CAT** în ser și **DAM**, dar nu și asupra markerilor **RPE** și **RPLE**.

Prin urmare, în cadrul experiențelor “C” și “D” s-a efectuat monitorizarea acțiunii antioxidantului sintetic Diludină, inclus în hrană la vaci în perioada de tranziție și primele luni de lactație, asupra parametrilor statusului antioxidant, de rând cu aprecierea indicilor clinici, ai eritronului și ai profilului metabolic. Rezultatele obținute în aceste două experiențe reflectă activizarea proceselor de peroxidare la vaci în perioada de postparturiție și capacitatea antioxidantului sintetic Diludină de a fortifica mecanismele de protecție antioxidantă și de a optimiza capacitatea funcțională a statusului antioxidant al organismului.

4.2.Utilizarea premixului mineralo-vitaminic pentru debutul lactației (experiența „F”)

Cercetarea dată a avut durată de 90 zile și s-a efectuat pe două loturi de vaci (F_1 – martor și F_2 - experimental) a câte 5 în fiecare, aflate în prima perioadă de lactație (de la 14 până la 105 zile).

Premixul mineralo-vitaminic pentru vaci în perioada de lactație timpurie, a fost preparat conform rețetei care includea o serie de elemente biologice active, precum oligoelementele cupru (Cu), zinc (Zn), cobalt (Co), iod (I) și seleniu (Se) – în formă de compuși anorganici, vitaminele A, D, E și aminoacidul metionina.

Încluderea premixului în proporție de 3 % în componența nutrețului combinat, la vacile din lotul F_2 (experimental), s-a făcut cu scopul de a echilibra rația, inclusiv și după unele componente cu proprietăți antioxidative cum este Se, Cu, Zn, vitamina E și A, și metionina. Spre deosebire, lotul F_1 (martor) a beneficiat de rație balanțată doar după ingredientii de bază (proteine, glucide, macrominerale etc.).

Pentru aprecierea eficienței premixului a fost monitorizată starea clinică, producția de lapte, dinamica indicilor eritronului, a profilului metabolic și statusul antioxidant.

Aprecierea statusului antioxidant s-a efectuat prin determinarea mai multor indici-markeri în plasmă și în eritrocite: activitatea antioxidantă totală (**AAT**), activitatea oxidativă totală (**AOT**), conținutul de hidroperoxizi lipidici (**HPL**) și conținutul de dialdehidă malonică (**DAM**).

4.2.1. Starea clinică și productivitatea

Pe parcursul experienței, efectuând-se inspectarea zilnică a animalelor, s-a constatat, că starea clinică a vacilor, din ambele loturi, a fost satisfăcătoare. Ele manifestau un comportament adecvat situației, zilnic consumau sortimentul de nutrețuri incluse în rație, iar așa procese fiziologice ca rumegarea, defecarea, micțiunea etc., au decurs fără a fi observate oarecare modificări.

Conform datelor, obținute în urma monitorizării productivității de lapte, expuse în tabelul 4.2.1., se poate constata, că la ambele loturi acest parametru a crescut progresiv, înregistrând valori maxime în ultima decadă a experienței (80-90 zile).

La începutul experienței cantitatea medie de lapte obținută la prima mulsoare de control a fost aproximativ aceeași la ambele loturi, cu o diferență de numai 1,3 % în favoarea lotului experimental F_2 . Efectul pozitiv, asupra potențialului productiv s-a observat, după primele 20 zile de administrare a premixului, prin aceea, că la lotul experimental s-a constatat sporirea cantității de lapte, față de prima decadă cu 18,8 %, pe când la lotul martor, a rămas la același nivel, iar

diferența dintre loturi a ajuns să fie de 23,7%, ($p > 0,05$). Acest raport, privind cantitatea de lapte obținut în favoarea lotului experimental, se menține până la sfârșitul experienței, cu o ușoară scădere a diferenței dintre loturi, care la ultima mulsoare de control a constituit 9,8 %, în favoarea aceluiași lot **F**₂.

Totodată, trebuie de menționat, că la finele experienței (decada IX) producția zilnică de lapte la lotul **F**₂ era mai mare cu 43,6 %, iar la lotul martor (**F**₁), cu 32,4 %, comparativ cu nivelul din prima decadă, ceea ce vorbește despre o sporire mai esențială a potențialului productiv la vacile care au beneficiat de o rație balansată, inclusiv și după conținutul de substanțe cu rol biologic de antioxidanți.

Tabelul 4.2.1. Producția de lapte în experiența “**F**”; („xx” – $p > 0,05$)

Lapte natural pe decadă (kg/zi)	Lotul				F ₁ ↔ F ₂
	„xx” F ₁ (martor)		„xx” F ₂ (experim.)		
	n	M ± m/lim	n	M ± m/lim	
I	5	15,84 ± 2,56 (11,8 – 22,1)	5	16,04 ± 2,67 (12,5-19,0)	F ₂ > 1,3 %
II	5	15,4 ± 1,20 (13,6 –18,1)	5	19,06 ± 2,74 (12,2 – 22,6)	F ₂ > 23,7 %
III	5	16,84 ± 1,62 (15,5 – 20,9)	5	20,7 ± 2,4 (16,5 – 23,6)	F ₂ > 22,9 %
IV	5	17,52 ± 1,38 (16,2 – 20,2)	5	21,52 ± 3,26 (15,1 – 27,5)	F ₂ > 22,8 %
V	5	18,38 ± 2,45 (15,5 – 22,5)	5	20,8 ± 4,88 (12,4 – 27,8)	F ₂ > 13,2 %
VI	5	18,58 ± 2,94 (14,4 – 22,3)	5	21,78 ±4,09 (15,9 – 28,4)	F ₂ > 17,2 %
VII	5	18,34 ± 2,11 (14,4 – 22,9)	5	19,82 ± 4,01 (12,7 – 25,1)	F ₂ > 8,1 %
VIII	5	20,32 ± 1,98 (17,5 – 25,0)	5	21,98 ± 3,82 (13,5 – 27,4)	F ₂ > 8,2 %
IX	5	20,98 ± 1,62 (17,6 – 23,0)	5	23,04 ± 2,71 (17,9 – 25,9)	F ₂ > 9,8 %
Media (kg/zi)	18,02 ± 1,56		20,52 ± 2,70		F ₂ > 13,8 %
În 90 zile (kg)	1621,62 ± 140,54		1847,16 ± 242,92		F ₂ > 13,9 %

Astfel, cantitatea de lapte obținut zilnic de la fiecare vacă din lotul experimental a constituit în mediu 20,52 kg, pe când la martor – 18,02 kg; iar cantitatea totală de lapte obținut în mediu de la fiecare vacă, în cele 90 zile de experiență, a constituit la lotul **F**₂ 1847,16 kg, sau cu 13,9 % mai mult, decât la lotul martor (1621,62 kg) ($p > 0,05$).

Prin urmare, includerea premixului mineralo-vitaminic în rația vacilor din lotul **F₂**, a avut efect pozitiv asupra proceselor metabolice, în ansamblu, exprimându-se prin stimularea potențialului productiv al animalelor.

În afară de îmbunătățirea parametrilor productivi, la lotul experimental s-a constatat și ameliorarea funcției de reproducție, care a fost monitorizată și după încheierea administrării premixului mineralo-vitaminic, adică, până la prima inseminare. Astfel, la lotul **F₂**, s-a constatat că durata perioadei de la fătare până la prima montă a fost egală cu 97 zile, iar la cel martor (**F₁**), s-a prelungit până la 182 zile [2].

4.2.2. Indicii hematologici și profilul metabolic

După cum se vede, din tabelul 4.2.2., valorile medii ale indicilor eritronului (dar și cele individuale) variază în limitele normativelor, însă, dinamica acestora, diferă la loturile cercetate (**F₁** și **F₂**). În acest context, se poate menționa, că **Ht**-ul la lotul martor scade cu 3,5 %, comparativ cu nivelul inițial, pe când la cel experimental **Ht**-ul crește cu 4,8 %.

Tabelul 4.2.2. Indicii hematologici la vaci în debutul lactației (exp. „**F**”); („xx” – $p > 0,05$)

Indicii	Cercetarea	Lotul			
		F₁ (martor)		F₂ (experim.)	
		n	M ± m/lim	n	M ± m/lim
„xx” Hematocrit (%)	I	5	36,25 ± 3,75 (30-40)	5	33,33 ± 2,2 (30-35)
	II	5	35,0 ± 2,0 (30-40)	5	35,0 ± 2,0 (30-40)
Hemoglobină (g/l)	I	5	184,21 ± 7,06 (174,8-192,1)	5	171,14 ± 9,33 (169,8-185,1)
	p (I-II)	p < 0,05		„xx”	
	II	5	150,43 ± 9,5 (130,2-163,5)	5	153,80 ± 7,2 (136-164,6)
Eritrocite (x10 ¹² /l)	I	5	7,2 ± 0,08 (7,09-7,31)	5	7,37 ± 0,18 (7,17-7,65)
	p (I-II)	p < 0,05		„xx”	
	II	5	7,55 ± 0,11 (7,28-7,76)	5	7,58 ± 0,08 (7,36-7,7)
„xx” Leucocite (x10 ⁹ /l)	I	5	11,13 ± 1,43 (9,0-14,0)	5	13,25 ± 1,83 (10,5-15,0)
	II	5	12,55 ± 0,74 (11,5-13,5)	5	12,13 ± 0,6 (11,0-13,0)

Dinamica hemoglobinei și numărului de eritrocite are aceeași tendință la ambele loturi, constatându-se micșorarea valorii **Hb**-ei și creșterea numărului de eritrocite la a doua cercetare față de prima. În lotul experimental scăderea **Hb**-ei constituie 10,2 %, iar în cel martor - este mai accentuată și constituie 18,4%.

În cazul eritrocitelor diferența dintre loturi nu este atât de accentuată, comparativ cu conținutul de **Hb**. Astfel, creșterea numărului de eritrocite la lotul martor (**F₁**) constituie 4,7 % iar la cel experimental (**F₂**) 2,8 %.

Dinamica indicilor hematologici reflectă starea satisfăcătoare a hemopoiezei prin menținerea unor valori destul de înalte ale eritronului, la ambele loturi, fapt care confirmă efectul benefic al nutriției balansate în perioadă de debut a lactației. O tendință pozitivă la lotul **F₂**, ceva mai accentuată decât la lotul **F₁**, se observă în dinamica conținutului de hemoglobină (**Hb**), care se menține la nivel mai înalt (cu 2,2 %) ($p > 0,05$).

Valorile medii ale numărului de leucocite nu depășesc limitele de referință nici la unul din loturi. Însă, analizând datele individuale s-a constatat la unele vaci o ușoară leucocitoză la I cercetare care poate fi interpretată ca consecință a posibilelor complicații puerperale.

Prin urmare, atât indicii eritronului cât și numărul de leucocite, având valori destul de înalte, situate în limitele de referință, demonstrează o stare normală a procesului de hemopoieză la ambele loturi de vaci.

Indicii biochimici, care caracterizează profilul metabolic au fost determinați în două reprize. După cum se vede, din tabelul 4.2.3., valorile medii ale acestora nu depășesc limitele de referință.

Cantitatea de proteine totale și albumine au o dinamică similară ce se exprimă prin creșterea lor către a doua cercetare cu 6,6 % și 8,4 % la martor, cu 2,4 % și 5,2 % la lotul experimental. Nivelul de calciu și fosfor la fel se modifică comparativ cu datele inițiale, crescând cu 8,1 % și 23,5,7% la martor, iar la cel experimental scade cu 3,2 % și crește cu 17,0 %, respectiv. Valorile medii ale acestora, după cum se vede din tabel, reflectă un nivel satisfăcător al metabolismului proteic și fosfo-calcic la ambele loturi. Aceste valori exprimă unele tendințe comune, însă fiecare organism posedă particularități individuale, chiar și în condiții similare de întreținere.

În acest context, merită de menționat că, deși nivelul mediu al calciemiei s-a aflat în limitele de referință, la mai multe animale (din ambele loturi) s-a constatat stare de hipocalcemie. Numărul de vaci cu hipocalcemie a constituit la prima cercetare 57 %, iar la cercetarea a doua – 40 %. Aceste date demonstrează, că hipocalcemia subclinică la vacile de lapte, în perioada de debut a lactației are o incidență mare. Faptul respectiv reflectă balanța negativă în metabolismul calciului, cauzată de apetitul scăzut în perioada de postparturiție, cât și de sporirea progresivă a lactogenezei și eliminarea calciului prin lapte.

Activitatea enzimelor **ASAT** și **ALAT** în ser, la ambele loturi înregistrează o creștere, față de datele inițiale, de 1,9 și 1,63 ori – la martor, de 2,1 și 1,62 la lotul experimental, respectiv,

dar care nu depășește limitele de referință. Această dinamică poate fi explicată ca consecință a intensificării metabolismului proteic, menită să asigure necesitățile organismului în perioada de lactație timpurie.

Tabelul 4.2.3. Indicii biochimici la vaci în debutul lactației (exp. „F”); („xx” – $p > 0,05$)

Indicii (norma)	Cercetare	Lotul			
		F ₁ (martor)		F ₂ (experim.)	
		I ↔ II	M ± m/lim	I ↔ II	M ± m/lim
„xx” Proteine totale (58-83 g/l)	I		79,1 ± 6,17 (69,8-88,0)		75,2 ± 2,6 (71,7-77,5)
	II	↑ 6,6%	84,6 ± 1,97 (82,4-87,6)	↑ 2,4%	77,04 ± 6,1 (73,5-83,5)
„xx” Albumine (22-40 g/l)	I		33,76 ± 2,35 (30,7-37,3)		35,1 ± 0,6 (34,2-35,7)
	II	↑ 8,4%	36,6 ± 2,35 (32,6-40)	↑ 5,2%	37,02 ± 1,4 (35,2-38,6)
„xx” Calciu (2,3-2,9 mmol/l)	I		2,16 ± 0,48 (1,6-2,9)		2,5 ± 0,84 (1,2-3,4)
	II	↑ 8,1%	2,35 ± 0,55 (1,7-3,3)	↓ 3,2%	2,42 ± 0,7 (1,3-3,6)
Fosfor (1,8-3,0 mmol/l)	I		1,89 ± 0,13 (1,73-2,05)		2,04 ± 0,08 (1,92-2,16)
	P (I-II)		p < 0,05		„xx”
	II	↑ 23,5%	2,47 ± 0,18 (2,02-2,83)	↑ 7,0%	2,46 ± 0,37 (2,07-3,4)
ASAT (45-110 U/l)	I		32,2 ± 9,2 (18,4-44,2)		32,0 ± 7,0 (21,5-42,0)
	P (I-II)		„xx”		p < 0,05
	II	↑ 1,9 ori	61,75 ± 14,15 (45,7-89,3)	↑ 2,1 ori	67,62 ± 7,51 (52,6-78,4)
„xx” ALAT (6,9-35,3 U/l)	I		8,45 ± 3,45 (2,7-12,1)		11,5 ± 2,73 (8,4-15,6)
	II	↑ 1,6 ori	13,8 ± 1,76 (10,2-16,3)	↑ 1,6 ori	18,7 ± 5,8 (10,0-26,8)

Indicii profilului metabolic determinați în plasmă exprimă nivelul satisfăcător al metabolismului proteic la ambele loturi, fapt, care este confirmat prin valorile medii ale proteinemiei și a fracției albuminice, aflate în apropierea limitei superioare de referință. Creșterea nivelului de proteine și albumine la a doua cercetare este, pe de o parte, dovadă a activizării și stabilizării metabolismului, comparativ cu perioada post-partum, și totodată, confirmă că nutriția vacilor a fost echilibrată și a asigurat pe deplin necesitățile acestora în proteină.

4.2.3. Statusul antioxidant

4.2.3.1. Dinamica activității antioxidante (AAT) și activității oxidante totale (AOT)

Activitatea antioxidantă totală (**AAT**) și activitatea oxidantă totală (**AOT**), sunt indicii care reflectă capacitatea plasmei sanguine de a inhiba procesul de oxidare indusă, sau capacitatea plasmei sanguine de a stimula procesul de oxidare indusă a unui sistem model. Prin urmare, indicele **AAT** și **AOT**, ne arată conținutul sumar în substrat (plasmă sau eritrocite) a compușilor cu proprietăți antioxidante sau prooxidante.

Din tabelul 4.2.4., în care sunt prezentate rezultatele determinării a acestor doi indici, se vede că activitatea antioxidantă totală atât în eritrocite cât și în plasmă a avut o dinamică ascendentă în perioada cercetărilor.

Astfel, indicele **AAT** în plasmă a crescut față de valoarea inițială cu 11,0 % la lotul martor, iar la lotul experimental cu 8,3 %. Dinamică similară se constată și la **AAT** în eritrocite având o creștere cu 18,9 % și 13,3 %, respectiv.

Tabelul 4.2.4. Activitatea antioxidantă și oxidativă totală în sânge (exp. „F”); („xx” – $p > 0,05$)

Indicii	Cercetare	Lotul				$F_1 \leftrightarrow F_2$
		F_1 (martor)		F_2 (experim.)		
		n	$M \pm m/\lim$	n	$M \pm m/\lim$	
„xx” AAT în plasmă (%)	I	4	58,05 ± 4,95 (51,52-63,73)	3	59,09 ± 3,03 (55,25-63,73)	$F_2 > 1,8\%$
	I ↔ II	II > 11,0 %		II > 8,3 %		
	II	5	65,22 ± 3,52 (60,68-70,85)	5	64,4 ±3,63 (56,27-68,13)	$F_2 < 1,3\%$
„xx” AAT în eritrocite (%)	I	4	148,78 ± 10,27 (139,1-155,2)	3	156,3 ± 10,6 (135,4-174,5)	$F_2 > 4,8\%$
	I ↔ II	II > 18,9 %		II > 13,3 %		
	II	5	183,3 ± 11,1 (167,1-202,1)	5	184,5 ± 12,02 (174,4-209,3)	$F_2 > 1,7\%$
„xx” AOT în plasmă (%)	I	4	43,49 ± 3,94 (41,02-45,8)	3	41,55 ± 6,34 (36,9-45,8)	$F_2 < 4,5\%$
	I ↔ II	II > 1,7 %		II > 5.4 %		
	II	5	44,2 ± 4,3 (38,9-47,7)	5	43,9 ± 5,01 (36,1-50,0)	$F_2 < 0,7\%$

Activitatea oxidativă totală (**AOT**) în plasmă la fel înregistrează o dinamică ascendentă, față de valoarea inițială, la lotul martor cu 1,7 % și 5,4 % la lotul experimental. Prin urmare, din aceste date se conturează o tendință similară în dinamica indicilor **AAT** și **AOT** în plasmă și eritrocite, atât la lotul F_1 cât și la lotul F_2 .

Referitor la categoria de indici, care caracterizează activitatea antioxidantă totală (**AAT**) și activitatea oxidativă totală (**AOT**) în plasmă, înregistrează o diferență minimală între loturi, și poate fi considerată neînsemnată. Totodată, la ambele loturi se constată tendința de creștere a **AAT** și **AOT** către a doua cercetare. Această dinamică de creștere a **AAT** (plasmă și eritrocite) și a **AOT** reflectă, de fapt, situația, că ambele loturi au beneficiat de o nutriție echilibrată, care a influențat pozitiv potențialul antioxidant al organismului, comparativ cu valorile înregistrate la 2-3 săptămâni după fătare.

4.2.3.2. Dinamica produselor de peroxidare a lipidelor (HPL și DAM)

În tabelul 4.2.5. și 4.2.6. sunt prezentate rezultatele determinării produselor intermediare ale peroxidării lipidelor – hidroperoxidii lipidici (**HPL**), în plasmă și eritrocite.

Conform, datelor din tabelul 4.3.5., se poate menționa, că toate trei fracții (timpurie, intermediară și tardivă) a **HPL** în plasmă înregistrează o creștere către a doua cercetare comparativ cu conținutul lor la cercetarea inițială. Astfel, la lotul martor (**F₁**) cantitatea fracțiilor respective de **HPL** s-a mărit cu 55,1 %, 21,1 % și 76,2 %, iar la lotul experimental - cu 88,0 %, 10,8 % și 92,8 %, Prin urmare, dinamica **HPL** în plasmă are aceeași tendință la ambele loturi.

Tabelul 4.2.5. Dinamica hidroperoxidilor lipidici (HPL) în plasmă (exp. „F”); („xx” – p > 0,05)

Indicii	Lotul	Cercet.	Fracția			Conținut sumar mediu (un.)
			timpurie	intermediară	tardivă	
			M ± m/lim	M ± m/lim	M ± m/lim	
HPL în plasmă (Un. /ml)	„xx” F₁ (martor)	I	11,8 ± 3,3 (6,0-16,4)	9,0 ± 1,9 (6,6-12,0)	5,9 ± 1,2 (4,2-8,0)	8,9
		II	18,3 ± 7,0 (8,6-31,4)	10,9 ± 2,1 (7,4-13,8)	10,4 ± 2,4 (8,0-13,8)	13,2
	F₂ (experim.)	I	15,9 ± 3,9 (12,0-21,8)	12,0 ± 1,1 (10,8-13,4)	5,6 ± 2,0 (4,0-8,6)	11,2
			„xx”	pI (int.-tar.) < 0,05	pI (ti.- tar.) < 0,05	
		II	17,3 ± 4,3 (11,2-24,8)	13,3 ± 4,8 (6,4-18,6)	10,8 ± 2,8 (7,4-15,2)	13,8

Conținutul de **HPL** în eritrocite (tab. 4.2.6.) demonstrează o dinamică diferită de cea înregistrată în plasmă. În acest substrat (eritrocite) fracția timpurie de **HPL** crește, iar fracțiile intermediară și tardivă se micșorează la ambele loturi față de nivelul inițial. Astfel, la lotul martor fracția timpurie crește cu 6,5 % iar la lotul experimental – cu 32,0 %, iar fracțiile intermediară și tardivă scad cu 50,6 % și 21,3 %, și 33,7 % și 14,0 %, respectiv.

Tabelul 4.2.6. Dinamica hidroperoxizilor lipidici (HPL) în eritrocite (exp. „F”); („xx” – p > 0,05)

Indicii	Lotul	Cercet.	Fracția			Conținut sumar mediu (un.)
			timpurie	intermediară	tardivă	
			$M \pm m/\lim$	$M \pm m/\lim$	$M \pm m/\lim$	
HPL în eritrocite (mUn./gHb)	F₁ (mart.)	I	137,0 ± 26,0 (97,0-165)	257,0 ± 21,0 (220-295)	193,0 ± 56,0 (123-251)	195,6
			PI (ti.- int.) < 0,01	p (I-II) < 0,05	„xx”	
		II	146,0 ± 12,5 (123-167)	127,0 ± 35,7 (66-215)	152,0 ± 40,0 (107-253)	141,7
	F₂ (exp.)	I	125,0 ± 20,0 (101-155)	238,0 ± 15,3 (222-261)	208,0 ± 41,0 (146-257)	190,0
			PI (ti.- int.) < 0,01	p (I-II) < 0,05	„xx”	
		II	165,0 ± 13,4 (147-189)	158,0 ± 29,0 (84-190)	179 ± 29,5 (125-237)	167,5

Datele din tab. 4.2.7., prezintă rezultatele determinării unuia din produsele finale ale peroxidării lipidelor – dialdehida malonică (**DAM**), în plasmă și eritrocite. În plasmă la lotul martor (**F₁**) s-a înregistrat creșterea **DAM** la cercetarea a doua cu 3,2 %, iar la lotul experimental (**F₂**) a scăzut cu circa 17,2 % față de prima investigație. În eritrocite s-a înregistrat creșterea cantității de **DAM** cu 16,7 % la lotul martor (**F₁**) și cu numai 2,9 % la cel experimental (**F₂**) față de valoarea inițială.

Tabelul 4.2.7. Dinamica dialdehidei malonice în sânge (experiența „F”); („xx” – p > 0,05)

Indicii	Cercetare	Lotul				$F_1 \leftrightarrow F_2$
		„xx” F_1 (martor)		„xx” F_2 (experim.)		
		n	$M \pm m/\lim$	n	$M \pm m/\lim$	
„xx” DAM în plasmă (nmol/l)	I	4	$6,73 \pm 2,06$ (5,26-7,30)	3	$7,19 \pm 1,64$ (5,35-8,23)	$F_2 > 6,4\%$
	$I \leftrightarrow II$	$II > 3,2 \%$		$II < 17,2 \%$		
	II	5	$6,95 \pm 1,92$ (4,1-8,15)	5	$5,96 \pm 1,08$ (4,85-7,93)	$F_2 < 14,3\%$
„xx” DAM în eritrocite (nmol/gHb)	I	4	$0,517 \pm 0,076$ (0,483-0,569)	3	$0,577 \pm 0,095$ (0,545-0,623)	$F_2 > 10,4\%$
	$I \leftrightarrow II$	$II > 16,7 \%$		$II > 2,9 \%$		
	II	5	$0,62 \pm 0,051$ (0,52-0,673)	5	$0,594 \pm 0,041$ (0,543-0,678)	$F_2 < 4,2\%$

Conform acestor date, se poate menționa, că dinamica cantității de **DAM** în plasmă și eritrocite la lotul martor are tendința comună de a crește comparativ cu nivelul inițial, pe când la lotul experimental nivelul de **DAM** în plasmă scade, iar în eritrocite se mărește, dar nu atât de mult ca în lotul martor.

Referitor la produsele intermediare de peroxidare a lipidelor - hidroperoxizii lipidici (**HPL**), se poate menționa, că nivelul lor s-a modificat neuniform. În plasmă toate trei fracții de hidroperoxizi lipidici (timpurie, intermediară și tardivă), se măresc comparativ cu valoarea inițială, iar în eritrocite nivelul fracției timpurii crește, pe când, celelalte două înregistrează o scădere (tab. 4.2.5.).

În aspect evolutiv se poate menționa că conținutul sumar de **HPL** în plasmă (fig. 4.2.1.) la lotul martor (**F**₁) a crescut cu 48,3 %, pe când la lotul experimental (**F**₂) – cu 23,6 % , iar diferența dintre loturi la prima cercetare constituia 25,5 %, iar la a doua cercetare – 4,5 % mai mult la experimental decât la martor.

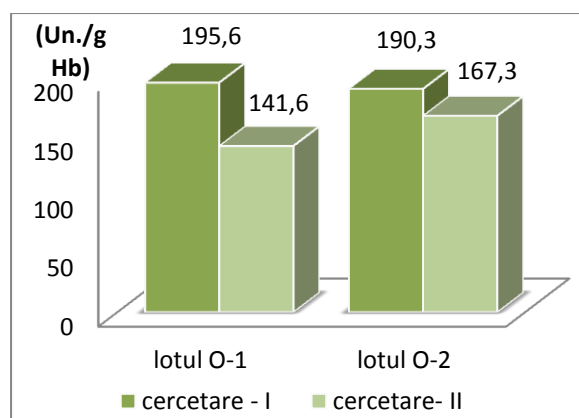
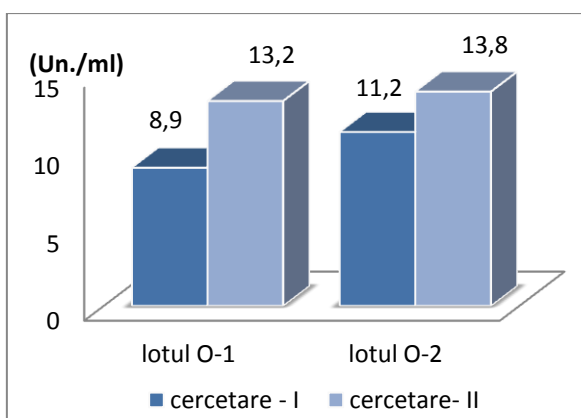


Figura 4.2.1. Nivelul mediu de HPL în plasmă Figura 4.2.2. Nivelul mediu de HPL în eritrocite

În eritrocite (fig. 4.2.2.) cantitatea sumară de **HPL** la lotul **F**₁ scade comparativ cu nivelul inițial cu 27,6 %, iar la lotul **F**₂ – cu 12,1 % ; diferența dintre loturi la prima cercetare constituie 2,8 % mai mult la martor, iar la a doua – cu 18,1 % mai mult la experimental. Prin urmare, la lotul experimental se proiectează tendința de menținere a unui nivel mai înalt de **HPL** în plasmă și eritrocite. Aceste date corespund parțial cu datele expuse de [140], care semnalează un nivel înalt de HPL în plasmă la vacile cu productivitate înaltă.

Dinamica conținutului de dialdehidă malonică (**DAM**) – metabolit final al peroxidării lipidelor, a înregistrat o tendință pozitivă la lotul experimental. În plasmă (fig. 4.2.3.) cantitatea de **DAM** a scăzut la lotul experimental cu circa 17,2 % față de prima investigație, iar la lotul martor a crescut cu 3,2 %. În eritrocite s-a înregistrat creșterea cantității de **DAM** la lotul experimental cu 2,9 %, iar la lotul martor - cu 19,9 % față de valoarea inițială. Totodată, nivelul de **DAM** la cercetarea a doua în plasmă este cu 14,3 %, iar în eritrocite cu 4,2 % mai mic la lotul experimental decât la martor (fig. 4.2.4.).

Reeșind din aceste date, se poate presupune, că includerea în componența premixului a vitaminei E, A, seleniului și altor oligoelemente cu proprietăți antioxidante, a avut impact pozitiv

asupra proceselor de peroxidare, consemnat, în special, prin acumularea unei cantități mai mici de **DAM** în plasmă și în eritrocite la lotul experimental (**F₂**).

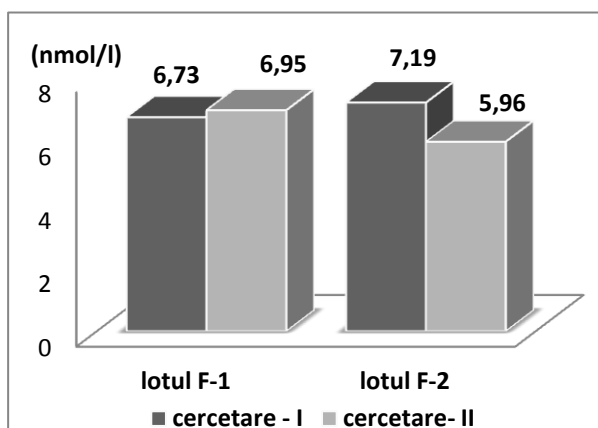


Figura 4.2.3. Dinamica DAM în plasmă

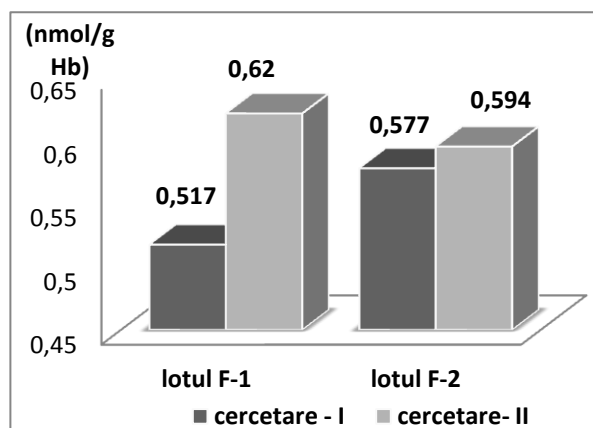


Figura 4.2.4. Dinamica DAM în eritrocite

Prin urmare, prin realizarea experienței date s-a efectuat monitorizarea acțiunii premixului mineralo-vitaminic, compus din oligomineralele Cu, Zn, Co, Se, vitaminele A, D, E și metionină, care a fost inclus în rație la vaci, cu scopul de optimizare a parametrilor statusului antioxidant și prevenire a stresului oxidativ în primele luni de lactație, de rând cu aprecierea indicilor clinici, ai eritronului și ai profilului metabolic.

Includerea în componența premixului mineralo-vitaminic, pentru vaci în debutul lactației, a oligoelementelor Cu, Zn, Co, Se, a vitaminelor A, E și a metioninei, în cantități corespunzătoare necesităților fiziologice, a influențat pozitiv dinamica parametrilor statusului antioxidant, a producției de lapte, a indicilor eritronului și a profilului metabolic la animalele cercetate.

4.3. Concluzii la capitolul 4

- În urma utilizării a antioxidantului sintetic Diludină la vacile din loturile experimentale (**C₂** și **D₂**) s-a constatat sporirea producției de lapte:
 - la lotul **C₂**, cantitatea de lapte obținut a sporit în luna a doua cu 11,5 % și a treia – cu 17,5 %, vis-à-vis de nivelul inițial ($p > 0,05$), iar procentul de grăsime din lapte, a atins cota cea mai înaltă în a doua lună de lactație (3,87 %), spre deosebire de lotul **C₁** la care acest parametru constituie 3,58 % ($p > 0,05$), respectiv;
 - la lotul **D₂** cantitatea de lapte obținut a sporit cu 5,2 % în lună a doua de lactație, față de prima, fiind totodată, mai înalt decât la lotul martor (**D₁**) cu 4,2 % ($p > 0,05$).
- La vacile din loturile experimentale **C₂** și **D₂** s-a produs optimizarea proceselor metabolice care, către sfârșitul cercetărilor, se confirmă:

- la lotul **C₂** prin nivelul mai înalt al carotenemiei și fosforemiei, cu 14,1 % și 10,4 %, respectiv, față de lotul martor (**C₁**), ($p > 0,05$);
 - la lotul **D₂** prin nivelul sporit al carotenemiei, calciemiei și fosforemiei, respectiv cu 5,0 %, 7,4 % și 1,0 %, față de lotul martor **D₁** ($p > 0,05$).
3. La loturile experimentale **C₂** și **D₂** se constată optimizarea proceselor de eritropoieză către sfârșitul cercetărilor, care este consemnată prin tendința de menținere la un nivel mai înalt al indicilor eritronului:
- la lotul **C₂** se constată creșterea conținutului de hemoglobină cu 2,5 %, față de nivelul inițial și sporirea diferenței față de nivelul lotului martor de la 0,3 % până la 6,7 % ($p > 0,05$);
 - la lotul **D₂** se constată valori medii mai ridicate ale numărului de eritrocite cu 0,7 %, Ht - cu 1,7 % și Hb - cu 4,9 %, comparativ cu lotul martor (**D₁**), ($p > 0,05$).
4. Sub influența Diludinei la loturile experimentale s-a constatat optimizarea parametrilor **statusului antioxidant** și diminuarea intensității **proceselor de peroxidare a lipidelor**:
- la lotul **C₂** prin nivel mai scăzut al activității **CAT** în serul respectiv cu 24,7 % și a conținutului de **DAM** în eritrocite cu 0,4 %, față de lotul martor (**C₁**), ($p > 0,05$);
 - la lotul **D₂** prin nivel mai scăzut al activității **CAT** în ser la a doua și a treia cercetare cu 0,6 % și 9,0 %, respectiv ($p > 0,05$), și a cantității de **DAM** în serul sanguin cu 12,9 % și 11,0 %, respectiv ($p > 0,05$), față de lotul martor **D₁**.
5. În cadrul experienței “**F**”, la vacile care au beneficiat de premixul mineralo-vitaminic, lotul **F₂**, s-a constatat sporirea producției, prin obținerea în perioada cercetărilor, a unei cantități totale de lapte egale cu **1847,16 kg**, care este cu 13,7 % mai mare, comparativ cu cea obținută de la lotul martor (**F₁**).
6. În dinamica indicilor eritronului la lotul **F₂**, se constată tendințe pozitive exprimate prin creșterea mai importantă a hematocritului - cu 5 %, față de nivelul inițial ($p > 0,05$) și menținerea conținutului de hemoglobină, la un nivel ceva mai înalt - cu 2,2 % ($p > 0,05$), comparativ cu lotul martor (**F₁**).
7. Analiza parametrilor profilului metabolic permite de a face constatări, comune pentru ambele loturi (**F₁** și **F₂**), precum că, vacile au beneficiat de rații echilibrate după componentele de bază, fapt care s-a exprimat prin menținerea în plasmă a nivelului fiziologic de proteine totale, albumine, calciu, fosfor și a activității ALAT, și ASAT, cu tendința de sporire a conținutului acestora, comparativ cu valorile inițiale.

8. Dinamica indicilor **AAT** și **AOT** se remarcă la ambele loturi (**F₁** și **F₂**) prin tendință similară de creștere, față de nivelul inițial, cu 8,3 % a **AAT** în plasmă, cu 15,3 % a **AAT** în eritrocite și cu 5,4 % a **AOT** în plasmă la lotul experimental, iar la martor cu 11,0 %, 18,9 % și 1,7 %, respectiv, fără a înregistra o diferență pronunțată dintre loturi, la prima și la a doua cercetare.
9. Dinamica **hidroperoxizilor lipidici** în plasmă și în eritrocite manifestă un caracter similar la ambele loturi, exprimat prin creșterea nivelului lor sumar în plasmă și scăderea celui din eritrocite, la cercetarea a doua, dar, totodată, cu tendința de menținere la lotul **F₂**, care a avut un potențial productiv mai sporit, a unui nivel mai înalt de **HPL** cu 4,5 % și 18,1 %, respectiv, comparativ cu lotul martor.
10. Dinamica conținutului de **dialdehidă malonică (DAM)** - produs final al peroxidării lipidelor, se exprimă prin menținerea la a doua cercetare, la lotul experimental (**F₂**), a unui nivel mai mic cu 14,3 % în plasmă și cu 4,2 % în eritrocite, față de lotul martor (**F₁**), fapt ce arată diminuarea intensității fenomenelor de peroxidare la vacile care au beneficiat de premixul mineralo-vitaminic cu principii antioxidante.

5. MODALITĂȚI DE OPTIMIZARE ALE STATUSULUI ANTIOXIDANT LA VIȚEI ȘI VARIAȚII DE VÂRSTĂ ALE ACESTUIA

5.1. Influența oligomineralelor în formă anorganică și organică asupra statusului antioxidant la vițeii cu vârsta de 2,5 – 6 luni (experiența „G”)

Cercetările descrise în acest capitol au avut drept scop efectuarea unui studiu complex al statusului antioxidant la tineretul taurin cu vârsta de la 70 la 196 zile, pe fundalul includerii în adaosul proteino-mineralo-vitaminic (APMV) din rația acestora, a oligomineralelor în formă anorganică (tradițională) și în formă organică, cu biodisponibilitate sporită.

Interesul pentru investigațiile date, este argumentat prin faptul, că oligoelementele (Zn, Mn, Cu, Co, Se ș.a.) sunt implicate în numeroase procese biologice prin funcțiile sale de catalizator, astfel, fiind parte activă a diverselor enzime, printre care și cele cu funcție de protecție antioxidantă a celulelor, cum este **SOD**, **CAT**, **GSH-Px** ș.a. Suplimentarea rației cu oligominerale, cu rol important în protecția antioxidantă cum este Mn, Cu și Se, în special în zone endemice, poate avea implicare directă în asigurarea bunăstării animalelor și calității producției obținute.

La moment, se consideră actuală și prezintă mai multe avantaje, utilizarea acestor elemente în formă de compuși organici (legate cu aminoacizi), în special metionină, cum sunt cele din componența produsului “Bioplex” folosit în experiența noastră [174].

Cercetările s-au efectuat pe 12 vițeii cu vârsta de 70–73 zile divizați în două loturi egale numeric, conform schemei descrise în capitolul 2.4. Pe parcursul experienței (până la vârsta de 196 – 199 zile) în rația vițeilor din lotul **G₁** a fost inclus un supliment mineral constituit din oligoelemente în formă anorganică, inclusiv și Seleniu în formă de selenit de sodiu, iar vițeii din lotul experimental (**G₂**) au primit suplimentul furager „Bioplex” care conține aceleași oligominerale (Zn, Mn, Cu, Co și Se) în forma proteinată (organică).

Aprecierea statusului antioxidant s-a efectuat prin determinarea mai multor indici-markeri în plasmă și în eritrocite: activitatea antioxidantă totală (**AAT**), activitatea oxidativă totală (**AOT**), activitatea superoxid dismutazei (**SOD**), a catalazei (**CAT**), a glutatión peroxidazei (**GSH-Px**) și glutatión reductazei (**GR**); conținutul de hidroperoxizi lipidici (**HPL**) și conținutul de dialdehid malonic (**DAM**).

5.1.1. Starea clinică, indicii productivi și indicii hematologici

În primele zile de experiență starea generală a animalelor, din ambele loturi, a fost satisfăcătoare. Vițeii manifestau poftă de mâncare, consumau activ hrana și apa, iar procesele fiziologice, cum ar fi defecarea, diureza etc., decurgeau fără modificări.

Peste 4-5 zile, la câteva animale (4 capete) din cele 12 s-a observat abatere ușoară, jetaj nazal, tuse, iar la efectuarea examenului clinic s-a constatat subfebrilitate (39,6 - 40,5 °C), tahipnee (până la 44 mișc./min) și tahicardie (până la 110 contr./min), - simptome cauzate de contactarea unei viroze respiratorii sezoniere, caracteristică pentru lunile de primăvară.

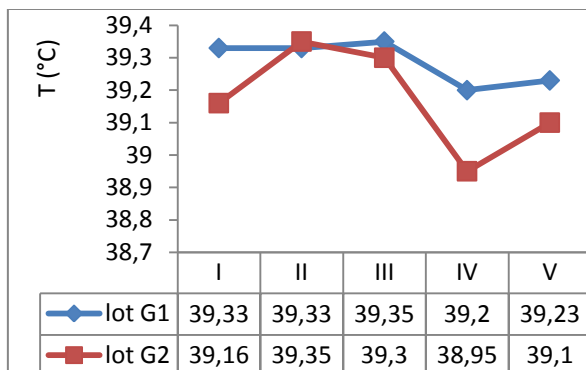


Fig. 5.1.1. Dinamica temperaturii corporale

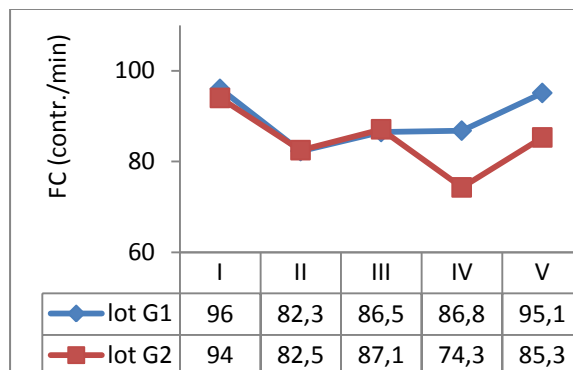


Fig. 5.1.2. Dinamica frecvenței cardiace

După cum s-a constatat în perioada imediat următoare, fiecare din cei 12 viței a suportat această stare morbidă pe parcursul a 2-3 săptămâni, finalizată cu o convalescență deplină. Astfel,

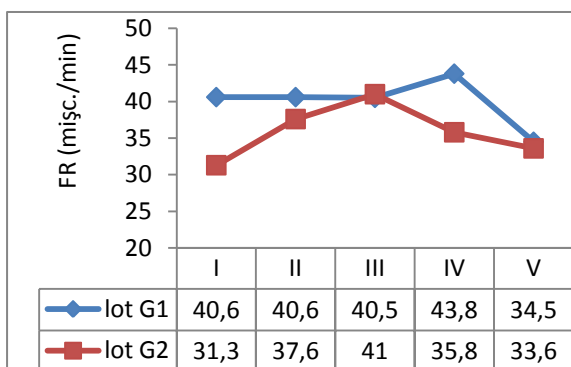


Fig. 5.1.3. Dinamica frecvenței respiratorii

la toți viței s-a constatat tuse și jetaj, dar fără a fi însoțite de modificări grave a **T**, **P** și **R**, fapt ce nu a influențat valorile medii ale acelor indici (fig. 5.1.1., 5.1.2., 5.1.3.). La 30 zile de la începutul investigațiilor, deși nu s-a intervenit cu antibiotice, s-a constatat dispariția semnelor respiratorii, iar indicii clinici de bază au revenit în limitele de referință la toate animalele.

Deși, în prima lună de experiență, viței au trecut prin starea morbidă descrisă, grație faptului că condițiile de întreținere au fost satisfăcătoare, iar rația a fost balansată în conformitate cu necesitățile fiziologice, inclusiv după conținutul de vitamine și oligominerale (capitolul 2.4.), la ambele loturi sporul zilnic nu a avut mult de suferit. Astfel, la lotul **G₁** adaosul zilnic al masei corporale a constituit 739 g, iar la lotul **G₂** – 808 g (tab. 5.1.1.).

În următoarele două luni (iunie-iulie) sporul masei corporale se menține aproximativ la același nivel, dar cu profilarea unei diminuări nepronunțate, față de cel înregistrat în prima (luna mai), fapt ce poate fi explicat, cel mai probabil, prin influența temperaturilor înalte survenite în lunile de vară. În ultima perioadă (a patra) a cercetării (luna august), după cum se vede din același tabel sporul masei corporale a înregistrat o creștere, față de lunile precedente, constituind la lotul **G₁** 873 g, iar la lotul **G₂** 959 g.

Tabelul 5.1.1. Indicii productivi la viței în experiența „G”

Specificare		Lotul	
		G ₁ (martor)	G ₂ (experim.)
		M ± m	M ± m
Masa corporală (kg)	început	74,0 ± 4,58	74,0 ± 5,94
	sfârșit	170,7 ± 12,77	174,7 ± 13,4
Spor total (kg)		96,7 ± 8,5	100,7 ± 7,65
Spor zilnic (g)		767 ± 68,0	799 ± 60,6

Astfel, calculând media sporului total și a sporului zilnic pe întreaga experiență s-a constatat, că la lotul G₂, care a primit cu hrana Se și alte oligominerale organice, sporul zilnic este cu 32 g sau 4,2 % mai mare decât la lotul martor (G₁), (tab. 5.1.1).

Paralel cu evoluția parametrilor clinici, s-au schimbat și indicii hematologici. Astfel, numărul de leucocite la prima cercetare, când animale au contactat o viroză, era la limita superioară de referință, iar la unele, chiar o depășea. În continuare, concomitent cu convalescența animalelor, acest indice în ambele loturi a scăzut semnificativ și, deja, la a 30-a zi de investigație a revenit în limitele de referință (fig. 5.1.4.).

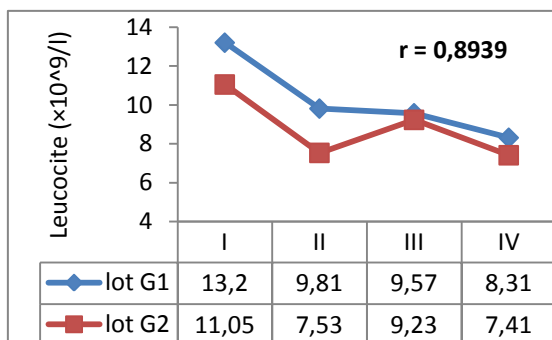


Fig. 5.1.4. Dinamica leucocitelor (exp. “G”)

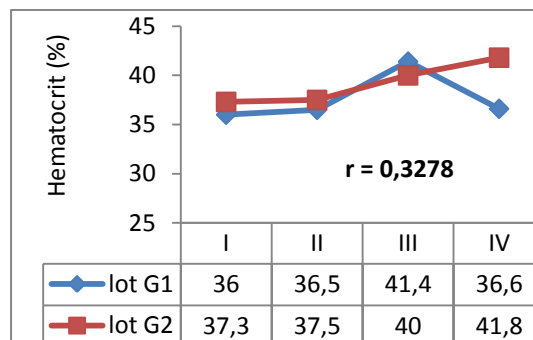


Fig. 5.1.5. Dinamica hematocritului (exp. “G”)

La începutul experienței numărul de leucocite a avut o valoare înaltă, care la lotul martor constituia $13,2 \times 10^9/l$, iar la cel experimental $11,05 \times 10^9/l$. Spre sfârșitul experienței la ambele loturi se constată scăderea esențială a acestui indice: cu 37 % la lotul martor și cu 33 % la lotul experimental. Această dinamică reflectă starea de leucocitoză de la începutul experienței, cauzată de afecțiunile respiratorii de care au avut de suferit vițeii în acea perioadă. Odată cu depășirea problemelor respiratorii se constată diminuarea nivelului de leucocite, fapt ce se observă la a doua investigație (peste 30 zile) (fig. 5.1.4.).

Schimbări importante au revenit și din partea indicilor eritronului (**Ht**, **Hb** și **eritrocite**), numai că în acest caz, spre deosebire de leucocite, modificările notate în lotul experimental

diferă de cele de la lotul martor. Aceasta denotă că schimbările s-au produs sub acțiunea oligomineralelor administrate.

Din figura 5.1.5. putem observa că valorile medii ale hematocritului sunt situate în limitele normativelor la ambele loturi și pe parcursul experienței se profilează creșterea atât la vițeii din lotul martor (G_1), cât și la cei din lotul experimental (G_2). Totodată, se observă o creștere mai semnificativă a **Ht**-lui la lotul G_2 , - egală cu 7,8 unități procentuale.

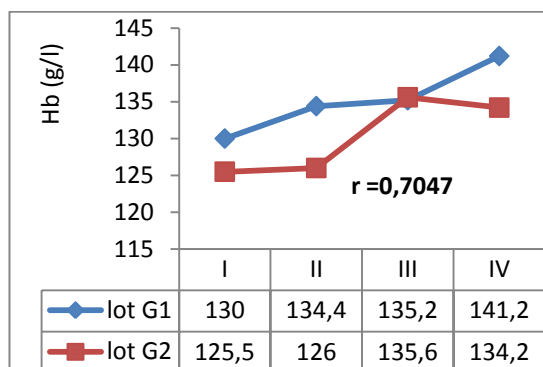


Fig. 5.1.6. Dinamica hemoglobinei (exp. "G")

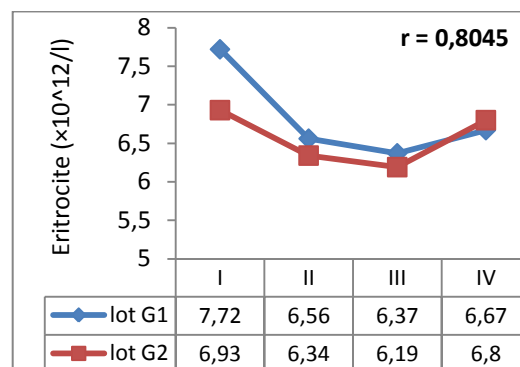


Fig. 5.1.7. Dinamica eritrocitelor (exp. "G")

În dinamica numărului de eritrocite, la vițeii din ambele loturi, se constată la a doua și a treia cercetare, diminuarea față de inițial, dar fără depășirea minimele de referință. La ultima cercetare se constată creșterea acestui indice comparativ cu cercetarea a treia, la lotul martor cu 4,7 %, iar la lotul experimental cu 9,8 %. Comparativ cu nivelul inițial, la lotul martor este cu 13,6 %, iar la lotul experimental cu 2,1 % mai scăzut; totodată, numărul de eritrocite este mai înalt la lotul experimental (G_1) cu 1,9 %, decât la lotul martor (tab. 5.1.7.).

Valorile individuale ale hemoglobinei la vițeii din ambele loturi variază în limitele de la 110 g/l până la 145 g/l. În dinamica **Hb** se constată aceeași tendință de creștere a acestuia fără a depista o diferență esențială între loturi și fără depășirea limitelor fiziologice. La ultima cercetare s-a constatat că cantitatea de hemoglobină la lotul martor este mai mare față de valoarea inițială, cu 8,6 %, iar la lotul experimental cu 6,8 % (fig. 5.1.6.).

5.1.2. Statusul antioxidant

Pentru testarea statusului antioxidant au fost determinați trei categorii de indici:

- activitatea enzimelor: superoxid dismutaza (**SOD**), catalaza (**CAT**) glutatión peroxidaza (**GSH-Px**) și glutatión reductaza (**GR**);
- activitatea antioxidantă totală (**AAT**) și activitatea oxidativă totală (**AOT**);
- conținutul de hidroxiperoxi lipidici (**HPL**) și de dialdehid malonic (**DAM**).

5.1.2.1. Dinamica activității enzimelor antioxidante

După cum se vede din tabelul 5.1.2. activitatea catalazei (**CAT**) în eritrocite este mai înaltă la lotul martor pe parcursul a primelor trei cercetări. Diferența dintre loturi constituie respectiv 70 % ($p < 0,05$), 32 % și 24% ($p < 0,05$). La sfârșitul experienței se constată modificarea raportului dintre loturi, înregistrându-se activitate mai mare a **CAT** cu cca 19 %, la cel experimental. Astfel, la lotul **G₂** activitatea catalazei la ultima investigație (a IV) a crescut comparativ cu valoarea precedentă (cercetarea a III), cu circa 7 %, pe când la lotul martor se constată descreșterea continuă față de nivelurile precedente (al III și al II) cu 28 % și 47 % respectiv. Variațiile individuale ale activității catalazei în eritrocite se situează în limitele 0,92 – 3,21 mmol/s.gHb la lotul **G₁** și 0,77 – 2,47 mmol/s.gHb – la lotul **G₂**.

Tabelul 5.1.2. Activitatea catalazei și superoxid dismutazei la viței (exp. “**G**”)

Cerce-tare	Lotul	CAT în plasmă (mmol/s.l)		CAT în eritrocite (mmol/s.gHb)		SOD în eritrocite (Un/gHb)	
		M ± m/lim	p	M ± m/lim	p	M ± m/lim	p
I	G₁	0,185 ± 0,034 (0,154-0,236)	$p_{1/2} > 0,05$	1,93 ± 0,145 (1,805-2,14)	$p_{1/2} < 0,05$	1792 ± 175 (1529-1493)	$p_{1/2} > 0,05$
	G₂	0,23 ± 0,041 (0,184-0,292)		1,13 ± 0,242 (0,769-1,4)		1223 ± 309,6 (758,2-1493)	
II	G₁	0,293 ± 0,027 (0,259-0,334)	$p_{1/2} > 0,05$	2,42 ± 0,450 (1,89-3,21)	$p_{1/2} > 0,05$	2572 ± 509 (2066-3589)	$p_{1/2} > 0,05$
	G₂	0,241 ± 0,040 (0,161-0,292)		1,83 ± 0,321 (1,47-2,47)		1688 ± 432,5 (1261-2553)	
III	G₁	0,250 ± 0,067 (0,131-0,345)	$p_{1/2} > 0,05$	1,80 ± 0,102 (1,58-2,0)	$p_{1/2} < 0,05$	1757 ± 333 (1405-2287)	$p_{1/2} > 0,05$
	G₂	0,342 ± 0,095 (0,12-0,484)		1,44 ± 0,073 (1,28-1,55)		1348 ± 69,13 (1212-1446)	
IV	G₁	0,32 ± 0,151 (0,199-0,37)	$p_{1/2} > 0,05$	1,30 ± 0,158 (0,92-1,52)	$p_{1(IV)} < 0,05$	1210 ± 90,5 (1051-1420)	$p_{1/2} > 0,05$
	G₂	0,265 ± 0,039 (0,206-0,326)		1,54 ± 0,296 (1,32-2,28)	$p_{1/2} > 0,05$	1361 ± 243,3 (1194-1969)	

Activitatea **CAT** în plasmă, spre deosebire de cea din eritrocite, poartă un caracter mai puțin stabil, în special la lotul **G₁**, la care se înregistrează creșterea activității urmată de diminuarea acesteia de la o cercetare la alta, ca până la ultima să ajungă de 1,7 ori mai înaltă decât valoarea inițială. La lotul **G₂** dinamica **CAT** în plasmă se caracterizează prin creștere la cercetarea a II și a III cu 4,3 % și 41,6 %, respectiv, urmată de o scădere ușoară la cercetarea a

IV (cu 23,6 %). Variațiile individuale ale activității **CAT** în plasmă se situează în limitele 0,13-0,37 mmol/s·l, la lotul **G₁** și 0,12-0,48 mmol/s·l, la lotul **G₂**.

După cum se vede, din tabelul 5.1.2., activitatea **SOD** în eritrocite are caracter similar la ambele loturi. Se constată o creștere ușoară a activității la a doua cercetare după care urmează scăderea lentă până la nivelul inițial. Pe parcursul a primelor trei investigații la lotul martor (**G₁**) se menține un nivel de activitate mai înalt cu: 46,5 %, 52,3 % și 30,2 %, respectiv, decât la lotul experimental. La sfârșitul experienței (cercetarea IV), diferența dintre loturi se micșorează și constituie doar 151 Un/gHb, sau 12,4 %, în favoarea lotului **G₂**. Valorile individuale variază la lotul martor între 1051–3589 Un/gHb, iar la lotul experimental între 758,2 – 2553 Un/gHb.

Activitatea glutatation peroxidazei (**GSH-Px**) în eritrocite, exprimată în mmol/s·gHb, după cum se vede din tabelul 5.1.3., pe parcursul primelor trei cercetări se exprimă printr-o curbă cu punctul maximal obținut la cercetarea a doua. Totodată, la lotul martor, se constată activitate mai înaltă a **GSH-Px** decât la lotul experimental pe parcursul a trei cercetări. La prima și a doua

Tabelul 5.1.3. Activitatea glutatation peroxidazei și glutatation reductazei la viței (exp. “**G**”)

Cercetare	Lotul	n	GSH-Px în eritrocite (nmol/s·gHb)		GR în eritrocite (nmol/s·gHb)	
			M ± m/lim	p	M ± m/lim	p
I	G₁	3	9,57 ± 1,093 (7,93-11,1)	p _{1/2} >0,05	5,41 ± 1,12 (4,53-7,09)	p _{1/2} >0,05
	G₂	3	5,76 ± 1,77 (3,53-8,42)		2,95 ± 0,83 (1,92-4,19)	
II	G₁	4	13,91 ± 3,81 (8,75-19,53)	p _{1/2} >0,05	6,75 ± 1,99 (2,97-10,54)	p _{1/2} >0,05
	G₂	4	9,82 ± 2,47 (6,57-14,02)		4,25 ± 0,55 (3,68-5,35)	
III	G₁	5	9,88 ± 1,98 (6,83-12,84)	p _{1/2} <0,05	5,04 ± 0,72 (4,11-6,22)	p _{1/2} >0,05
	G₂	5	3,11 ± 0,77 (2,02-4,11)		3,14 ± 0,75 (2,19-4,24)	
IV	G₁	5	3,92 ± 0,91 (3,13-6,2)	P _{1(IV)} < 0,01 p _{1/2} <0,01 P _{2(IV)} < 0,01	2,88 ± 0,27 (2,45-3,39)	p _{1/2} >0,05
	G₂	5	18,2 ± 3,28 (13,87-25,3)		4,0 ± 0,55 (2,81-4,66)	

investigație diferența în favoarea lotului martor este de 66 % și 42 %, respectiv. La a treia investigație diferența dintre loturi devine mai accentuată, astfel încât activitatea **GSH-Px** este de 3,17 ori mai înaltă la lotul martor (p_{1/2} < 0,05). Însă, la a patra cercetare la lotul experimental se constată o creștere destul de importantă (de 5,8 ori), față de valoarea precedentă, pe când la lotul

martor are loc scăderea progresivă a indicelui, comparativ cu investigația a treia și a doua (de 2,5 și 3,6 ori, respectiv).

La finele experienței activitatea **GSH-Px** la lotul experimental **G₂** ajunge să fie de 4,6 ori mai mare decât la lotul **G₁** ($p_{1-2} < 0,01$), iar comparativ cu valoarea inițială este de 3,2 ori mai înaltă ($p_{G_2(I-IV)} < 0,01$), pe când, la lotul martor – de 2,4 ori mai scăzută ($p_{G_1(I-IV)} < 0,01$). Variațiile individuale ale activității **GSH-Px** la martor se află în limitele 3,13-19,5 nmol/s·gHb, iar la experimental 2,02-25,3 nmol/s·gHb.

Dinamica activității glutathion reductazei (**GR**) în eritrocite, prezentată în tabelul 5.1.3., are un caracter fluctuant și este asemănătoare cu dinamica **GSH-Px**. Valorile individuale ale activității **GR**-ei variază la lotul martor între 2,45-10,54 nmol/s·gHb și 1,92-5,35 nmol/s·gHb, la experimental.

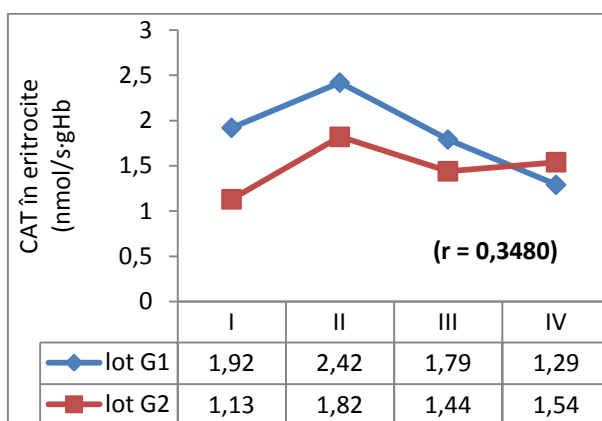


Figura 5.1.8. Dinamica CAT în eritrocite

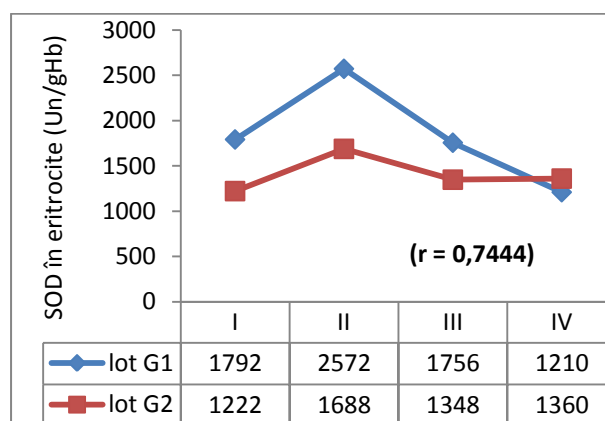


Figura 5.1.9. Dinamica SOD în eritrocite

Astfel, referitor la dinamica activității enzimelor, se poate menționa, că aceasta se exprimă prin creștere la cercetarea II, urmată de o scădere la cercetarea a III (fig. 5.1.8., 5.1.9., 5.1.10. și 5.1.11.). Astfel, activitatea **CAT**, **SOD**, **GSH-Px** și **GR** la ambele loturi (**G₁** și **G₂**), înregistrează valori maxime la cercetarea a doua, urmată de o scădere (cercetarea a III) până la valori apropiate de cele obținute inițial. În continuare (cercetarea a IV) se poate menționa, că la lotul **G₁** activitatea a toate patru enzime (**CAT**, **SOD**, **GSH-Px** și **GR**) scade până la valori cu mult mai joase decât cele inițiale cu: 33,2 %, 32,5 %, 59,2 % și 56,7 %, respectiv. Pe când, la lotul **G₂**, la cercetarea a IV activitatea enzimelor a crescut față de nivelul precedent (III), având totodată valori mai înalte decât cele inițiale cu: 36,2 %, 11,3 %, 314 % și 35,6 %, respectiv.

Atrage atenție, dinamica activității glutathion peroxidazei (**GSH-Px**) - enzimă selendependentă, care înregistrează o creștere spectaculoasă la lotul experimental (**G₂**) la finele experienței. Am putea presupune, că este rezultatul aportului îndelungat de Se (în formă de selenometionină), care conform datele obținute de alți autori [55], precum că, în cazul aportului exogen de antioxidanți, efectul lor intervine nu mai degrabă de 3-4 luni de administrare.

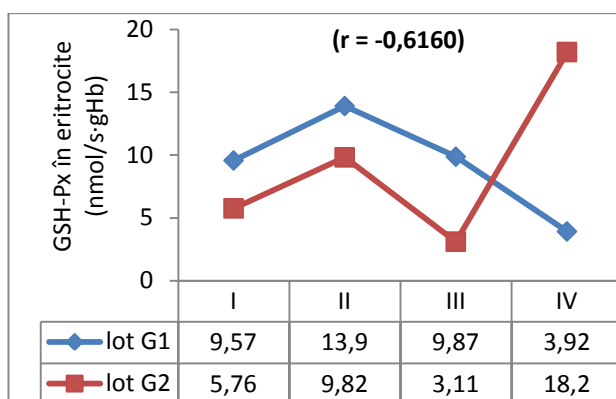


Fig. 5.1.10. Dinamica GSH-Px în eritrocite

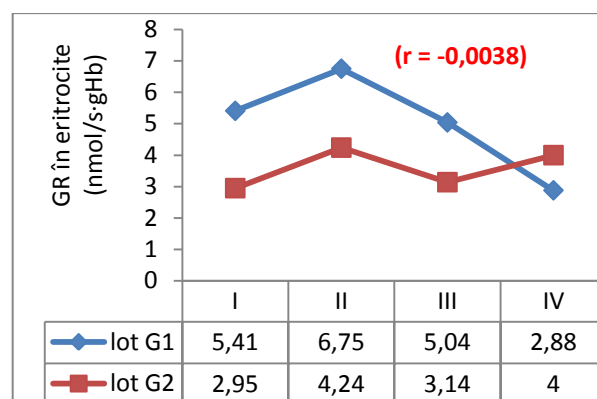


Fig. 5.1.11. Dinamica GR în eritrocite

Astfel, ca tendință generală în dinamica activității enzimelor cu funcție de protecție antioxidantă (**CAT**, **SOD**, **GSH-Px** și **GR**), în eritrocite, se poate menționa, că la lotul **G₂** la sfârșitul investigației se constată nivel mai înalt comparativ cu valoarea inițială, după cum s-a arătat mai sus, și nivel mai înalt comparativ cu valorile finale obținute la lotul martor (**G₁**) cu: 19,4 %, 12,5 %, de 4,6 ori și 28,0 %, respectiv. Reeșind din aceste date, se poate presupune că la sfârșitul experienței la lotul **G₂** care a primit oligoelemente proteinate s-a instaurat un nivel mai înalt al capacității protectoare antioxidative în eritrocite, care posibil să fi fost influențat de intensitatea proceselor metabolice din organism.

5.1.2.2. Dinamica activității antioxidante (AAT) și activității oxidante totale (AOT)

Activitatea antioxidantă totală (**AAT**) a plasmei este un indice, care reflectă capacitatea plasmei sanguine de a inhiba procesul de oxidare indusă a unui sistem model. Prin urmare, **AAT** ne arată conținutul sumar din plasma sanguină a compușilor cu proprietăți antioxidative.

Dinamica **AAT** în plasmă desprinsă din tabelul 5.1.4., indică asupra tendinței, comune pentru ambele loturi, de creștere a capacității antioxidative totale a plasmei sanguine în raport cu valoarea constatată la începutul experienței. Astfel, la lotul martor (**G₁**) valoarea inițială era de 59,4 %, iar la sfârșitul cercetărilor a ajuns până la 67 %; la lotul experimental – de la 51 % a crescut până la 64,5 %. Valorile individuale la lotul martor variază între 53,2 - 73,1 %, iar la lotul experimental de la 37,5 % până la 70,5 %.

Al doilea indice, din tabelul 5.1.4., activitatea oxidantă totală (**AOT**) arată conținutul sumar din plasma sanguină a compușilor cu proprietăți prooxidative. Datele prezentate reflectă tendința, comună pentru ambele loturi (**G₁** și **G₂**), de micșorare a valorii **AOT** către cercetarea a IV. Astfel, la lotul martor (**G₁**) valoarea inițială era de 50,92 %, iar la sfârșitul cercetărilor a ajuns la 37,41 %; la lotul experimental – de la 45,12 % a scăzut până la 39,26 %. Valorile individuale la lotul martor variază între 31,1 – 52,5 %, iar la lotul experimental de la 23,4 % până la 73,1 %.

Tabelul 5.1.4. Activitatea anti-, și oxidantă a sângelui la viței (experiența “G”)

Cercetare	Lotul	AAT în plasmă (%)		AOT în plasmă (%)		AAT în eritrocite (%)	
		$M \pm m/\ell im$	$p_{1/2}$	$M \pm m/\ell im$	$p_{1/2}$	$M \pm m/\ell im$	$p_{1/2}$
I	G ₁	59,42 ± 4,59 (53,2-66,3)	>0,05	50,92 ± 1,01 (49,4-52,5)	>0,05	119,3 ± 13,9 (98,4-133,8)	>0,05
	G ₂	51,09 ± 9,06 (37,5-59,7)		45,12 ± 18,7 (24,6-73,1)		98,59 ± 14,02 (77,5-114,5)	
II	G ₁	64,47 ± 3,34 (59,6-70,5)	>0,05	44,41 ± 6,23 (31,9-50,0)	>0,05	141,3 ± 3,15 (136,4-147,1)	>0,05
	G ₂	58,76 ± 4,52 (55,-67,8)		35,48 ± 6,02 (23,4-44,9)		141,5 ± 5,25 (131,0-147,9)	
III	G ₁	62,01 ± 4,21 (53,2-66,4)	>0,05	43,3 ± 4,26 (37,9-49,4)	>0,05	138,2 ± 9,22 (125,6-161,3)	>0,05
	G ₂	59,96 ± 3,38 (57,3-68,4)		46,73 ± 2,46 (42,3-48,9)		129,7 ± 7,91 (120,3-140,7)	
IV	G ₁	67,03 ± 2,45 (64,5-73,1)	>0,05	37,41 ± 4,13 (31,1-43,6)	>0,05	160,7 ± 6,58 (150,1-168,7)	>0,05
	G ₂	64,58 ± 3,19 (60,2-70,5)		39,26 ± 2,68 (32,6-42,6)		148,7 ± 4,85 (143,1-157,6)	

Tot în acest tabel 5.1.4., este redată și dinamica **AAT** în eritrocite, referitor la care se poate menționa că are aceeași tendință ca și indicele respectiv din plasmă. Este vizibilă dinamica ascendentă a indicelui **AAT** în eritrocite la ambele loturi, comparativ cu valorile inițiale. Astfel, la lotul **G₁** de la 119,3 unități la prima cercetare, **AAT** ajunge să fie egală cu 160,7 unități la a doua, iar la lotul **G₂** de la 98,6 la 148,7 unități, sau cu 34,7 % și 50,8 % mai mult, respectiv.

Referitor la această categorie de indici - activitatea antioxidantă și prooxidativă totală (**AAT** și **AOT**), se poate menționa, că la ambele loturi (**G₁** și **G₂**), atât în eritrocite (fig. 5.1.12.), cât și în plasmă (fig. 5.1.13.) dinamica **AAT** are un caracter ascendent, exprimat prin creșterea graduală, cu unele fluctuații la cercetarea a doua și a treia, ca până la ultima cercetare (IV) să atingă valori maxime.

Astfel, **AAT** în eritrocite la lotul **G₁** este egală cu 160,7 unități, sau cu 43,7 % mai mare decât la cercetarea I, iar la lotul **G₂**, fiind egală cu 148,7 unități, este cu 50,8 % mai mare, respectiv; cu diferența dintre loturi de 21 % la prima cercetare și de 8,1 % la cercetarea finală în favoarea lotului **G₁**. Aproximativ același tablou se conturează și la dinamica **AAT** în plasmă, care la finele experienței înregistrează o creștere față de valoarea inițială la lotul **G₁** cu 12,8 %, iar la lotul **G₂** cu 26,4 %; cu diferența dintre loturi de 16,3 % la prima cercetare și de 3,8 % la cercetarea finală în favoarea lotului **G₁**. Prin urmare, **AAT** în eritrocite și în plasmă, la lotul **G₂**

are dinamică pozitivă mai pronunțată decât la lotul **G₁**, atât prin creșterea valorilor finale comparativ cu cele inițiale, cât și prin diminuarea diferenței dintre loturi înregistrată inițial (de 3-4 ori).

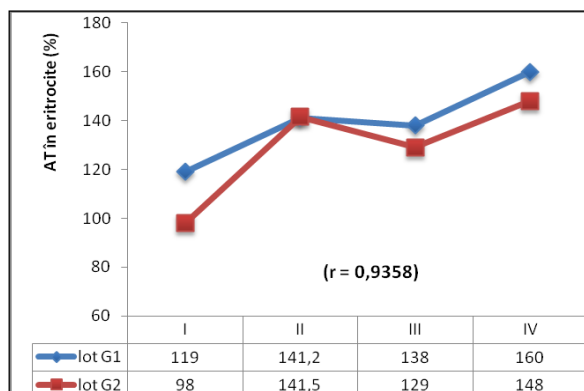


Figura 5.1.12. Dinamica AAT în eritrocite

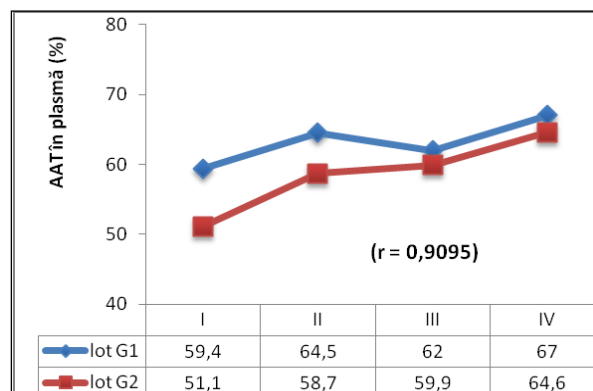


Figura 5.1.13. Dinamica AAT în plasmă

Activitatea oxidativă totală în plasmă sau **AOT**, spre deosebire de **AAT** are o dinamică cu caracter opus, exprimat prin descreșterea valorilor nominale înregistrate inițial, cu 26,6 % la lotul **G₁** și cu 13 % la lotul **G₂** (tab. 5.1.4.).

5.1.2.3. Dinamica produselor de peroxidare a lipidelor

În procesul de metabolizare a lipidelor, în special prin oxidare, în organism se acumulează un șir de compuși intermediari și produse finale ale peroxidării acestora. Printre acestea sunt enumerați hidroperoxizii lipidici (**HPL**) și dialdehida malonică (**DAM**), care au fost determinați în experiența dată. În tabelul 5.1.5. și 5.1.6. este prezentată dinamica cantității de **HPL** și a **DAM** în plasmă și eritrocite înregistrate pe parcursul experienței.

Din tabelul 5.1.5. se vede, că cantitatea de **HPL** în plasmă la începutul experienței are valori maxime și constituie la lotul martor 10,7 Un/ml, iar la lotul experimental – 13,2 Un/ml. Pe parcurs are loc micșorarea treptată a hidroperoxizilor până la valoarea de 3,5 și 3,1 Un/ml, respectiv. Valorile individuale variază între 13,8-2,71 Un/ml la lotul **G₁** și între 17,8 - 2,73 Un/ml – la lotul **G₂**.

Referitor la conținutul produselor de peroxidare (fig. 5.1.14. – 5.1.17.), dinamica cărora reprezintă niște linii curbe cu caracter descendent, se poate desprinde tendință comună, pentru ambii indici, că la vițeei cercetați are loc diminuarea nivelului de **HPL** și **DAM** odată cu maturizarea lor, sau poate fi legat de particularitățile metabolice, care pot fi influențate într-o măsură oarecare și de conținutul de antioxidanți din rație.

Scăderea cantității de **DAM** în plasmă la lotul martor constituie 36,3 %, iar la cel experimental – circa 60 %, față de nivelul inițial, pe când în eritrocite scăderea constituie 41,5 % și 50,5 %, respectiv. Diferența dintre loturi, după conținutul de **DAM** în plasmă, fiind cu 22 %

mai mare la prima cercetare la lotul **G₂**, la ultima cercetare ajunge să fie cu 30,1 % mai mică decât la martor, iar în eritrocite, fiind cu 10,8 % mai mare, ajunge să fie cu 6,8 % mai mică, respectiv (fig. 5.1.14. și 5.1.15.).

Tabelul Tabelul 5.1.5. Conținutul de hidroxiperoxizi lipidici în sânge la viței (experiența “**G**”)

Cercetare	Lotul	n	HPL în plasmă (Un/ml)		HPL în eritrocite (mUn/gHb)	
			$M \pm m/\lim$	p	$M \pm m/\lim$	p
I	G₁	3	10,68 ± 2,81 (6,45-13,8)	$p_{1/2} > 0,05$	112,3 ± 6,72 (102,1-121,5)	$p_{1/2} > 0,05$
	G₂	3	13,21 ± 3,08 (9,57-17,8)		132,5 ± 32,3 (100,2-180,9)	
II	G₁	4	8,36 ± 0,30 (7,76-8,79)	$p_{1/2} > 0,05$	86,42 ± 7,60 (72,75-95,3)	$p_{1(I/II)} < 0,05$ $p_{1/2} > 0,05$ $p_{2(II/IV)} < 0,01$
	G₂	4	7,56 ± 0,97 (6,43-9,17)		94,1 ± 2,66 (89,8-98,2)	
III	G₁	5	7,89 ± 0,62 (7,05-9,44)	$p_{1/2} > 0,05$	92,35 ± 5,15 (83,97-99,7)	$p_{1(I/III)} < 0,05$ $p_{1/2} > 0,05$
	G₂	5	9,57 ± 2,14 (6,41-12,07)		90,49 ± 4,03 (85,3-95,5)	
IV	G₁	5	3,55 ± 0,46 (2,71-4,05)	$p_{1(I/IV)} < 0,05$ $p_{1/2} > 0,05$ $p_{2(I/IV)} < 0,01$	81,21 ± 4,27 (72,01-87,6)	$p_{1(I/IV)} < 0,01$ $p_{1/2} > 0,05$
	G₂	5	3,11 ± 0,37		79,4 ± 2,96	

După cum se vede din același tabel (5.1.5.) printr-un tablou similar se profilează și dinamică **HPL** în eritrocite. Astfel, la prima investigație se constată conținut maximal de **HPL** în eritrocite, cu valori de 112,3 mUn/gHb la lotul **G₁** și de 132,5 mUn/gHb la lotul **G₂**, ca mai apoi, la ultima cercetare conținutul (de **HPL**) să fie minimal, comparativ cu cercetările precedente, și anume, egal cu valori de 81,21 mUn/gHb și de 79,37 mUn/gHb, respectiv. Valorile individuale variază între 121,5-72,01 mUn/gHb la lotul **G₁** și între 180,9 – 71,9 mUn/gHb – la lotul **G₂**.

Din tabelul 5.1.6. se vede, că conținutul de **DAM** la începutul experienței este destul de înalt și constituie în plasmă la lotul martor 6,6 nmol/l și 8,1 nmol/l la lotul experimental, iar în eritrocite 0,80 nmol/gHb și 0,89 nmol/gHb, respectiv.

Rezultatele următoarelor cercetări demonstrează diminuarea constantă a valorii **DAM** către sfârșitul experienței, atât în plasmă cât și în eritrocite. Astfel la sfârșitul experienței conținutul de **DAM** ajunge la valori minime: în plasmă de 4,24 nmol/l – la lotul **G₁** și 3,26 nmol/l – la lotul **G₂**, și în eritrocite – de 0,47 nmol/gHb și 0,44 nmol/gHb, respectiv.

Valorile individuale a **DAM** variază: în plasmă la primul lot între maximele de 7,9 nmol/l – la prima cercetare și minimele de 3,1 nmol/l – la ultima cercetare, iar la lotul doi - de la 9,0

nmol/l până la 1,3 nmol/l, respectiv; în eritrocite de la maximala de 0,82 nmol/gHb până la minimala de 0,47 nmol/gHb, la lotul **G₁** și de la 1,05 nmol/gHb la 0,41 nmol/gHb la lotul **G₂**, respectiv.

Tabelul 5.1.6. Conținutul de dialdehidă malonică în sânge la viței (experiența “**G**”)

Cercetare	Lotul	n	DAM în plasmă (nmol/l)		DAM în eritrocite (nmol/gHb)	
			M ± m/lim	p_{1/2}	M ± m/lim	p_{1/2}
I	G₁	3	6,66 ± 0,85 (5,99-7,94)	p_{1/2} > 0,05	0,80 ± 0,016 (0,77-0,82)	p_{1/2} > 0,05
	G₂	3	8,12 ± 0,75 (6,99-9,08)		0,89 ± 0,103 (0,75-1,05)	
II	G₁	4	5,89 ± 0,76 (4,37-7,3)	p_{1/2} > 0,05	0,55 ± 0,025 (0,52-0,60)	p_{1(I/II)} < 0,001 p_{1/2} > 0,05 p_{2(I/II)} < 0,01
	G₂	4	6,08 ± 0,86 (5,02-7,11)		0,47 ± 0,045 (0,41-0,52)	
III	G₁	5	4,98 ± 0,75 (3,59-6,02)	p_{1/2} > 0,05 p_{2(I/III)} < 0,01	0,50 ± 0,065 (0,39-0,59)	p_{1(I/III)} < 0,01 p_{1/2} > 0,05 p_{2(I/III)} < 0,05
	G₂	5	4,61 ± 0,53 (3,42-5,16)		0,52 ± 0,064 (0,44-0,60)	
IV	G₁	5	4,24 ± 0,92 (3,11-5,83)	p_{1/2} > 0,05 p_{2(I/IV)} < 0,01	0,47 ± 0,05 (0,36-0,54)	p_{1(I/IV)} < 0,001 p_{1/2} > 0,05 p_{2(I/IV)} < 0,01
	G₂	5	3,26 ± 1,14 (1,36-5,09)		0,44 ± 0,021 (0,41-0,46)	

Un tablou similar se desprinde și vizavi de dinamică conținutului de **HPL** în plasmă și în eritrocite. Astfel, la vițeii din lotul martor (**G₁**) cantitatea de **HPL** în plasmă scade cu 66,7 %, iar la lotul **G₂** - cu 76,4 %, față de nivelul inițial, iar în eritrocite scade cu 27,7 % și 40,1 %, respectiv. Diferența dintre loturi, după conținutul de **HPL** în plasmă, fiind cu 23,7 % mai mare la prima cercetare la lotul **G₂**, la ultima cercetare ajunge să fie cu 14,1 % mai mică decât la martor, iar în eritrocite, fiind cu 18,0 % mai mare, ajunge să fie cu 2,3 % mai mică, respectiv (fig. 5.1.16. și 5.1.17.).

Prin urmare, se poate remarca, că odată cu maturizarea vițeilor și atingerea vârstei de cca 200 zile, conținutul produselor de peroxidare a lipidelor (**HPL** și **DAM**), atât în plasmă cât și în eritrocite, scade progresiv în comparație cu nivelul lor constatat la vârsta de 70 zile, fapt ce poate fi legat, în primul rând, de particularitățile metabolice. Totodată, scăderea nivelului de aceste produse în substraturile menționate, după cum s-a descris mai sus, este mai pronunțată la lotul **G₂**, care a primit ca supliment oligominerale în formă proteainată (“Bioplex”).

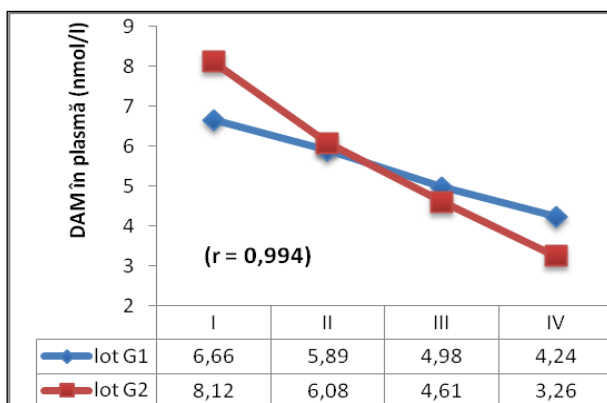


Figura 5.1.14. Dinamica DAM în plasmă

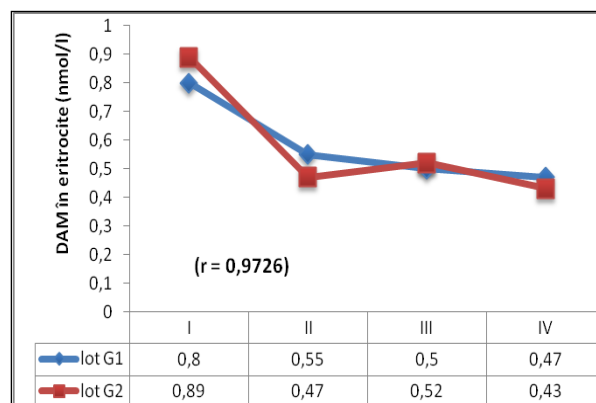


Figura 5.1.15. Dinamica DAM în eritrocite

Din rezultatele descrise mai sus, reiese, că la lotul experimental de viței, numit **G₂**, care au primit ca supliment furajer oligominerale în formă organică, inclusiv Se, s-a constatat un avantaj în sporul masei corporale, în dinamica procesului de eritropoieză și dinamica statusului antioxidant, exprimată prin creșterea activității enzimelor cu rol protector antioxidant (**CAT**, **SOD**, **GSH-Px** și **GR**) în eritrocite, sporirea capacității antioxidative totale (**AAT**) și diminuarea mai pronunțată a produselor peroxidării lipidelor (**HPL** și **DAM**) în plasmă și eritrocite, decât la viței din lotul martor.

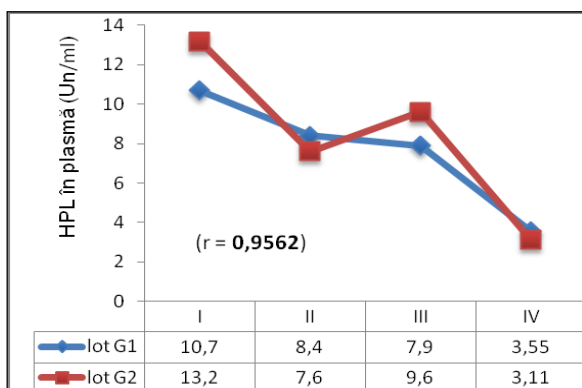


Figura 5.1.16. Dinamica HPL în plasmă

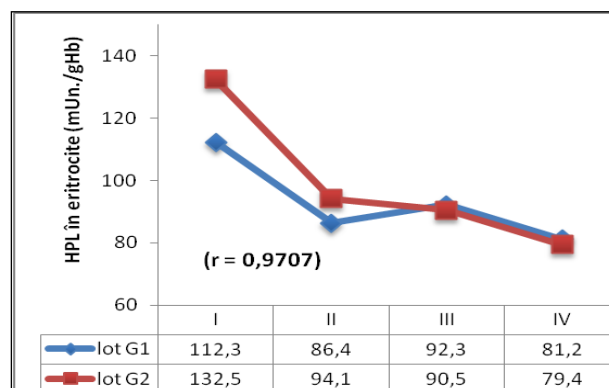


Figura 5.1.17. Dinamica HPL în eritrocite

5.2. Particularitățile statusului antioxidant la viței cu vârsta de 1,5-2 luni și vaci în prima lactație (experiența „E”)

Desfășurarea normală a proceselor metabolice în organism, este însoțită de formarea continuă a radicalilor liberi de oxigen (RLO) [138] și altor forme neradicalice, numite specii reactive de oxigen (SRO) [162, 173]. Prin rolul îndeplinit în reglarea importantelor funcții celulare, cum ar fi: semnalarea intracelulară, activarea transcripției, reglarea apoptozei, distrugerea microorganismelor în fagocite etc., aceste fenomene sunt indispensabile pentru menținerea vitalității organismelor aerobe [9, 162, 3].

Pe lângă efectele benefice, SRO posedând o reactivitate oxidativă extremă, pot exercita o acțiune devastatoare asupra structurilor și funcțiilor celulare. Prin oxidarea lipidelor și proteinelor are loc perturbarea proprietăților biologice ale membranelor, inactivarea enzimelor, fragmentarea proteinelor, alterarea ADN-lui etc. [57, 85]. Prevenirea respectivelor consecințe, considerate drept mecanisme patobiochimice universale în inițierea sau progresia diferitor boli [3, 29], se realizează prin funcționarea sistemului antioxidant (SAO) de protecție. Componentele enzimatice și neenzimatice ale acestuia dețin controlul asupra nivelului de SRO în celule, contribuind la contrabalansarea proceselor de oxidare și menținerea statusului „redox” în organism [110, 162].

Deoarece, totalitatea proceselor fizico-chimice din organism, care se realizează prin intermediul reacțiilor de oxidare cu participarea SRO constituie cca. 25 % [49], echilibrul dintre oxidanți și antioxidanți este considerat ca unul din parametrii majori ai homeostaziei pentru organisme aerobe [103], de rând cu alte funcții importante, cum ar fi cea a sistemelor-tampon de menținere a pH-lui în sânge [87].

Pentru fiecare categorie de vârstă a animalelor sau perioadă fiziologică, este caracteristic un anumit nivel al metabolismului SRO [42], care de fapt, predetermină particularitățile **statusului redox** (antioxidant), iar problemele legate de evaluarea capacităților acestuia la diferite specii, inclusiv la bovine, se află pe agenda zilei.

Cercetările descrise în acest capitol s-au efectuat pe un efectiv de 36 bovine sănătoase dintre care, 20 vaci la 3–4 luni din prima lactație (lotul **E₁**) și 16 viței de 6-8 săptămâni (lotul **E₂**). Scopul investigației a fost studierea concomitent la ambele loturi, a dinamicii indicilor sistemului antioxidant (SAO): **AAT, AOT, SOD, CAT, GR, GSH**, a produselor de peroxidare a lipidelor **HPL** și **DAM**, și a indicilor eritronului. Probele de sânge au fost prelevate în trei reprize, cu interval de 14 – 15 zile, în paralel cu monitorizarea stării clinice.

De menționat că cercetările au început în a doua jumătate a lunii noiembrie și s-au desfășurat pe parcursul a 30 de zile, perioadă care s-a caracterizat, din punct de vedere

meteorologic, prin răcirea vremii, cu menținerea temperaturilor nocturne scăzute până la -8°C , iar pe timpul zilei – cu puțin sub 0°C . Variația temperaturii aerului în zona valorilor negative, a fost mai accentuată la momentul investigației a doua, urmată de revenirea la valori diurne pozitive (cu puțin peste 0°C) la momentul investigației finale. O altă circumstanță, semnalată pe parcurs, a fost admiterea unor deficiențe de ordin tehnic, în asigurarea nutriției adecvate, în special a vacilor, chiar din faza incipientă a investigațiilor.

Astfel, răcirea sezonieră a timpului, cu instalarea condițiilor mai puțin favorabile pentru confortul termic, cât și aportul nutrițional neadecvat, care au fost semnalate pe parcursul investigațiilor, urmează a fi considerate ca eventuali factori, care puteau să influențeze într-o măsură oarecare, echilibrul fonului metabolic în ansamblu, dar și dinamica statusului antioxidant la animalele din loturile monitorizate.

5.2.1. Indicii clinici și indicii eritronului

Prin monitorizarea parametrilor clinici (odată cu prelevarea probelor de sânge), s-a determinat, că la vaci temperatura corporală variază în jurul valorii de 38°C , frecvența pulsului – în jurul valorii de 70 contr./min și frecvența respirației – în jurul valorii de 22 mișc./min. La viței temperatura corporală medie variază între valorile de $39,1 - 39,4^{\circ}\text{C}$, pulsul – 121,8-123,9 contr./min și respirația – 27,6 - 29,2 mișc./min. La vaci, totodată, se poate observa o creștere ușoară a indicilor la cercetarea a doua după care s-a produs iarăși scăderea lor (tab. 5.2.1.).

Tabelul 5.2.1. Dinamica indicilor clinici la vaci și viței (experiența „E”)

Indicii	Lotul	Cercetare		
		I	II	III
		$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$
T ($^{\circ}\text{C}$)	E ₁	$38,08 \pm 0,21$	$38,25 \pm 0,51$	$38,15 \pm 0,39$
	E ₂	$39,4 \pm 0,19$	$39,1 \pm 0,62$	$39,3 \pm 0,43$
P (contr./min)	E ₁	$69,4 \pm 5,41$	$75,6 \pm 4,82$	$65,8 \pm 5,76$
	E ₂	$121,8 \pm 5,72$	$123,9 \pm 8,7$	$123,7 \pm 6,16$
R (mișc./min)	E ₁	$22,1 \pm 2,53$	$23,2 \pm 4,04$	$20,2 \pm 3,22$
	E ₂	$28,9 \pm 2,7$	$27,6 \pm 3,92$	$29,2 \pm 2,92$

Luând în considerație, că starea generală a fost satisfăcătoare și indicii clinici la ambele loturi variază în limitele fiziologice caracteristice categoriei de vârstă se poate spune, că animalele din ambele loturi au fost clinic sănătoase.

Prin urmare, valorile și variațiile individuale ale indicilor clinici, cât și dinamica evolutivă a lor pot fi privite, în primul rând, ca reflecție a particularităților metabolice de vârstă, dar și/sau rezultatul adaptărilor homeostatice la acțiunea factorilor din exterior, cum a fost,

bunăoară, scăderea temperaturii mediului (sub 0 °C), odată cu începutul sezonului de iarnă (luna decembrie).

În acest context, poate fi menționată, în special la vaci, creșterea temperaturii corporale cu câteva zecimi de grade Celsius, la cercetarea a doua, fenomen care a coincis cu momentul răcirii accentuate a timpului (începutul lunii decembrie), comparativ cu fonul termic înregistrat inițial (jumătatea a doua a lunii noiembrie) și poate fi interpretată drept reacție de adaptare a organismului la condițiile de disconfort termic.

Analizând dinamica indicilor eritronului, s-a constatat, că variațiile acestora în perioada cercetărilor, au fost asemănătoare atât la vaci, cât și la viței. Astfel, la lotul de vaci (**E₁**), s-a constatat o tendință clară de creștere a numărului de eritrocite, a **Ht**-lui și **Hb**-ei la cercetarea a doua, comparativ cu nivelul inițial, urmată de o diminuare moderată la cercetarea finală (tab. 5.2.2.).

Această dinamică a eritronului, în special a **Ht**, poate fi expresia unei hemoconcentrații relative, ca unul din mecanismele de adaptare a organismului la condițiile unor temperaturi externe mai scăzute (cercetarea a doua), comparativ cu temperaturile inițiale, care erau încă pozitive.

La viței (lotul **E₂**), după cum se vede din același tabel, cinetică numărului de eritrocite este similară celei descrise la vaci, iar în privința **Ht**-lui și a conținutului de **Hb**, se poate menționa o creștere progresivă față de nivelul inițial, care la cercetarea a treia s-a dovedit a fi egală cu 4,8 % și 11,5 % față de cercetarea a două, respectiv.

Tabelul 5.2.2. Dinamica indicilor eritronului la vaci și viței (experiența „E”)

Indicii	Lotul	Cercetare		
		I	II	III
		M ± m	M ± m	M ± m
Hematocrit (%)	E ₁	29,35 ± 4,41	36,2 ± 4,72	28,6 ± 1,53
	E ₂	30,0 ± 6,11	30,8 ± 4,58	32,3 ± 2,05
Eritrocite (x10 ¹² /l)	E ₁	4,12 ± 0,26	5,02 ± 0,51	4,71 ± 0,17
	E ₂	4,10 ± 0,23	5,15 ± 0,51	4,83 ± 0,25
Hemoglobină (g/l)	E ₁	91,05 ± 7,21	129,5 ± 15,4	97,7 ± 6,24
	E ₂	84,80 ± 6,11	94,0 ± 11,9	104,8 ± 8,24

Penru ambele loturi este comun și faptul, că valorile medii ale indicilor menționați se află la limita inferioară a normativelor fiziologice, în special la prima cercetare, dar care ulterior urcă, depășind cu puțin această limită. Deși, creșterea eritronului este mai elocventă la lotul de viței, se poate menționa, că și la lotul de vaci sau produs modificări pozitive în dinamica numărului de eritrocite și a conținutului de **Hb**-nă, în special. Astfel, la cercetarea a treia se constată valori mai

înalte ale eritrocitelor și hemoglobinei comparativ cu nivelul inițial, la lotul de vaci (**E₁**) cu 14,32 % și 7,3 %, iar la lotul de viței (**E₂**) cu 17,3 % și 23,6 %, respectiv.

Deoarece, la ambele loturi, variațiile eritronului s-au aflat în zona limitei inferioare de referință, se poate menționa, că atât la viței cât și la vaci în perioada cercetărilor s-a constatat o stare de anemie ușoară, fapt ce poate fi explicat pe seama deficiențelor organizatorice (tehnice) semnalate, în asigurarea nutriției calitative.

Totodată, ținând cont de ambele circumstanțe, se poate menționa, că dinamica eritronului a fost influențată în perioada respectivă, atât de factorii de mediu (temperatura scăzută), dar și de comiterea unor erori în nutriția animalelor.

5.2.2. Componentele enzimaticale ale sistemului antioxidant

Statusul redox, fiind unul din mecanismele importante pentru menținerea homeostaziei dintre oxidanți și antioxidanți, este unul din sistemele care asigură sănătatea organismului [103].

Statusul antioxidant în loturile selectate (**E₁** și **E₂**) a fost apreciat după câteva criterii:

- a) activitatea enzimelor cu funcție protectoare antioxidantă (**SOD**, **CAT**, **GR**) și conținutul de glutatation redus (**GSH**);
- b) activitatea anti- și prooxidantă a sângelui (**AAT** și **AOT**);
- c) conținutul produselor de peroxidare a lipidelor (**HPL** și **DAM**).

• Activitatea superoxid dismutazei (**SOD**) și catalazei (**CAT**) în sânge

Rezultatele obținute, referitor la activitatea enzimelor cu funcție antioxidantă au arătat, că activitatea **SOD** în plasmă, la ambele loturi are aceeași caracteristică, exprimată prin creșterea la vaci cu 13,3 % la cercetarea a II, urmată de o scădere cu 18,0 % la ultima cercetare, iar la viței – creștere de 9,8 % urmată de o scădere cu 16,8 %, respectiv (tab. 4.4.3.). Valorile individuale la prima cercetare oscilează în limitele de 79,5-116,9 Un/ml la vaci și 60,25-126,6 Un/ml la viței, iar la cercetarea a III – în limitele de 74,4-119,04 Un/ml și 43,8-115,9 Un/ml, respectiv.

Referitor la activitatea **SOD** în eritrocite, se poate menționa, că dinamica acesteia nu este similară cu cea înregistrată în plasmă, însă ea a fost identică la ambele loturi, exprimându-se prin creștere progresivă față de nivelul inițial (tab. 4.4.3.). La lotul de vaci creșterea a fost mai pronunțată, având valoarea de 61,4 % la cercetarea a II și de 61,2 % la cercetarea a III (comparativ cu a II), pe când la viței creșterea a fost de 50,4 % și de 9,55 %, respectiv. Valorile individuale variază la prima cercetare în limitele 0,66-3,63 Un/mgHb la vaci și 2,42-5,33 Un/mgHb la viței, iar la cercetarea a III – în limitele de 3,36-8,16 Un/mgHb și 4,34-7,11 Un/mgHb, respectiv.

Activitatea **CAT** în eritrocite la lotul de vaci a avut o dinamică descrescătoare, înregistrând la cercetarea a treia o scădere cu 35,1 %, față de valoarea inițială. Spre deosebire de lotul de vaci, la viței activitatea enzimei (**CAT**) scade către a doua cercetare cu 18,4 % după care urmează o creștere cu 28,9 % (tab. 5.2.3.). Variațiile individuale a **CAT** la vaci se situează în limitele 4,5 - 8,5 mcmol/s.gHb, iar la viței în limitele de 4,08 - 7,37 mcmol/s.gHb.

Tabelul 5.2.3. Activitatea superoxid dismutazei (SOD) și catalazei (exp. „E”); („xx” – $p > 0,05$)

Indicii	Lotul	Cercetare					
		I		II		III	
		n	$M \pm m/(\text{lim})$	n	$M \pm m/(\text{lim})$	n	$M \pm m/(\text{lim})$
SOD în plasmă (Un/ml)	E₁	20	98,3 ± 10,5 (79,55-116,9)	18	111,4 ± 3,51 (105,3-124,46)	20	91,43 ± 6,82 (74,4-119,04)
		xx		$P_{II-III} < 0,05$		xx	
		xx		$P_{E1-E2} < 0,001$		xx	
	E₂	16	87,94 ± 10,1 (60,25-126,6)	13	96,64 ± 8,1 (76,5-113,8)	11	80,34 ± 11,39 (43,8-115,9)
SOD în eritrocite (Un/mgHb)	E₁	20	1,92 ± 0,76 (0,66-3,63)	20	3,1 ± 0,72 (2,13-5,49)	20	5,0 ± 0,89 (3,36-8,16)
		xx		xx		$P_{I-III} < 0,05$	
		xx		$P_{E1-E2} < 0,005$		xx	
	E₂	16	3,41 ± 0,55 (2,42-5,33)	13	5,13 ± 0,52 (4,19-6,53)	11	5,62 ± 0,48 (4,34-7,11)
		$P_{I-II} < 0,05$		xx		$P_{I-III} < 0,01$	
CAT ^(xx) în eritrocite (mcmol/s.gHb)	E₁	20	6,66 ± 1,015 (4,50-8,50)	20	5,05 ± 0,787 (3,8-7,0)	20	4,32 ± 0,764 (2,60-6,0)
	E₂	16	5,59 ± 0,71 (4,08-7,37)	13	4,56 ± 0,52 (2,70-6,27)	11	5,88 ± 0,96 (2,92-8,39)

Reeșind din rezultatele obținute, se poate menționa, că dinamica markerilor anti- și prooxidativi, pe parcursul a trei investigații consecutive, nu a fost una univocă, nici în raport cu vârstă subiecților (vacii și viței), și nici în funcție de substratul examinat (plasmă și eritrocite), cu excepția doar a câtorva indici dintre cei opt determinați. Considerăm că dinamica invocată, poartă amprenta intensității metabolice specifice categoriei de vârstă, din cele două cercetate, cât, și a particularităților biologice ale substratului în care aceștea au fost dozați.

Astfel, pe diagramele de mai jos, care reflectă modificările activității **SOD**, în perioada de cercetare, se profilează o dinamică identică la ambele loturi (**E₁** și **E₂**), exprimată în plasmă prin creștere la cercetarea a doua și urmată de o scădere la cercetarea a treia ($r_{E1-E2} = 0,9901$) (fig. 5.2.1.), sau prin creștere progresivă în eritrocite, comparativ cu nivelul inițial la lotul **E₁** de 2,6 ori și de 1,64 ori la lotul **E₂** ($r_{E1-E2} = 0,9025$) (fig. 5.2.2.).

Deoarece, dinamica activității **SOD**, la ambele loturi (**E₁** și **E₂**) s-a dovedit a fi similară, se poate considera că factorii care au putut influența în perioada cercetărilor acest indice sunt aceiași. Totodată, influența lor se manifestă în mod diferit la nivel de cele două substraturi cercetate (plasmă și eritrocite), atât la vaci cât și la viței.

Alt aspect al activității superoxidismutazei (**SOD**), care rezumă din datele obținute, este nivelul sumar mediu calculat pentru fiecare lot în parte, pe întreaga perioadă investigativă. În acest context, nivelul activității **SOD** în plasmă la lotul de vaci (lotul **E₁**) s-a menținut mai înalt cu 11,4 % ($p > 0,05$) (fig. 5.2.1.), comparativ cu lotul **E₂**, iar nivelul activității **SOD** în eritrocite s-a menținut mai înalt la lotul de viței (**E₂**) cu 27,0 % ($p > 0,05$), comparativ cu cel înregistrat la vaci (fig. 5.2.2.).

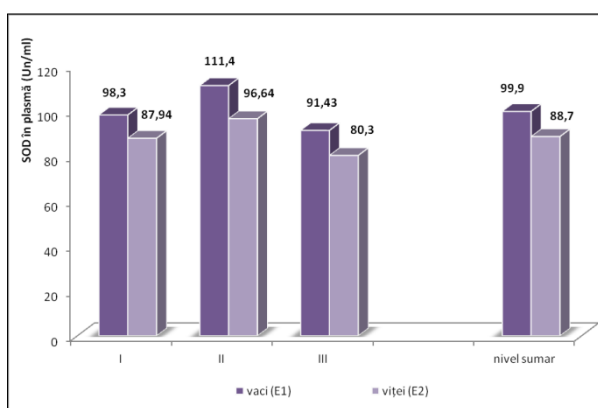


Fig. 5.2.1. Dinamica SOD în plasmă

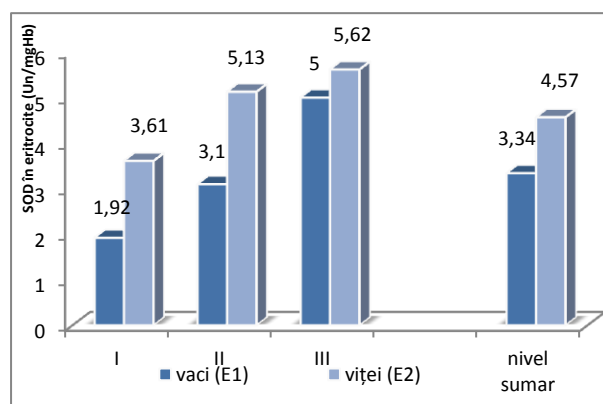


Fig. 5.2.2. Dinamica SOD în eritrocite

Aceste date, privind activitatea **SOD**, vorbesc despre nivelul sporit de formare a radicalului superoxid anion (O_2^-), cel puțin în eritrocite, fapt ce poate fi interpretat drept consecință a intensității sporite a metabolismului la viței (lotul **E₂**), comparativ cu intensitatea proceselor metabolice la vacile în prima lactație (lotul **E₁**).

Modificările activității **CAT** în eritrocite au o proiecție diferită la lotul **E₁**, vizavi de lotul **E₂**, spre deosebire de dinamica **SOD**, care a avut o tendință similară, de creștere, la ambele loturi. Astfel, la lotul de vaci, nivelul **CAT** a scăzut progresiv către cercetarea a treia, de 1,54 ori, față de nivelul inițial. La viței (lotul **E₂**), după diminuarea activității la investigația a doua, urmează o creștere, astfel încât valoarea finală ajunge să fie mai mare decât cea inițială cu 5,2 %. Prin urmare, factorii metabolici, care au cauzat sporirea activității **SOD** în eritrocite, în mod similar la ambele loturi, au influențat în mod diferit asupra activității **CAT** în eritrocite la lotul **E₁** și **E₂**.

Datorită acestei dinamici fluctuante, activitatea **CAT** în eritrocite la viței, la ultima investigație ajunge să fie cu 36 % mai înaltă, decât la lotul de vaci, fiind anterior (la cercetarea I și II) cu 14 % și 11,3 % mai mică, respectiv. Totodată, datorită aceleiași dinamici hazardate,

nivelul sumar mediu al activității **CAT**, ajunge să fie la lotul **E₁** egal cu 5,25 $\mu\text{mol/s}\cdot\text{gHb}$, iar la lotul **E₂** - cu 5,34 $\mu\text{mol/s}\cdot\text{gHb}$, adică la o diferență dintre loturi de numai 1,3 % (fig. 5.2.3.).

Referitor la activitatea **SOD** și **CAT** în eritrocite, se mai poate menționa că, la vaci, dinamica acestor două enzime, se caracterizează printr-o corelație negativă destul de semnificativă ($r = -0,9400$), fapt care la prima vedere pare să nu fie logic, deoarece funcția catalazei constă în descompunerea peroxidului de hidrogen (H_2O_2), iar acesta se formează în celule în urma neutralizării de către **SOD** a anionului superoxid.

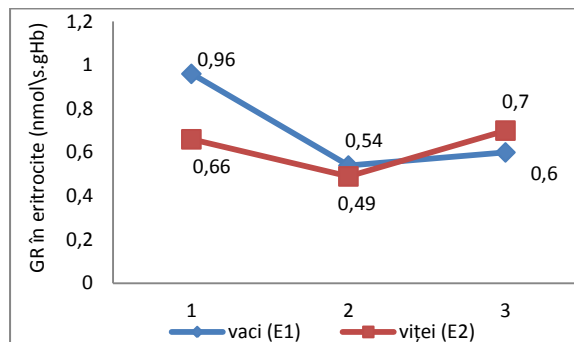
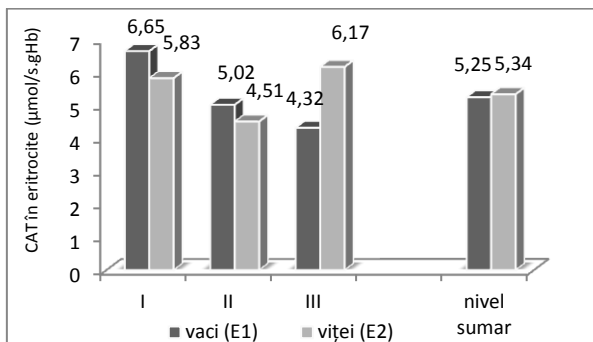


Fig. 5.2.3. Dinamica catalazei în eritrocite Fig. 5.2.4. Dinamica glutathion reductazei (GR) în eritrocite

Prin urmare creșterea activității **SOD** ar urma să fie însoțită de aflulxul de H_2O_2 și creșterea activității **CAT**, care să-l anihileze. Deoarece, în cazul lotului de vaci corelația dintre activitatea enzimelor **SOD** și **CAT** este negativă se poate presupune, că inactivarea în acest caz a H_2O_2 are loc și cu concursul altor enzime cum ar fi peroxidazele, care în cercetarea dată nu au fost dozate.

• Activitatea glutathion reductazei (GR) și conținutul de glutathion redus (GSH) în sânge

Conținutul de glutathion redus (**GSH**) în eritrocite – unul dintre cei mai importanți din categoria antioxidantilor intracelulari cu proprietăți hidrofile [85], oscilează la lotul de vaci în limite moderate, de la 63 mcmol/l până la maximala de 126 mcmol/l (tab. 5.2.4.). Pe când, la lotul de viței valorile individuale variază în limite mai mari, de la 50,4 mcmol/l până la 195,3 mcmol/l .

La prima cercetare cantitatea de **GSH** la viței era cu 40,4 %, mai scăzut decât la lotul de vaci. Pe parcurs însă, nivelul de **GSH** la viței crește considerabil, astfel încât la cercetarea a doua ajunge să fie cu 62 %, iar la a treia – cu 92,3 % mai înalt decât la lotul de vaci.

De menționat, că dinamică conținutului de **GSH** este similară la ambele loturi, exprimându-se prin sporirea acestuia la cercetarea a doua cu 19 % la lotul **E₁** și de 3,23 ori la lotul **E₂**, față de nivelul primei cercetări, urmată (cercetarea a III) de o diminuare cu 23 % și cu 9%, respectiv, față de cercetarea a doua.

Dinamica glutation reductazei (**GR**), - enzimă, care menține în celule cantitatea necesară de glutation redus (**GSH**) [7], are o evoluție identică la ambele loturi și în ambele substraturi (eritrocite și plasmă). Astfel, atât la lotul **E₁**, cât și la lotul **E₂** la a doua cercetare s-a înregistrat scăderea activității **GR** în eritrocite cu 43,8 % și 26,0 %, respectiv, iar în plasmă cu 40,6 % și 28,4 %, urmată de o creștere ulterioară (a III cercetare) cu 11,1% și 43 % în eritrocite și 13,8 % și 81 % în plasmă, respectiv (tab. 5.2.4.).

Tabelul 5.2.4. Conținutul de glutation redus (GSH) și activitatea glutation reductazei (GR) în sânge (experiența „E”); („xx” – p > 0,05)

Indicii	Lotul	Cercetare					
		I		II		III	
		n	M ± m/(lim)	n	M ± m/(lim)	n	M ± m/(lim)
GSH în eritrocite (mcmol/l)	E₁	20	89,15 ± 13,73 (63-126)	20	106,16 ± 12,83 (69,3-126)	20	81,64 ± 9,1 (63-100,8)
		$P_{E1-E2} < 0,05$		$P_{E1-E2} < 0,001$		$P_{E1-E2} < 0,01$	
	E₂	14	53,15 ± 3,10 (50,4-56,7)	13	172,0 ± 10,13 (151,2-195,3)	11	157,0 ± 18,9 (119,7-195,3)
		$P_{I-II} < 0,01$		xx		$P_{I-III} < 0,001$	
GR^(xx) în plasmă (nmol/s/l)	E₁	20	2608 ± 509,7 (1631-4829)	19	1551 ± 219,8 (1150-2254)	19	1766 ± 407,4 (1100-4454)
	E₂	16	1593 ± 399,8 (975,2-2378)	13	1142 ± 258,2 (673,5-2040)	11	2065 ± 458,5 (1198-4115)
GR^(xx) în eritrocite (nmol/s.gHb)	E₁	20	0,96 ± 0,31 (0,52-1,63)	20	0,54 ± 0,142 (0,14-1,02)	19	0,60 ± 0,244 (0,27-1,38)
	E₂	14	0,66 ± 0,189 (0,315-1,634)	13	0,49 ± 0,253 (0,183-1,416)	11	0,70 ± 0,264 (0,32-1,269)

În contextul analizei activității enzimelor care asigură protecția antioxidantă a celulelor se poate menționa, că și dinamica **GR**-ei a fost similară la ambele loturi (**E₁** și **E₂**). Din rezultatele prezentate se vede că, activitatea **GR**-ei în plasmă, la ambele loturi se află în raport direct față de activitatea **GR** din eritrocite (la vaci $r = 0,9981$ și la viței $r = 0,9371$), ceea ce permite să presupunem, că nivelul **GR**-ei în plasmă în mare măsură este dependent de nivelul acesteia în eritrocite și probabil, de proprietatea de difuziune a enzimei în mediul extracelular (fig. 5.2.4., 5.2.6.).

Alt aspect al activității **GR** îl reprezintă corelația dintre activitatea acesteia și conținutul de glutation redus (**GSH**) din eritrocite. Acest raport corelativ la ambele loturi are semnificație negativă (la viței $r = - 0,4443$; la vaci $r = 0,3452$) și exprimă probabil faptul, că în faza de sporire a conținutului de **GSH** în eritrocite, drept răspuns la acțiunea unor factori pro-oxidativi, are loc inhibarea activității **GR**, sau consumul acesteia. Tot despre acest aspect al corelației **GSH/GR**

vorbește și nivelul sumar al activității **GR**, care la lotul de vaci (**E₁**) s-a menținut mai înalt decât la viței (**E₂**), în plasmă cu 23,4 %, iar în eritrocite cu 13,3 %, necătând la faptul că la lotul de viței nivelul sumar de **GSH** este mai mare (fig. 5.2.6.).

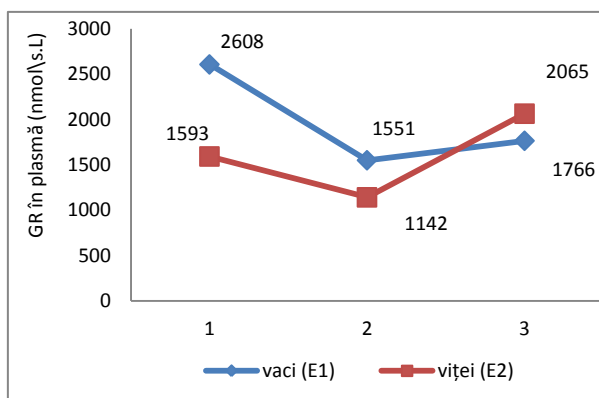


Fig. 5.2.5. Dinamica GR în plasmă

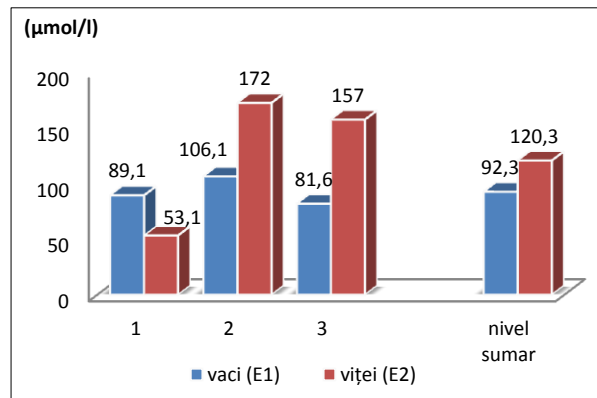


Fig. 5.2.6. Dinamica GSH în eritrocite

Această circumstanță ne permite să facem supoziția, că la viței, menținerea nivelului homeostazic de glutatation redus, necesar protecției antioxidative eficiente în eritrocite, s-a realizat și prin alte mecanisme decât cel asigurat prin funcția sa biologică de către glutatation reductază (**GR**). Mecanismul alternativ de sporire al nivelului de glutatation redus, ar putea fi activarea procesului de sinteză “de novo” al acestuia în organism în condiții de suprasolicitare, cum ar fi în cazul dat ajustarea intensității metabolice pentru adaptare la condițiile meteorologice, de răcire a timpului.

Nivelul sumar mediu de **GSH**, la lotul de viței (**E₂**) este cu 30,3 % mai mare comparativ cu lotul de vaci (**E₁**). Creșterea pronunțată a cantității de **GSH**, la lotul de viței, ar putea fi luată drept răspuns la intensificarea proceselor de peroxidare [57] și considerată ca unul din mecanismele adaptiv-compensatorii.

5.2.3. Dinamica activității anti- și prooxidante în sânge

Referitor la activitatea antioxidantă totală (**AAT**) determinată în plasmă și în eritrocite se poate menționa, că aceasta a avut o dinamica identică la ambele loturi (**E₁** și **E₂**) și în ambele substraturi cercetate. Conform, datelor din tabelul 5.2.5. în perioada cercetărilor indicele **AAT** a avut o creștere progresivă față de nivelul inițial. La lotul de vaci, **AAT** în plasmă a sporit cu 7 % la cercetarea a doua și cu 7,9 % la cercetarea a treia, față de inițial, iar la viței – cu 8,5 % și 15,2 %, respectiv. În eritrocite **AAT** a sporit, către cercetarea finală, la vaci cu 25 %, iar la viței respectiv cu 35,6 %, față de nivelul inițial. Prin urmare, la lotul de viței (**E₂**) s-a înregistrat o creștere mai considerabilă a **AAT** decât la vaci și în plasmă, și în eritrocite. La ultima cercetare valorile nominale a **AAT**, au ajuns să fie aproximativ egale la ambele loturi, spre deosebire de

valorile inițiale care erau în favoarea lotului de vaci cu o diferență de 9,2% în plasmă și respectiv – cu 8,7 % în eritrocite.

Astfel, creșterea valorilor **AAT** în plasmă și în eritrocite, în paralel la ambele loturi, arată asupra faptului, că la animalele cercetate a sporit în sânge conținutul de compuși cu proprietăți antioxidative.

Tabelul 5.2.5. Activitatea antioxidantă și oxidantă totală în sânge (exper. „E”); („xx” – $p > 0,05$)

Indicii	Lotul	Cercetare					
		I		II		III	
		n	$M \pm m /(\ell im)$	n	$M \pm m /(\ell im)$	n	$M \pm m /(\ell im)$
AAT^(xx) în plasmă (%)	E₁	20	67,78 ± 3,34 (59,84-75,41)	20	72,54 ± 1,54 (69,63-75,92)	20	73,14 ± 1,42 (70,4-76,4)
	E₂	16	62,02 ± 5,90 (49,22-75,66)	13	67,85 ± 3,94 (58,64-73,82)	11	71,44 ± 2,48 (67,2-75,6)
AAT în eritrocite (%/g Hb)	E₁	20	114,7 ± 5,86 (103,9-134,1)	20	124,5 ± 6,05 (111,9-137,1)	20	143,4 ± 7,5 (125,8-158,4)
		xx		xx		$P_{I-III} < 0,01$	
	E₂	16	105,5 ± 9,71 (85,05-140,67)	13	111,4 ± 8,17 (92,79-128,5)	11	143,1 ± 8,9 (125,16-154,89)
		xx		$P_{II-III} < 0,05$		$P_{I-III} < 0,01$	
AOT în plasmă (%)	E₁	20	36,79 ± 5,43 (26,98-47,06)	20	40,45 ± 5,25 (31,42-50,0)	20	34,75 ± 8,43 (17,5-51, 47)
		$P_{E1-E2} < 0,05$		xx		xx	
	E₂	16	49,06 ± 1,69 (44,9-51,51)	11	40,67 ± 3,35 (34,25-46,07)	11	30,28 ± 4,63 (20-43,86)
		$P_{I-II} < 0,05$		xx		$P_{I-III} < 0,001$	

Spre deosebire de dinamica **AAT** menționată deja, activitatea oxidativă totală (**AOT**) nu are o proiecție similară pentru ambele loturi. Astfel, dinamica **AOT** (în plasmă), la lotul de vaci se remarcă, la cercetarea a doua, prin creșterea față de valoarea inițială cu 9,9 %, succedată apoi de o scădere cu 14 % față de cercetarea II, nivel care se constată a fi cu 5,6 % mai mic decât cel inițial. În același timp, la viței (lotul **E₂**), se constată scăderea progresivă a valorii **AOT** cu 17 % și 25 %, respectiv, fapt care duce la micșorarea considerabilă (cu 38 %), a valorii finale a **AOT**, compativ cu nivelul inițial. Această diminuare a indicelui **AOT** față de valorile inițiale, comună pentru ambele loturi, reflectă micșorarea cantității de compuși cu proprietăți prooxidative în plasmă.

Referitor la variațiile individuale a **AAT** se poate menționa, că la vaci ele se situează în limitele dintre 59,8 - 76,4 % în plasmă și 103,9 - 158,4 % în eritrocite, iar la viței între 49,2 - 75,6 % și 85,0 - 154,9 %, respectiv. Iar activitatea oxidativă totală (**AOT**) în plasmă se exprimă

prin valori individuale cuprinse în următoarele limite: la vaci 17,5 - 51,47 %, iar la viței de la 20,0 până la 51,51 % (tab. 5.2.5.). Totodată, se constată nivel sumar mediu al **AAT**, calculat pentru toate trei cercetări, la vaci mai înalt decât la lotul de viței, în plasmă cu 4,15 unități procentuale și în eritrocite cu 7,7 unități procentuale, iar nivelul sumar mediu al **AOT** în plasmă s-a dovedit a fi mai scăzut la vaci, decât la viței, cu 2,7 unități procentuale.

Activitatea sumară antioxidantă a sângelui testată prin dozarea **AAT** în plasmă și în eritrocite, după cum s-a menționat anterior și, după cum se vede din figurile ce urmează (fig. 5.2.7., fig. 5.2.8.), a crescut progresiv pe parcursul investigației la ambele loturi. Această dinamică ascendentă, după părerea noastră, reflectă reacția de adaptare a organismului, la acțiunea factorului major care a acționat în perioada cercetărilor, comun atât pentru vaci cât și pentru viței, și anume expunerea la temperaturi scăzute în prima lună de iarnă. O interpretare asemănătoare a capacității integrale pro- și antioxidative este expusă de [41], care menționează că creșterea acestora este rezultatul activării reacțiilor de formare a SRO.

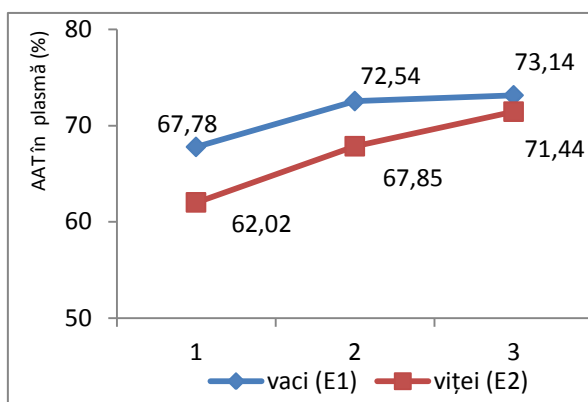


Fig. 5.2.7. Dinamica AAT în plasmă

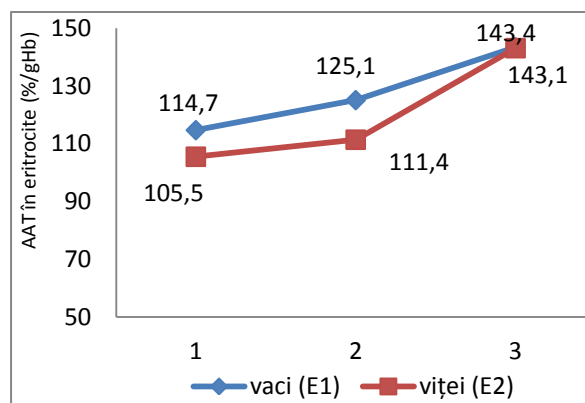


Fig. 5.2.8. Dinamica AAT în eritrocite

La vaci, **AAT** se menține la nivel mai înalt decât la viței ceea ce reflectă o capacitate mai sporită de protecție antioxidantă la animalele mature, comparativ cu lotul de tineret. Această tendință se menține atât în plasmă, cât și în eritrocite și este observată mai bine la cercetarea întâi și a doua (fig. 5.2.7., fig. 5.2.8.), dar și după nivelul sumar mediu calculat pentru toate trei cercetări (tab. 5.2.6.).

La lotul de viței dinamica **AAT** la fel poate fi calificată ca una pozitivă, deoarece către sfârșitul cercetărilor se exprimă printr-o creștere în raport cu valoarea inițială, mai pronunțată decât la vaci, atât în eritrocite cât și în plasmă. Tendință respectivă se confirmă și prin sporirea coeficientului **AAT/AOT**, care exprimă raportul matematic dintre capacitatea anti- și prooxidativă din plasmă. Acesta, la lotul de viței (**E₂**), ajunge la cercetarea finală la valoarea de 2,36 un., fiind în creștere cu 1,10 un. față de prima cercetare și, totodată, cu 0,26 un. mai mare decât la lotul **E₁**, spre deosebire de nivelul inițial care era cu 0,58 un. mai mic decât la vaci.

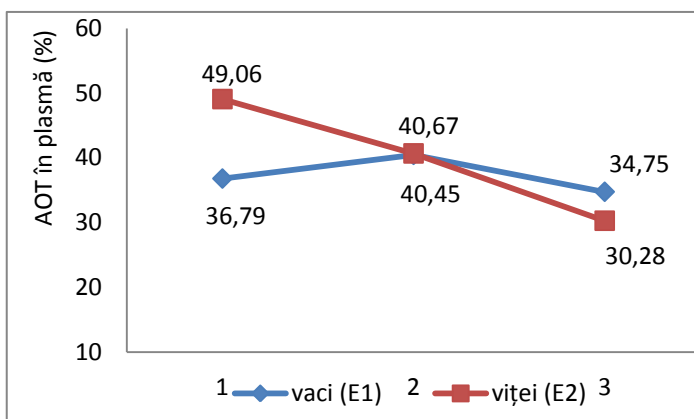
Totodată, coeficientul **AAT/AOT** și la lotul de vaci a înregistrat o dinamică pozitivă exprimată prin creșterea lui către finele cercetărilor cu 0, 26 un. față de nivelul inițial (tab. 5.2.6.).

Tabelul 5.2.6. Nivelul sumar al **AAT** și **AOT** la vaci și viței; („xx” – $p > 0,05$)

Lotul	Nivel sumar mediu			AAT/AOT în plasmă (Un.)		
	(xx) AAT în eritrocite (%/g Hb)	(xx) AAT în plasmă (%)	(xx) AOT în plasmă (%)			
				I	II	III
E₁	127,6	71,15	37,33	1,84	1,79	2,10
E₂	117,8	66,51	41,17	1,26	1,65	2,36

Prin urmare, se poate presupune că, prin ascensiunea **AAT** (fig. 4.4.7., fig. 4.4.8.) și micșorarea **AOT** în plasmă (fig. 5.2.9.), între care se constată o corelație negativă, mai pronunțată la lotul de viței ($r = -0,9799$), se exprimă capacitatea de adaptare a sistemului de protecție antioxidantă, ca răspuns la acțiunea unor factori de suprasolicitare, la ambele loturi de animale. Totodată, la lotul **E₂** acest fenomen poate fi privit și ca componentă a procesului fiziologic de stabilizare a **SAO** la tineretul în dezvoltare.

În același context, merită de menționat și alte aspecte corelaționale ale indicelui **AAT**. Se



constată corelație pozitivă dintre dinamica **AAT** din plasmă și dinamica **AAT** din eritrocite la ambele loturi: la vaci $r = 0,8241$, iar la viței $r = 0,8652$. Prin urmare, modificările menite să asigure stabilizarea statusului antioxidant în condiții de suprasolicitare metabolică se exprimă în egală măsură

Fig. 5.2.9. Dinamica AOT în plasmă

atât la nivel de ambele substraturi supuse cercetării, cât și la ambele categorii de vârstă a animalelor. Între indicele **AAT** și activitatea **SOD** în eritrocite, la fel, s-a constatat o corelație pozitivă care la vaci se exprimă prin $r = 0,9989$, iar la viței $r = 0,7670$, fapt ce sugerează ideea că, **AAT** poate depinde în mare măsură de activitatea **SOD**. O corelație similară dintre **SOD** și **AAT** în eritrocite la oameni, este confirmată de [18], care sunt de părere că nivelul **AAT** în eritrocite, cel puțin parțial, depinde de activitatea **SOD**. Totodată, se vede că deși, **AAT** în expresie valorică este mai înaltă la vaci, activitatea **SOD** în

eritrocite la acest lot este mai joasă decât la lotul de viței. Prin urmare, se poate considera că **AAT** în eritrocite este condiționată, cel puțin la vaci într-o măsură mai mare, și de alți factori cu proprietăți antioxidante, decât activitatea enzimei **SOD**.

5.2.4. Dinamica produselor de peroxidare a lipidelor (HPL și DAM) în sânge

Referitor la dinamica fracțiilor de **HPL** se poate menționa că atât în plasmă, cât și în eritrocite, valorile individuale variază pe parcursul investigațiilor în limite destul de mari, atât la lotul de vaci (**E₁**), cât și la lotul de viței (**E₂**). Astfel, la lotul de vaci în plasmă fracția timpurie de **HPL** înregistrează variații de la valori minime de 3,48 Un/ml până la valori maxime de 43,3 Un/ml, fracția intermediară – de la 1,12 la 30,0 Un/ml și fracția tardivă de la 1,01 la 66,7 Un/ml, respectiv. La viței variațiile se situează respectiv în limitele 3,23-23,33 Un/ml, 1,49-14,29 Un/ml și 1,27-20,0 Un/ml (tab. 5.2.7.). În eritrocite se constată un tablou asemănător, atât la lotul **E₁** cât și **E₂**, cu decalaj destul de pronunțat dintre valorile individuale minime și cele maxime, observându-se, totodată, valori maxime mai mari la lotul de vaci, de altfel, ca și în plasmă (tab. 5.2.8.).

Tabelul 5.2.7. Conținutul de hidroperoxizi lipidici (HPL) în plasmă (exp. „E”); („xx” – $p > 0,05$)

Indicii	Lotul	Cercetare	Fracția		
			timpurie	intermediară	tardivă
			$M \pm m/(\text{lim})$	$M \pm m/(\text{lim})$	$M \pm m/(\text{lim})$
HPL în plasmă (Un. /ml)	E₁ (vacii)	I	13,57 ± 1,28 (10,12-17,17)	8,2 ± 1,23 (5,66-11,33)	2,64 ± 1,0 (1,01-6,36)
			$P_{I-II} < 0,01$	$P_{II-III} < 0,01$	$P_{I-III} < 0,001$
		II ^(xx)	10,69 ± 5,5 (3,48-43,3)	11,16 ± 3,9 (2,61-30,0)	16,44 ± 10,86 (2,76-66,67)
		III ^(xx)	14,72 ± 3,39 (7,76-28,9)	11,15 ± 6,5 (1,12-29,9)	7,72 ± 4,08 (1,17-17,22)
	E₂ (viței)	I	16,06 ± 1,87 (12-20,42)	6,08 ± 2,62 (1,49-11,64)	3,59 ± 1,79 (1,27-9,0)
			$P_{I-II} < 0,01$	xx	$P_{I-III} < 0,001$
		II ^(xx)	11,1 ± 2,96 (6,44-16,67)	7,16 ± 3,63 (1,52-14,29)	9,9 ± 6,1 (2,45-20,0)
		III ^(xx)	13,01 ± 4,79 (3,23-23,33)	5,01 ± 2,22 (1,59-9,14)	7,57 ± 4,49 (3,21-20,0)

Analizând în continuare conținutul mediu de **HPL**, se constată că dinamica fracțiilor (timpurie, intermediară și tardivă) acestor compuși este identică în eritrocite, dar nu și în plasmă, însă, aceste tendințe sunt comune pentru ambele loturi cercetate (**E₁** și **E₂**).

Astfel, în plasmă, fracția timpurie, la ambele loturi, înregistrează o diminuare la cercetarea a doua, urmată de o creștere până la valori apropiate de cele inițiale, la cercetarea a

treia. Pe când celelalte două fracții, spre deosebire de prima, înregistrează la a doua cercetare o creștere moderată în cazul fracției intermediare și o creștere mai pronunțată în cazul celei tardive, atât la vaci cât și la viței, urmată de diminuarea valorilor la cercetarea a treia. De menționat, că la cercetarea finală, la vaci se constată tendința de menținere a unor valori mai înalte, spre deosebire de raportul inițial când valorile fracției timpurii și tardive erau mai mari la lotul de viței (tab. 5.2.7.).

Tabelul 5.2.8. Conținutul de hidroxiperoxizi lipidici (HPL) în eritrocite (experiența „E”); („xx” – p > 0,05)

Indicii	Lotul	Cercetare	Frația		
			timpurie	intermediară	tardivă
			$M \pm m/(lim)$	$M \pm m/(lim)$	$M \pm m/(lim)$
HPL în eritrocite (mUn. /gHb)	E₁ (vacii)	I	123,15 ± 8,54 (89,4-139,4)	78,9 ± 6,9 (55,4-93,04)	266,1 ± 40,9 (171,6-328,4)
			P _{I-II} < 0,001	P _{II-III} < 0,001	P _{I-III} < 0,01
		II	60,77 ± 10,7 (38,76-99,3)	47,9 ± 16,9 (11,1-102,3)	189,6 ± 41,3 (109,4-342)
			xx	P _{II-III} < 0,01	P _{I-III} < 0,01
		III	110,1 ± 18,9 (65,75-142,8)	74,9 ± 15,87 (35,52-106,8)	249,9 ± 42,2 (163,15-360,5)
			xx	P _{II-III} < 0,001	P _{I-III} < 0,01
	E₂ (viței)	I	93,83 ± 9,66 (78,29-124,9)	55,31 ± 6,98 (43,41-81,68)	190,6 ± 23,87 (150,8-267,2)
			P _{I-II} < 0,01	P _{II-III} < 0,001	P _{I-III} < 0,001
		II	65,10 ± 3,69 (52,1-73,7)	48,5 ± 9,4 (32,53-65,2)	138,6 ± 13,3 (116,1-167,5)
			xx	P _{II-III} < 0,001	P _{I-III} < 0,001
		III	101,7 ± 18,23 (16,42-120,65)	70,31 ± 18,71 (38,11-92,59)	216,6 ± 61,02 (103,78-363,4)
			xx	P _{II-III} < 0,01	xx

În eritrocite, dinamica evolutivă a toate trei fracții de **HPL** se caracterizează, la ambele loturi, prin diminuarea valorilor la cercetarea a doua, față de cea inițială, urmată de creșterea acestora mai mult sau mai puțin importantă. Astfel, la a treia cercetare la lotul de vaci, deși valorile fracțiilor respective cresc comparativ cu cercetarea a doua, rămân la nivel mai scăzut decât valoarea inițială în mediu cu 7,2 %, pe când la viței valorile finale ajung să depășească pe cele inițiale, în mediu cu 16,9 % (tab. 2.2.8.). De aceea, se poate constata, că la lotul de viței conținutul de **HPL** în eritrocite are tendință de sporire, iar la vaci tendință de diminuare comparativ cu nivelul inițial, dar cu menținerea unor valori mai înalte decât la viței la cercetarea finală.

Dinamica **HPL**, care sunt considerați produși intermediari ai peroxidării lipidelor, se caracterizează prin fluctuația valorilor medii obținute la cercetarea a doua și a treia, în raport cu nivelul inițial. Proiecțiile acestor fluctuații sunt similare pentru ambele loturi, dar au direcții opuse în raport cu substratul în care sunt dozați (fig. 5.2.10., fig. 5.2.11.). Astfel, dinamica conținutului de **HPL** în plasmă, vizavi de dinamica din eritrocite se exprimă prin corelație negativă: la lotul de vaci cu $r = -0,8651$, iar la viței cu $r = -0,9308$. Totodată, se constată corelație pozitivă în dinamica **HPL** la vaci, cu cea înregistrată la viței: în plasmă exprimată prin $r = 0,7382$ și în eritrocite prin $r = 0,8315$.

Aceste raporturi corelaționale reflectă natura comună pentru ambele loturi, a factorilor care în perioada investigațiilor au influențat în ansamblu fonul metabolic, inclusiv și procesele de formare a hidroperoxidizilor lipidici, și totodată, pot fi interpretate ca expresie a particularităților metabolismului lipidic și proceselor de peroxidare în substraturile respective.

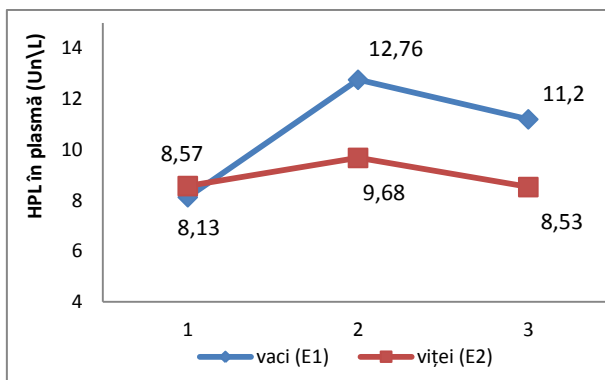


Fig. 5.2.10. Conținutul de HPL în plasmă

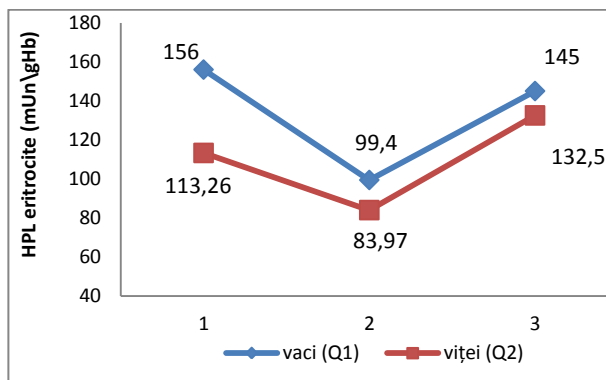


Fig. 5.2.11. Conținutul de HPL în eritrocite

În afară de cele menționate, din rezultatele obținute se profilează și o altă regularitate, și anume, tendința de menținere a unui conținut mai înalt de **HPL** la vaci, comparativ cu lotul de viței, atât în plasmă cât și în eritrocite. Acest fapt se vede din graficele prezentate (fig. 5.2.10., fig. 5.2.11.), dar și după nivelul sumar mediu de **HPL**, care la vaci este mai înalt decât la lotul de viței cu 19,7 % în plasmă, iar în eritrocite – cu 22,4 % (tab. 5.2.10.), ceea ce poate fi interpretat ca particularitate a metabolismului lipidic la animalele adulte și explicată ca rezultat al intensificării proceselor de peroxidare a lipidelor la categoria dată de animale.

Un al doilea parametru, din seria produselor de peroxidare a lipidelor, determinat în plasmă și eritrocite, a fost conținutul de dialdehidă malonică (**DAM**). Ca și în cazul **HPL**, valorile individuale a **DAM** variază în limite destul de mari, situație constatată și de alți cercetători cum ar fi [74, 75, 152]. Astfel, în cercetarea noastră (experiența „E”) variațiile individuale ale conținutului de **DAM** în plasmă se află la vaci în limitele dintre 2,59-8,52 nmol/l la prima cercetare și 7,71-10,97 nmol/l – la cercetarea a treia, iar la viței în limitele 1,43-8,23 nmol/l și

4,05-8,65 nmol/l, respectiv. În eritrocite valorile individuale ale **DAM** variază la lotul de vaci de la 0,42 nmol/gHb până la 1,17 nmol/gHb, iar la viței în limita 0,37 – 1,18 nmol/gHb.

După cum se vede din tab. 5.2.9., la lotul de vaci (**E₁**), comparativ cu lotul de viței (**E₂**), conținutul de **DAM** la prima investigație este mai mare cu 28,8 % în plasmă și cu 40,7 % în eritrocite. În continuare se constată că, conținutul de **DAM** în plasmă, la lotul de vaci crește progresiv - la cercetarea a doua cu 34,5 %, iar la a treia cu 41,2 %, ajungând astfel, la ultima cercetare la o valoare care este de 1,9 ori mai mare decât cea inițială. La viței la investigația a II se constată creșterea substanțială cu 83,3%, urmată de o scădere cu 15,8 % (la ultima cercetare), menținându-se, totodată, la o valoare de 1,54 ori mai mare decât la prima investigație.

Tabelul 5.2.9. Dinamica conținutului de DAM în sânge (experiența „E”); („xx” – p > 0,05)

Indicii	Lotul	Cercetare		
		I	II	III
		M ± m/(lim)	M ± m/(lim)	M ± m/(lim)
DAM în plasmă (nmol/l)	E₁	5,10 ± 1,71 (2,59-8,95)	6,86 ± 1,33 (3,29-9,7)	9,69 ± 0,98 (7,71-10,97)
		xx	xx	p _{E1-E2} < 0,05
	E₂	3,96 ± 1,81 (1,43-8,23)	7,26 ± 1,57 (3,14-9,79)	6,12 ± 1,3 (4,05-8,65)
DAM în eritrocite (nmol/gHb)	E₁	0,76 ± 0,025 (0,70-0,82)	1,02 ± 0,081 (0,72-1,17)	0,69 ± 0,12 (0,42-0,92)
		p _{I-II} < 0,01	p _{II-III} < 0,05	xx
		p _{E1-E2} < 0,05	p _{E1-E2} < 0,001	p _{E1-E2} < 0,05
	E₂	0,54 ± 0,092 (0,386-0,763)	0,47 ± 0,066 (0,367-0,604)	0,99 ± 0,074 (0,821-1,179)
		xx	p _{II-III} < 0,001	p _{I-III} < 0,001

Prin urmare, se poate menționa că pentru ambele loturi este comună tendința de creștere a conținutului de **DAM** în plasmă, vizavi de valorile înregistrate inițial, păstrându-se același raport dintre loturi, care la cercetarea a treia a ajuns la diferența de 58,3 %, ceea ce este cu 29,5 % mai mult decât inițial.

În eritrocite dinamica conținutului de **DAM** are o proiecție fluctuantă, caracterizată la lotul de vaci (**E₁**) prin creștere cu 34,2 % la cercetarea a doua, urmată apoi de o diminuare cu 32,4 %, astfel încât valoarea finală să fie cu 9,3 % mai mică decât cea inițială. La lotul de viței (**E₂**) se constată diminuarea cu 13 % la cercetarea a doua, urmată de o creștere pronunțată de 2,1 ori, astfel încât valoarea finală ajunge să fie de 1,8 ori mai mare decât valoarea inițială. Totodată, la lotul de viței (**E₂**) conținutul de **DAM** în eritrocite înregistrând creșteri importante la

investigația a treia, a ajuns să fie cu 43,5 % mai mare decât valoarea înregistrată la lotul de vaci (**E₁**), față de care inițial a fost mai mic.

Din cele descrise mai sus reiese, că la lotul de viței se profilează o sporire evidențiată a conținutului de **DAM** în ambele substraturi, pe când la vaci tendința respectivă este evidentă doar în plasmă. Aceasta ar însemna, că fonul metabolic care influențiază acumularea produsului dat în organism (**DAM**), este diferit, atât în funcție de substratul biologic testat (plasmă sau eritrocite), cât și de starea fiziologică a animalelor (vârsta).

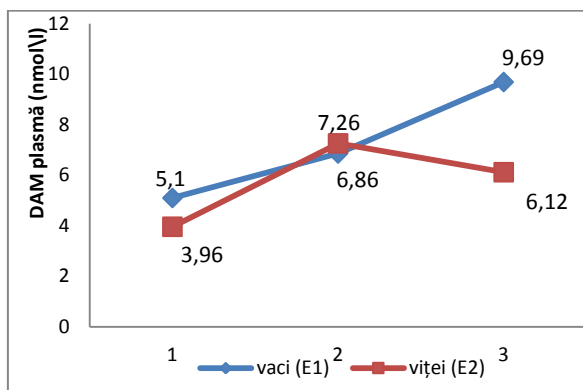


Fig. 5.2.12. Dinamica DAM în plasmă

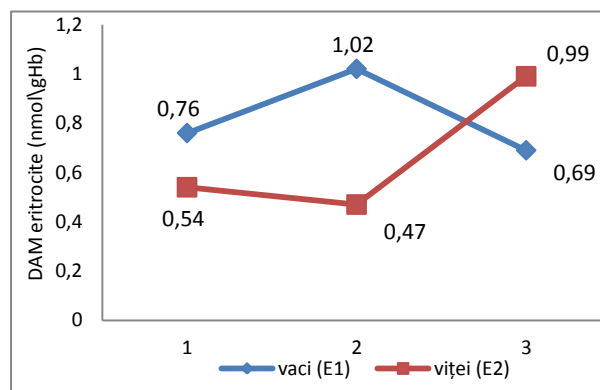


Fig. 5.2.13. Dinamica DAM în eritrocite

Referitor la cel de al doilea parametru din seria produselor de peroxidare a lipidelor - **DAM**, care este considerat ca produs final, se caracterizează prin fluctuația valorilor medii obținute la cercetarea a doua și a treia, în raport cu nivelul inițial, dar spre deosebire de **HPL**, în dinamica acestuia nu se semnalează tendințe similare nici în raport cu substratul în care s-a determinat și nici în funcție de categoria de vârstă (fig. 5.2.12., fig. 5.2.13.). De aceea, în cazul **DAM**, raporturile corelaționale se exprimă prin coeficienți cu o semnificație statistică mai mică decât la **HPL**. Astfel, corelația conținutului de **DAM** în plasmă, vizavi de dinamica din eritrocite se exprimă la lotul de vaci prin $r = -0,3301$ și cu $r = 0,0522$ la viței, iar conținutul de **DAM** la vaci, vizavi de dinamica înregistrată la viței, în plasmă se exprimă prin $r = 0,5366$ și în eritrocite prin $r = -0,7516$.

La ambele loturi se profilează și o corelație dintre conținutul de **HPL** și **DAM** care este mai semnificativă în eritrocite, estimându-se la vaci prin $r = -0,9257$ și la viței prin $r = 0,8686$, iar în plasmă prin $r = 0,5446$ și $r = 0,7446$, respectiv.

Ținând cont, de aceste și alte raporturi menționate anterior, se poate spune că eritrocitele în comparație cu plasmă, pot fi considerate ca un substrat mai sensibil și mai reprezentativ în studierea statusului oxidativ la bovine, ceea ce este confirmat și de alți cercetători, precum [60, 61].

De menționat că și nivelul sumar mediu de **DAM**, ca și cel de **HPL** se menține la lotul de vaci mai înalt, decât la viței cu 29,4 % în plasmă și cu 28,5 % în eritrocite (tab. 4.4.10.), fapt ce poate fi explicat prin fenomenul cunoscut deja, - că odată cu maturizarea și înaintarea în vârstă, în organism are loc sporirea formării radicalilor liberi și acumularea treptată a produselor de peroxidare [9].

Din cele expuse, referitor la dinamica produselor de peroxidare, care sunt considerate ca markeri oxidativi, și anume, creșterea nivelului de **HPL** și **DAM**, la vaci mai evidentă în plasmă, iar la viței a **HPL** în eritrocite și a **DAM** în ambele substraturi, reese, că în perioada monitorizării, animalele au fost expuse acțiunii unui factor de stres fiziologic (răcirea timpului), care s-a soldat cu intensificarea formării **SRO** și, respectiv, a produselor de peroxidare a lipidelor.

Deoarece, investigațiile s-au efectuat în perioadă când s-au instaurat temperaturi negative ale aerului, acveastă circumstanță nu poate fi neglijată, fiind cunoscut faptul, că la acțiunea frigului în organism are loc intensificarea reacțiilor de generare a **SRO** [176, 159]. Prin urmare, dinamica indicilor **SAO** înregistrată la vaci și viței în perioada monitorizării (cercetarea **E**) trebuie să fie analizată, atât din aspectul particularităților fiziologice de vârstă, cât și prin prismă mecanismelor de adaptare a animalelor la vremea rece de iarnă, care este un factor major de suprasolicitare.

Ținând cont de influența acestui factor, a fost de așteptat ca dinamica statusului antioxidant în perioada evaluării, la ambele loturi să fie în concordanță cu intensificarea metabolică, în ansamblu, - ca reacție de adaptare. Supoziția dată s-a confirmat, cel puțin parțial, prin dinamica activității **SOD** în eritrocite și a activității antioxidante (**AAT**) în plasmă și eritrocite la loturile **E₁** și **E₂**, iar la lotul de vaci și a conținutului de **DAM** în plasmă, care se caracterizează prin creșterea graduală a valorilor acestora, exprimând astfel adaptarea animalelor în perioada monitorizării, de 30 zile, la stresul fiziologic condiționat de răcirea sezonieră a vremii (tab. 5.2.3., 5.2.5. și 5.2.9. sau fig. 5.2.2., 5.2.7., 5.2.12. și 5.2.14.).

Transpusă în valori relative, dinamica acestor parametri reflectă ascensiunea mult mai pronunțată, comparativ cu nivelul inițial, a activității **SOD** în eritrocite la ambele loturi și a conținutului de **DAM** în plasmă la vaci, spre deosebire de **AAT**, care a avut o proiecție puțin mai aplanată în ambele substraturi (fig. 5.2.14. și 5.2.15.). Creșterea accentuată a activității **SOD** în eritrocite și sporirea conținutului de **DAM** în plasmă, reflectă intensificarea reacțiilor de formare a radicalului superoxid anion (**O₂⁻**) și a proceselor de peroxidare, respectiv, iar creșterea valorilor **AAT**, este expresia mecanismelor complexe adaptive la intensificarea reacțiilor oxidativ-radicalice în condiții fiziologice. Reeșind din cele expuse, - activitatea **SOD** în eritrocite s-a

dovedit a fi unul din cei mai sensibili indicii la escaladarea fenomenelor de formare a SRO și, totodată, specific pentru ambele categorii de animale. Faptul că eritrocitele reprezintă un model mai sensibil în aprecierea statusului antioxidant este confirmat și de alți autori [60].

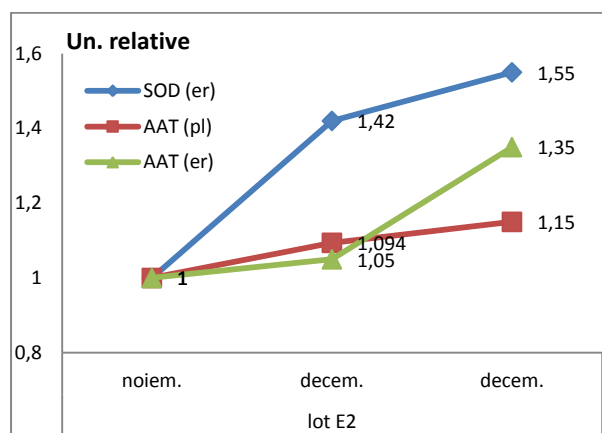
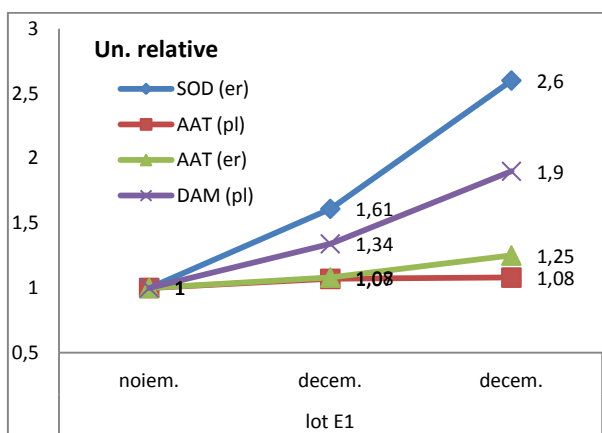


Fig. 5.2.14. Valorile relative ale SOD, AAT și DAM la vaci

Fig. 5.2.15. Valorile relative ale SOD și AAT la viței

În a doua categorie de grupaj pot fi discutați alți cinci indici: **SOD** și **HPL** în plasmă, și **GSH** în eritrocite la ambele loturi, **AOT** în plasmă și **DAM** în eritrocite numai la vaci, dar și **DAM** în eritrocite la viței, în dinamica cărora se profilează alt aspect al reacționării organismului la factorul meteorologic de suprasolicitare. Dinamica acestora se exprimă prin creșterea valorilor la cercetarea a doua urmată apoi de o coborâre și poate fi interpretată ca rezultat al mecanismelor de adaptare de scurtă durată, fiind similară cu oscilațiile temperaturii aerului care au atins nivelul minimal la investigația a doua, după care a urmat o ușoară creștere (tab. 5.2.3., 5.2.4. și 5.2.5. sau fig. 5.2.1., 5.2.6., 5.2.9., 5.2.10., 5.2.12 și 5.2.13.). Transpusă în valori relative, comparativ cu nivelul inițial, dinamica acestor parametri reflectă ascensiunea mult mai pronunțată, la vaci a conținutului de **HPL** în plasmă și de **DAM** în eritrocite, iar la viței a conținutului de **GSH** în eritrocite și de **DAM** plasmă, fapt ce poate fi înscris pe seama particularităților de vârstă ale subiecților și/sau biologice ale substratului (fig. 5.2.16. și 5.2.17.).

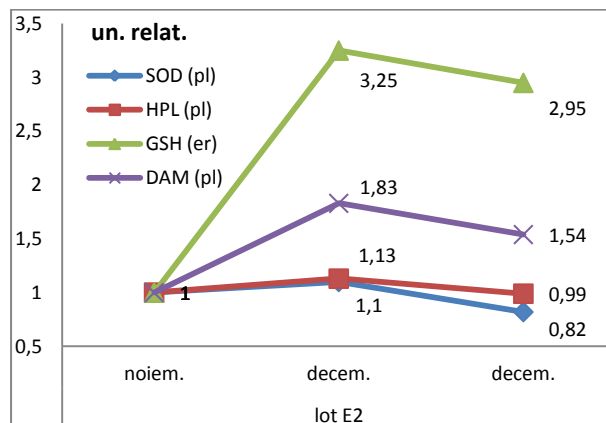
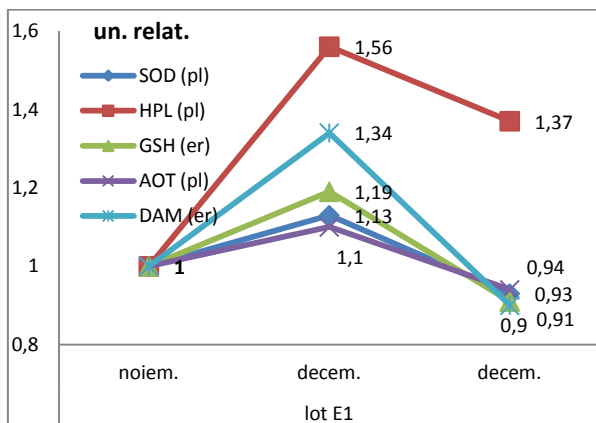


Fig. 5.2.16. Valorile relative ale indicilor SAO la vaci

Fig. 5.2.17. Valorile relative ale indicilor SAO la viței

Referitor la ceilalți markeri: **GR** (plasmă și eritrocite) și **HPL** în eritrocite la ambele loturi, **CAT** și **DAM** în eritrocite la viței (fig. 5.2.3., 5.2.4., 5.2.5., 5.2.11. și 5.2.13.), dinamica lor se caracterizează prin diminuarea valorilor la cercetarea a doua, urmată de o sporire față de nivelul secund, iar dinamica **CAT** în eritrocite la vaci și **AOT** la viței (fig. 5.2.3. și 5.2.9.) se exprimă prin scăderea graduală, față de nivelul inițial, fenomene care pot fi atribuite pe seama particularităților biologice ale substratului (plasmă și eritrocite) sau caracteristicilor individuale ale subiecților.

La faptul că variațiile individuale ale markerilor pro- sau antioxidanți pot fi foarte pronunțate, se referă [74, 75], care menționează, în particular, că valorile **DAM** la vaci în lactație sunt influențate nu numai de starea fiziologică, dar și de alți factori, necunoscuți, care urmează să fie studiați. [152] consemnează la vaci variații inter-individuale destul de mari, atât după conținutul de **DAM**, cât și în activitatea enzimelor **SOD**, **CAT** și **GSH-Px**. Alții, constată că dinamica activității enzimelor antioxidante catalaza și glutatión peroxidaza la vaci în lactație este una neunivocă, exprimându-se prin tendințe opuse la diferite loturi de animale [14].

Date referitoare la modificările markerilor anti- și pro-oxidanți provocate de expunerea la frig aduse de unii autori sunt destul de contradictorii. În particular, se vorbește despre faptul că acțiunea brutală a frigului poate provoca diminuarea conținutului de **GSH** ca rezultat al consumului acestuia în lupta cu radicalii [57], iar sub influența temperaturilor mai moderate se constată creșterea activității enzimelor antioxidante [159].

În cazul rezultatelor obținute de noi (cercetarea **E**), creșterea conținutului de **GSH** la ambele loturi, comparativ cu nivelul inițial, se poate interpreta ca unul din mecanismele de adaptare la acțiunea stresului oxidativ moderat provocat de răcirea treptată a vremii. Menținerea la viței a unui nivel mediu sumar mai înalt de **GSH** și al activității **SOD** în eritrocite cu 30,3 % și 36,8 %, respectiv, pot fi privite ca particularități ale mecanismelor fiziologice antioxidante, pe fundalul intensității sporite a proceselor oxidativ-metabolice la tineret, comparativ cu vacile în prima lactație (tab. 5.2.10.).

La lotul de vaci, în contextul particularităților de vârstă, se profilează conținut mediu sumar mai mare de hidroperoxizi lipidici (**HPL**) în plasmă și în eritrocite, cu 19,7 % și 22,4 % și de dialdehidă malonică (**DAM**) cu 29,4 % și 28,5 %, respectiv, fapt ce exprimă formarea și acumularea sporită a produselor de peroxidare la animale mature, comparativ cu lotul de viței. Totodată, la vaci se constată și un nivel mai înalt al activității antioxidante totale (**AAT**) cu 6,9 % și 8,3 %, respectiv, și al activității **SOD** în plasmă cu 12,6 %, ca mecanisme de menținere a statusului antioxidant în limitele echilibrului (5.2.10.).

Tabelul 5.2.10. Nivelul sumar mediu al valorilor indicilor SAO și produselor de peroxidare la vaci și viței (exp. „E”) („xx” – $p > 0,05$)

Indicii	Substratul	Lotul E ₁		Lotul E ₂		E ₁ > E ₂	E ₁ < E ₂
		n	M ± m/lim	n	M ± m/lim	(%)	(%)
SOD^(xx)	plasmă (Un/ml)	58	99,9 ± 12,36 (74,4-119,04)	40	88,7 ± 15,6 (43,8-126,6)	12,6 >	
	eritrocite (Un/mgHb)	60	3,34 ± 1,63 (0,66-8,16)	40	4,57 ± 1,20 (2,42-7,11)		< 36,8
CAT^(xx)	eritrocite (mcmol/s.gHb)	60	5,25 ± 1,40 (2,60-8,50)	40	5,32 ± 1,16 (2,70-8,39)		< 1,3
GSH^(xx)	eritrocite (mcmol/l)	60	92,3 ± 17,9 (63-126)	38	120,3 ± 57,6 (50,4-195,3)		< 30,3
GR^(xx)	plasmă (nmol/s/l)	58	1983 ± 765,3 (1100-4829)	40	1572 ± 644,6 (673,5-4115)	26,1 >	
	eritrocite (nmol/s.gHb)	59	0,685 ± 0,33 (0,14-1,63)	38	0,615 ± 0,33 (0,183-1,634)	11,4 >	
AAT^(xx)	plasmă (%)	60	71,15 ± 3,76 (59,84-76,4)	40	66,50 ± 6,85 (49,22-75,66)	6,9 >	
	eritrocite (%)	60	127,5 ± 14,3 (103,9-158,4)	40	117,8 ± 19,5 (85,05-154,89)	8,3 >	
AOT^(xx)	plasmă (%)	60	37,33 ± 8,02 (17,5-51,47)	40	41,17 ± 8,71 (20,0-51,51)		< 10,3
HPL^(xx)	plasmă (Un./l)	60	10,7 ± 8,08 (1,01-66,67)	40	8,94 ± 5,68 (1,27-23,33)	19,7 >	
	eritrocite (mUn./gHb)	60	133,5 ± 84,84 (11,1-360,5)	40	109,05 ± 63,15 (16,42-150,8)	22,4 >	
DAM^(xx)	plasmă (Un./l)	60	7,22 ± 2,52 (2,59-10,97)	40	5,58 ± 2,39 (1,43-9,79)	29,4 >	
	eritrocite (mUn./gHb)	60	0,826 ± 0,17 (0,42-1,17)	40	0,643 ± 0,23 (0,36-1,17)	28,5 >	

Prin urmare, rezultatele obținute confirmă datele existente referitor la faptul că odată cu înaintarea vârstei în organism crește, nivelul de acumulare a produselor de peroxidare, în cazul de față **HPL** și **DAM** [9], dar simultan s-a constatat și creșterea activității antioxidante totale (**AAT**) - de protecție contra SRO, fapt care consemnează menținerea echilibrului dintre procesele pro- și antioxidative, precum și adaptarea la condițiile de suprasolicitare oxidativ-radicalică.

Referitor la importanța determinării unor indici integrali ai capacității pro- și antioxidante, cum este **AAT** și **AOT** în plasmă, s-au expus [41], care afirmă că acești parametri pot fi folosiți pentru depistarea oportună a abaterilor în funcționarea acestor sisteme, deși o sincronizare deplină în dinamica lor nu s-a constatat. Unii autori propun [37], ca pentru aprecierea interacțiunilor dintre sistemul pro- și antioxidant să se ia în calcul coeficientul raportului dintre parametrii capacității pro- și antioxidante sumare.

Recurgând la calcularea unui raport similar celui menționat, **AAT/AOT** în plasmă la loturile **E₁** și **E₂**, s-a constatat că dinamica acestui coeficient reflectă în bună măsură răspunsul de adaptare a animalelor la condițiile de intensificare a reacțiilor oxidativ-radicalice. La lotul de viței coeficientul **AAT/AOT** în plasmă, a avut o dinamica pozitivă mult mai evidentă, fapt care vorbește despre particularitățile capacității de adaptare, dar și variație mai mare dintre valoarea minimală și cea maximală, față de lotul de vaci, fapt care reflectă procesul de stabilizare a statusului antioxidant la tineret în perioada respectivă (tab. 5.2.6.).

Referitor la interacțiunile dintre indicii statusului oxidant și antioxidant în același substrat (plasmă sau eritrocite), sau corelațiile dintre valorile acelorași parametri în cele două substraturi, se poate menționa că acestea nu sunt unidireționale, ci poartă un caracter multidimensional. Complexitatea acestora pune în dificultate modul de interpretare, cât și semnificația rezultatelor, situație care impune căutarea răspunsurilor și direcționarea cercetărilor.

Considerăm că caracteristicile invocate, poartă amprenta intensității metabolice specifice categoriilor de vârstă ale subiecților (vacii și vițeii), a particularităților biologice ale substratului (plasmă sau eritrocite) în care au fost dozați indicii respectivi, dar și a modificărilor survenite sub influența factorului care a determinat suprasolicitarea. În ansamblu, dinamica markerilor pro- și antioxidativi dozați în plasmă și eritrocite, reflectă capacitatea funcțională adecvată a SAO la vaci și la vițeii care, deși prin mecanisme puțin diferite, particulare pentru fiecare lot în parte, a asigurat menținerea echilibrului redox și adaptarea la condițiile de intensificare a reacțiilor fiziologice oxidativ-radicalice survenite în perioada de monitorizare.

Astfel, dinamica evoluțională a parametrilor testați, privită ca mecanism adaptiv al statusului antioxidant în perioada de monitorizare și rapoartele corelative ale acestora, aparent controversate, exprimă complexitatea interdependenței funcționale ale componentelor sistemului antioxidant, fiind rezultatul sinergismului și/sau însumării acțiunii lor combinate [9], în vederea asigurării eficiente a protecției antiradical-peroxidice în plasmă și eritrocite.

5.3. Concluzii la capitolul 5

1. Prin includerea produsului “Bioplex” în rația vițelilor din lotul experimental (**G₂**), de la aceste animale s-a obținut un spor mediu de greutate corporală egal cu **799 g** în zi, care s-a dovedit a fi cu 4,2 % mai mare decât la lotul martor care a beneficiat de oligoelemente anorganice.

2. Utilizarea produsului “Bioplex” la lotul **G₂**, a contribuit la menținerea unor valori mai înalte ale indicilor eritronului, precum este hematocritul și numărul de eritrocite, care la ultima cercetare s-au dovedit a fi cu 14,2 % și 1,9 %, respectiv, mai mari decât la lotul martor (**G₁**);

3. Utilizarea produsului “Bioplex” a influențat pozitiv dinamica parametrilor statusului antioxidant la lotul **G₂**, care către sfârșitul experienței s-a exprimat:

- prin valori mai înalte ale activității enzimelor în eritrocite: **GSH-Px** de 4,6 ori ($p_{1/2} < 0,01$), **SOD** cu 12,5 % și **CAT** cu 19,4 %, față de lotul martor;
- prin creșterea mai accentuată, față de nivelul inițial, a activității antioxidante totale (**AAT**) în plasmă și în eritrocite cu 21,0 % și 33,7 %, care la lotul martor a constituit 11,4 % și 25,8 %, respectiv;
- prin diminuarea mai pronunțată, față de nivelul inițial, a conținutului de produse de peroxidare a lipidelor **HPL** și **DAM**, în plasmă cu 76,5 % și 60 %, iar în eritrocite cu 40,1 % și 50,6 %, respectiv, valori care la lotul martor au constituit: 67 % și 35,4 %, și 27,7 % și 41,3 %, respectiv.

4. Prin dozarea markerilor anti- și prooxidativi la vaci și viței sănătoși (**E₁** și **E₂**), efectuată în aceeași perioadă de timp, s-au constatat următoarele particularități ale statusului antioxidant, în raport cu **criteriul de vârstă al subiecților** cercetați:

a) menținerea unor valori mai sporite, pe întreaga perioadă investigatională, la **lotul de vaci** a activității **SOD** în plasmă, a indicelui **AAT** și conținutului de **HPL** în plasmă și eritrocite, iar la **lotul de viței** a activității **SOD** în eritrocite;

b) menținerea unui nivel sumar mediu mai înalt:

- al activității **SOD** în plasmă cu 12,6 %, al **GR** în plasmă cu 23,4 % și în eritrocite – cu 12,9 % la **lotul de vaci**, față de viței;
- al activității **SOD** - cu 36,8 %, a **CAT** cu 1,3 % și conținutului de glutatión redus (**GSH**) cu 30,8 %, în eritrocite, la **lotul de viței**, față de vaci.
- al capacității antioxidative totale (**AAT**) în plasmă cu 6,9 % și în eritrocite cu 8,2 % la lotul de vaci decât la viței;

- al conținutului de hidroxiperoxizi lipidici (**HPL**) în plasmă cu 19,7 % și în eritrocite cu 21,9 %, și de dialdehid malonic (**DAM**) – cu 29,4 % și 28,5 %, respectiv, la lotul de vaci decât la viței.

5. Dinamica markerilor anti- și prooxidativi, *în raport cu variațiile termice sezoniere*, care pot fi considerate ca factor de stres fiziologic, s-a dovedit a fi similară la ambele loturi (**E₁** și **E₂**) și poate fi interpretată ca reflecție a fenomenului de modulare a statusului antioxidant, de rând cu cea a fonului metabolic, pentru adaptarea organismului la noile condiții de mediu, caracterizându-se:

a) prin creșterea către cercetarea finală, a activității **SOD** în eritrocite la vaci cu 60,4 % ($p < 0,05$) și la viței cu 64,8 % ($p < 0,01$), a conținutului de **GSH** la vaci cu cca 5,3 % ($p > 0,05$), iar la viței de cca 3,0 ori ($p < 0,001$), a indicelui **AAT** în eritrocite la vaci cu 25 % ($p < 0,01$) și la viței cu 35,6 % ($p < 0,01$), iar a indicelui **AAT** în plasmă cu 7,9 % și 15,2 % (unde, $p > 0,05$ la ambele loturi), respectiv, față de nivelul inițial;

b) prin raporturi corelaționale pozitive, dintre lotul de vaci și lotul de viței (**E₁** - **E₂**), a câtorva indici: a activității **SOD** în eritrocite cu $r_{E1-2} = 0,9025$, iar în plasmă cu $r_{E1-2} = 0,9901$; a capacității **AAT** cu $r_{E1-2} = 0,9790$ și cu $r_{E1-2} = 0,9605$, respectiv; a conținutului de **HPL** cu $r_{E1-2} = 0,8315$ și cu $r_{E1-2} = 0,7382$, respectiv.

6. Dinamica corelațională a markerilor anti- și prooxidativi, *în funcție de proprietățile biologice* ale eritrocitelor și plasmei, s-a dovedit a fi destul de variabilă și reflectă individualitatea reacțiilor acestora la fluctuațiile fonului metabolic specific substratului, și se exprimă prin următoarele co-raporturi semnificative:

a) în eritrocite:

- corelație pozitivă la lotul de vaci a activității **SOD** cu indicele **AAT** ($r_{SOD-AAT} = 0,9989$), a **CAT** cu **GR** ($r_{CAT-GR} = 0,9037$), a **GSH** cu **DAM** ($r_{GSH-DAM} = 0,9949$);
- corelație pozitivă la lotul de viței a activității **SOD** cu conținutul de **GSH** ($r_{SOD-GSH} = 0,9460$), a **CAT** cu **GR** ($r_{CAT-GR} = 0,9995$), a **CAT** cu **HPL** ($r_{CAT-HPL} = 0,9812$), a **GR** cu **HPL** ($r_{GR-HPL} = 0,9749$), a **AAT** cu **DAM** ($r_{AAT-DAM} = 0,09657$), a **DAM** cu **HPL** ($r_{DAM-HPL} = 0,8686$);
- corelație negativă a activității **SOD** cu **CAT** ($r_{SOD-CAT} = - 0,9400$), a **CAT** cu **AAT** ($r_{CAT-AAT} = - 0,9231$), a **DAM** cu **HPL** ($r_{DAM-HPL} = - 0,9257$) și **GSH** cu **HPL** ($r_{GSH-HPL} = - 0,8833$), la lotul de vaci;

b) în plasmă:

- corelație **pozitivă** a activității **SOD** cu indicele **AOT** ($r_{\text{SOD-AOT}} = 0,9998$), a **AAT** cu **HPL** ($r_{\text{AAT-HPL}} = 0,9048$) și a **AAT** cu **DAM** ($r_{\text{AAT-DAM}} = 0,8498$), la lotul de vaci;
- corelație **pozitivă** a **SOD** cu **HPL** ($r_{\text{SOD-HPL}} = 0,8980$), la lotul de viței;
- corelație **negativă** a **SOD** cu **GR** ($r_{\text{SOD-GR}} = -0,9987$) și a **AAT** cu **AOT** ($r_{\text{AAT-AOT}} = -0,9799$), la lotul de viței.

7. Rezultatele monitorizării statusului antioxidant, obținute în investigațiile efectuate pe vaci în prima lactație și viței de 1,5-2,0 luni, demonstrează că valorile parametrilor acestuia variază în limite considerabile, fapt ce sugerează individualitatea și diversitatea fonului metabolic, condiționate de particularitățile fiziologice de vârstă ale animalelor, de factorii de mediu care inevitabil influențează homeostazia, în ansamblu, și de particularitățile biologice ale substratului (plasmă sau eritrocite) în care au fost dozați.

CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI

1. La bovine, pentru menținerea stării de sănătate, sau a homeostaziei în ansamblu, de rând cu alte procese vitale din organism, o deosebită importanță o deține echilibrul dintre formarea speciilor reactive de oxigen și neutralizarea acestora la nivel umoral și celular, asigurat de sistemul protector antioxidant.

2. Rezultatele, privind aprecierea indicilor sistemului antioxidant la bovine, atestă că valorile acestora (în plasmă și eritrocite) oscilează: în funcție de vârstă (tineret sau mature), de starea fiziologică (gestație, parturiție, lactație) sau de starea clinică a animalelor (sănătoase sau cu cetoză), fapt ce exprimă interdependența dintre fenomenele de formare a radicalilor liberi și intensitatea proceselor metabolice specifice circumstanțelor, dar și complexitatea funcțională a statusului antioxidant în asigurarea homeostaziei redox din organism.

3. *La vacile sănătoase în perioada de tranziție*, gestație-lactație (lotul **A**), statusul antioxidant, se caracterizează prin tendința:

a) **de activizare** a proceselor de formare a speciilor reactive de oxigen și de peroxidare a lipidelor la momentul parturiției, exprimată prin:

- diminuarea rezistenței peroxidice a eritrocitelor (**RPE**, $p > 0,05$) de 4,3 ori,
- creșterea în ser a activității catalazei (**CAT**, $p > 0,05$) de 3,1 ori și a conținutului de dialdehidă malonică (**DAM**, $p > 0,05$) de 1,25 ori, față de nivelul din repausul mamar;

b) apoi, **de diminua**re treptată a intensității acestor reacții, în următoarele două-trei săptămâni, față de valorile înregistrate după parturiție, exprimată prin:

- sporirea rezistenței peroxidice a eritrocitelor (**RPE**, $p > 0,05$) de 3,0 ori,
- diminuarea în ser a activității **CAT** ($p > 0,05$) cu 48,1 % și
- diminuarea conținutului de **DAM** ($p > 0,05$) cu 14,2 %.

4. *La vacile cu cetoză clinică* (lotul **B₂**), statusul antioxidant în perioada de tranziție se caracterizează prin tendința de:

- scădere a rezistenței peroxidice a eritrocitelor (**RPE**, $p > 0,05$) cu cca 27,5 %,
- creșterea conținutului de dialdehidă malonică (**DAM**, $p > 0,05$) în ser cu 26,7 %,
- creșterea activității catalazei (**CAT**, $p < 0,05$) în ser de 2,5 ori, comparativ cu lotul **B₁**, fapt ce denotă că pe fonul hipercetonemiei s-a produs ascensiunea proceselor de peroxidare a lipidelor și instalarea **stării de stres oxidativ**, exprimată clinic prin simptome specifice pentru „**sindromul de peroxidare**”.

5. Diludina – antioxidant sintetic, inclus în rația vacilor din experiențele „**C**” și „**D**”, a câte 2,5 g/animal (120 zile), a avut efect benefic exprimat prin tendința de:

- sporire a producției de lapte la loturile **C₂** și **D₂**, respectiv, cu 17,5 % și 5,2 % ($p>0,05$), față de nivelul inițial;
- diminuare a nivelului de dialdehidă malonică ($p>0,05$) în ser sanguin la lotul **D₂** cu 3,0 %,
- scădere a activității catalazei (**CAT**) în ser cu 24,7 % (lotul **C₂**, $p>0,05$),
- sporire a rezistenței peroxidice a lipidelor eritrocitare (**RPLE**) cu 4,5 % (lotul **D₂**, $p>0,05$), comparativ cu loturile de referință, la cercetările finale.

6. Premixul mineralo-vitaminic, inclus în rația vacilor în prima perioadă a lactației (lotul **F₂**), a avut efect pozitiv asupra statusului antioxidant al acestora, exprimat prin tendința de:

- menținere a nivelului mai scăzut de dialdehidă malonică (**DAM**, $p>0,05$) în plasmă și eritrocite cu 14,3 % și 4,2 %, respectiv,
- sporire a producției de lapte cu 13,7 % ($p>0,05$), comparativ cu lotul de referință (**F₁**).

7. Produsul „Bioplex” cu oligominerale proteinate (Zn, Mn, Cu, Co și Se), inclus în rația vițelilor cu vârsta de 2-6 luni (lotul **G₂**), a avut efect pozitiv asupra sistemului antioxidant (**SAO**) exprimat prin tendință:

- de creștere a activității glutatión peroxidazei (**GSH-Px**) în eritrocite de 3,2 ori ($p<0,01$), comparativ cu valoarea inițială,
- de menținere a nivelului mai scăzut de **HPL** ($p>0,05$) cu 12,4 % și de **DAM** ($p>0,05$) cu 23,2 % în plasmă, comparativ cu lotul de referință (**G₁**);
- de menținere a nivelului mai înalt al sporului zilnic în greutate cu 4,2 % ($p>0,05$), comparativ cu lotul de referință (**G₁**).

8. Utilizarea, în calitate de suplimente furajere, **la vaci** a antioxidantului sintetic Diludină (loturile **C₂** și **D₂**), și a premixului cu metionină, vitaminele E și A, și oligomineralele Zn, Mn, Cu și Se (lotul **F₂**), și **la viței**, a premixului cu oligoelementele proteinate Zn, Mn, Cu, Co și Se (lotul **G₂**) s-a exprimat prin tendințe stabile, sau prin schimbări statistice semnificative, de diminuare a proceselor de peroxidare și optimizare a parametrilor statusului antioxidant, - fenomene care au contribuit la fortificarea stării de sănătate a animalelor și stimularea potențialului productiv.

9. **La bovine, în funcție de vârstă** (vacii în prima lactație și viței de 1,5-2 luni, cercetarea “E”), prin dozarea markerilor pro- și antioxidativi în plasmă și eritrocite, s-au stabilit următoarele particularități ale statusului antioxidant:

a) **la vaci** (lotul **E₁**), - tendință de menținere în plasmă și în eritrocite a unui nivel mediu mai ridicat:

- al activității antioxidante totale (**AAT**, $p>0,05$) cu 6,9 % și respectiv 8,3 %, - ca expresie a mecanismului de menținere al echilibrului “redox”, pe de o parte;

- al conținutului de hidroxiperoxizi lipidici (**HPL**, $p>0,05$) cu 19,7 % și 22,4 % și de dialdehidă malonică (**DAM**, $p>0,05$) cu 29,4 % și respectiv 28,5 %, - fapt ce exprimă intensitatea sporită de formare și acumulare a produselor de peroxidare la animale mature, comparativ cu lotul de tineret, pe de altă parte;

b) la viței (lotul **E₂**), - tendință de menținere în eritrocite, a unui nivel mediu mai ridicat, al activității superoxid dismutazei (**SOD**, $p>0,05$) cu 36,8 % și al conținutului de glutatión redus (**GSH**, $p>0,05$) cu 30,3 %, comparativ cu lotul de vaci, - fapt ce exprimă specificul protecției antiradical-peroxidice la tineret.

10. Drept situații de risc în declanșarea stării de stres oxidativ la bovine pot fi considerate:

- a) sub aspect patologic, - **nutriția dezechilibrată** (deficit de glucide) a vacilor înalt-productive în faza de debut a lactației, - soldată cu instaurarea hipercetonemiei și a “sindromului de peroxidare”;
- b) sub aspect fiziologic, - **perioada de tranziție**, parturiție-lactație (la vaci), sau condițiile de **adaptare la răcirea sezonieră a vremii** (vacii și viței), însoțite de ascensiunea proceselor oxidativ-radicalice, - cu caracter tranzitoriu și remedial.

RECOMANDĂRI

1. La vacile aflate în perioada de tranziție și de debut a lactației recomandăm: în vederea monitorizării stresului oxidativ și a îmbolnăvirii de cetoză, să se recurgă la dozarea conținutului de **DAM** și **RPE** în sânge și a nivelului de corpi cetonici în urină, cu repetare la fiecare 7-10 zile, pe parcursul a primelor 4-8 săptămâni după parturiție.

2. Pentru optimizarea parametrilor statusului antioxidant și fortificarea stării de sănătate a vacilor în faza de tranziție și de debut a lactației, recomandăm includerea în rația acestora a bioelementelor: Se, Cu, Zn, Mn, Co, metioninei, vitaminelor E și A, în cantități adecvate specificului perioadei, și a antioxidantului sintetic diludină, câte 2,5 g/zi, per animal.

3. Cu scopul optimizării statusului antioxidant și stimulării sporului în creștere la tineretul taurin recomandăm includerea în rație a oligoelementelor: Se, Cu, Zn, Mn și Co, în formă proteinată, în conformitate cu normativele în vigoare.

4. Pentru monitorizarea complexă a statusului dintre pro- și antioxidanți la bovine (viței, vaci) recomandăm aprecierea în plasmă și în eritrocite a valorilor parametrilor: AAT, AOT, GSH, HPL și DAM, care în bună măsură reflectă variațiile de vârstă ale homeostaziei „redox”.

BIBLIOGRAFIE

1. Cociu V. Cercetări privind statusul oxidativ și indicii eritronului la vaci în postparturiție. În: *Lucrări științifice UASM*. 2008, Vol. 19, (Medicină veterinară), p. 164-167.
2. Coșman S., Bahcivanji M., Coșman V., Cociu V. Use of a premix for dairy cows during the first period of lactation. În: *Lucrări științifice USAMVBT*. Timișoara, 2008, Vol. 41(1), (Zootehnie și Biotehnologii), p. 498 - 505.
3. Curcă D. Profilaxia stresului oxidativ cu alimente funcționale. În: *Rev. Rom. Med. Vet.*, 2004, nr. 3, p. 9-32.
4. Ghergariu S., Baba A. I. Patologia nutrițională și metabolică a animalelor. București: Ed. Academiei Române, 1990. 200 p.
5. Holban D., Lutan V., Cociu V., Аль-Кудух-Кхалед. Sindromul de hiperperoxidare la bovine. În: *Lucrări științifice UASM*, 1998, Vol. 6, (Medicină veterinară), p. 23-28.
6. Falcă C., Ciorba Gh. Tehnici de examinare clinică și paraclinică la animale. Timișoara: Ed. Mitron, 2005, 515 p.
7. Lîsîi L. Biochimie medicală. Chișinău, 2007, 619 p.
8. Lutan Vasile și alții. Fiziopatologie medicală. Chișinău, 2002, V. 1, 507 p.
9. Olinescu R. Radicalii liberi în fiziologia umană. București, Editura Tehnică, 1994, 215 p.
10. Solcan Gh., Boghian V., Frederic Rollin. Patologie și clinică medicală veterinară. Iași: Ed. Ion Ionescu de la Brad. 2005. p.34.
11. Surai P. F. Noi valențe ale suplimentării cu seleniu. În: Al 18-lea turneu de conferințe Alltech pentru Europa, Orientul Mijlociu și Africa. 2004, p. 43-72.
12. Surai P. Utilizarea produsului Sel-Plex pentru îmbunătățirea sănătății umane și animale. În: Turneul de conferințe pentru Europa, Orientul Mijlociu și Africa de Nord. 2007, p. 65-80.
13. Абрамова Ж. И., Оксенгендлер Г. И. Человек и противокислительные вещества. Ленинград, «Наука», 1985, 230 с.
14. Белявский В. Н., Германович Н. Ю. Перекисное окисление липидов (ПОЛ) у коров при адаптации к различным условиям содержания. В: «Актуальные проблемы ветеринарной медицины и зоотехнии». Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», Витебск, 2004, т. 40, ч. 2, с. 7-8.
15. Власова С. Н., Шабунина Е. И., Переслегина И. А. Активность гутатионзависимых ферментов эритроцитов при хронических заболеваниях печени у детей. В: Лаб. дело, 1990, № 8, с. 19-22.

16. Воскресенский О. Н., Жутаев И. А., Бобырев В. Н., Безуглый Ю. В. Антиоксидантная система, онтогенез и старение. В: Вопр. Мед. Хим., 1982, т. 28., вып. 1, с. 14-27.
17. Гаврилов В. Б., Гаврилова А. Р. Анализ методов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с ТБК. В: Вопр. Мед. Хим., 1987, № 1, с. 118-122.
18. Галактионова Л.П., Молчанов А.В., Ельчанинова С.А., Варшавский В.И. Состояние перекисного окисления липидов у больных с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки. В: Клин. Лаб. Диагн., 1998, № 6, с.10-14.
19. Голбан Д. М., Кочу В. М., Аль-Кудех-Кхалед. Профилактика синдрома пероксидации у высокопродуктивных коров путем введения природных антиоксидантов. В: III Всесоюзная конференция «Биоантиоксидант». Тезисы докладов. Москва, 1989, т.1, с. 209.
20. Горанов Х. и др. Пероксидация на эритроцитните липиди като диагностичен тест за осигуреността на прасета, агнета и пилета с витамин Е. В: Ветеринарномедицински науки. София, 1987, год. XXIV, № 6, с. 65 – 70.
21. Двинская Л. М, Шубин А. А. Использование антиоксидантов в животноводстве. Л: Агропромиздат, 1986, 160 с.
22. Журавлев А. И. Биоантиокислители в регуляции метаболизма в норме и патологии. Москва, 1982, с. 3-36.
23. Зарипова Л. П., Хабибулов М. А., Малов М. А. Кормление и разведение с/х животных. Откорм молодняка крупного рогатого скота с использованием антиоксидантов. Саранск. 1985, с. 79-83.
24. Захарченко С.А. В: Тр. Латв. СХА. Нормы дилудина в кормлении телят. 1978. вып. 155, с. 44-45.
25. Ковалев С. П., Кондратьев В. С. О некоторых причинах анемии при кетозе коров. В: Сб. Научн. Тр., Повышение продуктивности жвачных в условиях юга Украины. Одесса, 1989, с. 43-47
26. Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г., Токарев В. Е. Метод определения активности каталазы. В: Лаб. дело, 1988, № 1, с. 16-19.
27. Кочу В. М., Текле Екуба, Старчук Н. В. Профилактика синдрома пероксидации у высокопродуктивных коров при помощи дилудина. В: Материалы Республиканской конференции молодых ученых. Молодежь и интенсификация агропромышленного комплекса. Кишинев, 1989, с. 149-150.
28. Кочу В. М. Влияние препарата ПДЭ на антиоксидантную систему у коров-рожениц. В: Сборник научных трудов КСХИ. Новые препараты в ветеринарии. 1990, с. 21-27.

29. Кушнир И. Ю. Влияние препарата плацента активное начало на процессы перекисидации липидов у высокопродуктивных молочных коров после родов. В: «Актуальные проблемы ветеринарной медицины и зоотехнии». Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», Витебск, 2004, т. 40, ч. 2, с. 29-31.
30. Латвиетис Я. Я., Максимова Н. И. Использование антиоксидантов и рационах лактирующих коров. В: Сб. научн. Тр. Бел. СХА, 1982, вып. 94, с. 28-32.
31. Максимова Н. И. Влияние соединений антиоксидантного действия на продуктивность лактирующих коров. В: Сб. научн. Тр. Бел. СХА, 1981, вып. 75, с. 43-48.
32. Максимова Н. И. Использование соединений антиоксидантного действия в кормлении коров: Автореф. дисс. канд. с./х. наук, Елгава, 1985, 20 с.
33. Матюшин Б.Н., Логинов А.С., Ткачев В.Д. Определение супероксиддисмутазной активности в материале пункционной биопсии печени при ее хроническом поражении В: Лаб. дело, 1991, № 7, с. 16-19.
34. Молчанов А. В. Актуальные вопросы диагностики и лечения внутренних болезней В: Тезисы краевого съезда терапевтов, Барнаул, 1993.
35. Постоечко В. О., Засекин Д. А. Окиснювально-антиоксидантна система організму телят у нормі та при патології. В: Ветеринарна Медицина України, 2004, т. 2, с. 16-19.
36. Прохорова М. И. и др. Методы биохимических исследований. Л., 1982, с. 172-174.
37. Распутина О. В., Скомарова М. Н., Цырендоржиев Д. Д., Курилин В. В. Оксидативный гомеостаз у стельных коров и при гнойно-катаральном эндометрите. В: Ветеринария, 2007, т. 1, с. 35-39.
38. Розыграев А. В., Арутюнян А. В. Определение глутатион пероксидазной активности в сыворотке крови человека с использованием пероксида водорода и 5,5-дитиобис (2-нитробензойной кислоты). В: Клин. лабор. д-ка, 2006, № 5, с. 13-15.
39. Рядчиков В. Г. Рацион и здоровье высокопродуктивных коров. В: Эффективное животноводство, 2010, № 4, т. 54, с. 14-17.
40. Спруж Я. Я., Лутинский С. Я. Результаты скормливания комбикормов, обогащенных дилудином, дойным коровам. В: Пищеварение и всасывание у животных, Рига, 1979, с. 210 - 218.
41. Степанова И. Л., Макарова Я. С., Конева И. В. Общая про- и антиоксидантная способность крови крупного рогатого скота при разных физиологических состояниях. В: Труды Кубанского Государственного Аграрного Университета, серия: Ветеринарные науки, 2009, № 1, (ч. 2), с. 328-330.

42. Степанова И. Л., Макарова Я. С. Про- и антиоксидантная системы крови крупного рогатого скота разного возраста. В: Труды Кубанского Государственного Аграрного Университета, серия: Ветеринарные науки, 2009, № 1, (ч. 2), с. 330-332.
43. Швиндт В. И., Калимуллин Ф. И., Левахин В. И., Исаков Р. Г., Попов В. В. Влияние антистрессовых препаратов на пищеварение и обмен веществ в организме жвачных. В: Вестник ОГУ, 2006, № 12, с. 88-90.
44. Шубин А. А., Ковальский С. Д. Повышение воспроизводительной функции коров при введении в рацион витамина А и сантохина. В: Химия в сельском хозяйстве, 1976, № 5, с. 62-65.
45. Шубин А. А., Шубина Л. А. Применение синтетических и природных антиоксидантов в кормлении коров и быков-производителей. В: Молочное и мясное скотоводство, 1982, № 5, с. 38-40.
46. Чеснокова Н. И., Понукалина Е. В., Бизенкова Е. Н. Молекулярно-клеточные механизмы инактивации свободных радикалов в биологических системах. В: Успехи современного естествознания, 2006, № 7, с. 29-36.
47. Чевари С., Андял Т., Шпренгер Я. Лабораторное дело, 1991, № 10, р. 9-13.
48. Яковлев В., Левахин Г. Дилудин – антиоксидант и стимулятор роста животных. В: Молочное и мясное скотоводство, 1982, № 4, с. 36 - 37.
49. Цыганский Р. А. Антиоксидантный статус коров черно-пестрой породы в сухостойный период. В: Труды Кубанского Государственного Аграрного Университета, серия: Ветеринарные науки, 2009, № 1, (ч. 2), с. 349-351.
50. Allison, R.D., Laven R.A. Effect of vitamin E supplementation on the health and fertility of dairy cows; a review. In: Veterinary Record, 2000, vol. 147, p.703-708.
51. Aeberhard, K., Brukmaier, R. M., Kuepfer, U. and Blum, J. W.. Milk yield and composition, nutrition, body condition scores, fertility and diseases in high-yielding dairy cows – Part 1. In: J. Vet. Med. A. Physiol. Pathol. Clin. Med., 2001, vol. 48, p. 97-110.
52. Alvarez B., Radi R. Peroxynitrite reactivity with amino acids and proteins. In: Amino Acids, 2003, vol. 25, p. 295-311.
53. Apple J. K. et al. Effects of restraint and isolation stress and epidural blockade on endocrine and blood metabolite status, muscle glycogen metabolism and incidence of dark-cutting longissimus muscle of sheep. In: J. Anim. Sci., 1995, vol. 73, p. 2295-2307.
54. Aréchiga C. F., Otíz O. and Hansen P. J. Effect of prepartum of vitamin E and selenium on postpartum reproductive function in dairy cattle. In: Theriogenology. 1994, vol. 41, p. 1251-1258.

55. Arnold R. N., Arp S. C., Scheller K. K., Williams S. N., Schaeffer D. M. Tissue equilibration and subcellular distribution of vitamin E relative to myoglobin and lipid oxidation in displayed beef. In: J. Anim. Sci., 1993, vol. 71, p. 105-118.
56. Aurousseau B. Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage: conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. In: INRA Prod. Anim., 2002, vol. 15 (1), p. 67-82.
57. Aurousseau B., Durand D., Gruffat D. Contrôle des phénomènes oxydatifs pendant la gestation chez les monogastriques et les ruminants. In: INRA Prod. Anim., 2004, vol. 17 (5), p. 339-354.
58. Awadeh F. T., Kincaid R. L., Johnson K. A. Effect of level and source of dietary selenium on concentrations of thyroid hormones and immunoglobulins in beef cows and calves. In: J. Anim. Sci., 1998, vol. 76, p. 1204-1215.
59. Bartosz G. Peroxynitrite: mediator of the toxic action of nitric oxide. In: Acta Biochim. Pol., 1996, vol. 43, p. 645-659.
60. Bernabucci U., Ronchi B., Lacetera N., and Nardone A. Markers of oxidative status in plasma and erythrocytes of transition dairy cows during hot season. In: J. Dairy Sci., 2002, vol. 85, p. 2173-2179.
61. Bernabucci U., Ronchi B., Lacetera N., and Nardone A.. Influence of body condition score on relationships between metabolic status and oxidative stress in periparturient dairy cows. In: J. Dairy Sci., 2005, vol. 88, p. 2017-2026.
62. Blondin P., Coenen K., Sirard M. A. The impact of reactive oxygen species on bovine sperm fertilizing ability and oocyte maturation. In: J. Androl., 1997, vol. 18, p. 454-460.
63. Bondy S. C. Reactive oxygen species: relation to aging and neurotoxic damage. In: Neuro Toxicol., 1992, vol. 13, p. 87-100.
64. Boonstra J., Post J. A. Molecular events associated with reactive oxygen species and cell cycle progression in mammalian cells. In: Gene., 2004, vol. 337, p. 1-13.
65. Bors W., Czapski G., Saran M. An expanded function for superoxide dismutase. In: Free Radic. Res., 1991, vol. 11, p. 411-417.
66. Botha C. J., Naude T. W., Swan G. E., Guthrie A. J. Evaluation of the efficacy of D-penicillamine and trientine as copper chelators using an in vitro technique involving ovine red blood cells. In: J. Vet. Res., 1992, vol. 59, p. 191-195.
67. Bouwstra R. J., Goselink R. M. A., Dobbelaar P., Nielen M., Newbold J. R. and T. van Weren. The relationship between oxidative damage and vitamin E concentration in blood, milk

and liver tissue from vitamin E supplemented and nonsupplemented periparturient heifers. In: *Journal of Dairy Science*, 2008, vol. 91, p. 977-987.

68. Brand M. D. et al. Mitochondrial superoxide: production, biological effects, and activation of uncoupling proteins. In: *Free Radic. Biol. Med.*, 2004, vol. 37, p. 755-767.

69. Bremner I., Beattie J. H. Metallothionein and the trace minerals. In: *Ann. Rev. Nutr.*, 1990, vol. 10, p. 63-83.

70. Brzezinska-Slebodzinska E. et al. Antioxidant status of dairy cows supplemented prepartum with vitamin E and selenium. In: *J. Dairy Sci.*, 1994, vol. 77, p. 3087-3095.

71. Burk R. F., Hill K. E. Some properties of selenoprotein P. In: *Biol Trace Elem. Res.*, 1992, vol. 33, p. 151-153.

72. Calabrese E. J., Baldwin L. A. Hormesis: a generalizable and unifying hypothesis. In: *Crit. Rev. Toxicol.*, 2001, vol. 31, p. 353-424.

73. Cao G., Shukitt-Hale B., Bickford P. C., Joseph J. A., McEwen, Prior R. L. Hydroperoxia – induced changes in antioxidant capacity and the effect of dietary antioxidants. In: *J. Appl. Physiol.*, 1999, vol. 86, p. 1817-1822.

74. Castillo C., J. Hernandez, A Bravo, M. Alonso-Lopez, V. Pereira, J. L. Benedito. Oxidative status during late pregnancy and early lactation in dairy cows. In: *The Veterinary Journal*, 2005, vol. 169, p. 286-292.

75. Castillo C., J. Hernandez, I. Valverde, V Pereira, J. Sotillo, M. Alonso-Lopez, J. L. Benedito. Plasma malonaldehyde (MDA) and total antioxidant status (TAS) during lactation in dairy cows. In: *Research in Veterinary Science*, 2006, vol. 80, p. 133-139.

76. Chignell C. F., Bray T. M., Kalyanaraman B., Mason R. P. Free radicals in toxicology. In: *Toxicol Appl. Pharmacol.*, 1993, vol. 120, p. 168-178.

77. Cole N. A. Metabolic changes and nutrition repletion in lambs provided with electrolyte solutions before and after feed and water deprivation. In: *J. Anim. Sci.*, 1996, vol. 74, p. 287-294.

78. Coşman S., Bahevanji M., Coşman V., Cociu V. Use of a premix for dairy cows during the first period of lactation. În: *Lucrări ştiinţifice USAMVBT. Timişoara*, 2008, Vol. 41(1), (Zootehnie şi Biotehnologii), p. 498 - 505.

79. Cummins K. A., Brunner C. J. Effect of calf housing on plasma ascorbate and endocrine and immune function. In: *J. Dairy Sci.*, 1991, vol. 74, p. 1582-1588.

80. Davis S. R., Cousins R. J. Metallothionein expression in animals: a physiological perspective on function. In: *J. Nutr.*, 2000, vol. 130, p. 1085-1088.

81. Dechow, C. D., Rogers G. W. and Clay G. S.. Heritability and correlations among body condition score loss, body condition score, production and reproductive performance. In: J. Dairy Sci., 2002, vol. 85, p. 3062-3070.
82. De Bont R., van Larebeke N. Endogenous DNA damage in humans: a review of quantitative data. In: Mutagenesis, 2004, vol. 19, p. 169-185.
83. Dedon P. C., Tannenbaum S. R. Reactive nitrogen species in the chemical biology of inflammation. In: Arch. Biophys., 2004, vol. 423, p. 12-22.
84. De Lamirande E. et al. Reactive oxygen species and sperm physiology. In: Rev. Reprod., 1997, vol. 2, p. 48-54.
85. De Moffarts B. et al. Impact physiologique et pathologique du stress oxydant chez le cheval. In: Ann. Med. Vet., 2005, vol.149, p. 1-9.
86. De Silva D. M., Aust S. D. Ferritin and ceruloplasmin in oxidative damage: review and recent findings. In: Can. J. Physiol. Pharmacol., 1992, vol. 71, p. 715-720.
87. De Smet S., Wullepit N., Ntawubizi M., Beerda B., Veerkamp R. F., Raes K. Influence of management and genetic merit for milk yield on the oxidative status of plasma in heiferds. In: 57th EAAP Annual Meeting, Antalya, 17-20 September 2006 – Session M 19.3 – Abstract no. 592.
88. Dianzani M. U. 4-hydroxynonenal: from pathology to physiology. In: Mol. Aspects. Med., 2003, vol. 24, p. 263-272.
89. Djordjevic V. B. Free radicals in cell biology. In: Int. Rev. Cytol., 2004, vol. 237, p. 57-89.
90. Dorco C. Antioxidants used in foods. In: Food Technol., 1994, vol. 4.
91. Dotan Y., Lichtenberg D., Pinchuk I. Lipid peroxidation cannot be used as a universal criterion of oxidative stress. In: Prog. Lipid. Res., 2004, vol. 43, p. 200-227.
92. Drackley J. K. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? In: J. Dairy Sci., 1999, vol. 82, p. 2259-2273.
93. Drackley, J. K., Beitz D. C., Richard M. J., and Young J. W. Metabolic changes in dairy cows with ketonemia in response to feed restriction and dietary 1,3-butanediol. In: J. Dairy Sci., 1992, vol. 75, p. 1622–1634.
94. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. In: Physiol. Rev., 2002, vol. 82, p. 47-95.
95. Dyk P. B. et al. Prepartum non-esterified fatty acids in plasma are higher in cows developing periparturient health problems. In: J. Dairy Sci., 1995, vol. 78, p. 264. (Abstr.)
96. Ebadi M. et al. The antioxidant properties of zinc and metallothionein. In: Neurochem. Int., 1996, vol. 29, p. 159-166.

97. Elliott S. Dilema seleniului: Care este scopul aprobării produsului Sel-Plex în UE?. În: Turneul de conferințe pentru Europa, Orientul Mijlociu și Africa de Nord. 2007, p. 81-95
98. Elliott S., Harrison G., Dawson K. Selenium supplementation of dairy cattle: responses to organic and inorganic forms of selenium. In: Proceedings of the Midwestern section ASAS and Midwest Branch ADSA Meeting, Des Moines, 2005, p. 265. (Abstr.)
99. Fantel A.G. et al. Reactive oxygen species and DNA oxidation in fetal rat tissues. In: Free Radic. Biol. Med., 1998, vol. 25, p. 95-103.
100. Feinendegen L. E. Reactive oxygen species in cell responses to toxic agents. In: Hum. Exp. Toxicol., 2002, vol. 21, p. 85-90.
101. Gaál T. Free radicals and the antioxidant system an overview. In: Lucrări științifice. Medicină veterinară. Timișoara, 2005, vol. XXXVIII, p. 402-406.
102. Gardne P. R. Superoxide-driven aconitase FE-S center cycling. In: Biosc. Rep., 1997, vol. 17, p. 33-42.
103. Giannetto C., Fazio F., Assenza A., Caola G., Pennisi P., Piccione G. Circadian rhythms of redox states and total locomotor activity in dairy cattle. In: Czech J. Anim. Sci., 2010. Vol. 55, (5), p. 183-189.
104. Goff J. P. and Horst R.L. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. In: J. Dairy Sci., 1997, vol. 80, p. 1260-1268.
105. Goldstein B. J., Mahadev K., Wu X. Redox paradox: insulin action is facilitated by insulin-stimulated reactive oxygen species with multiple potential signaling targets. In: Diabetes, 2005, vol. 54, p. 311-321.
106. Griendling K. K., Ushio-Fukai M. Reactive oxygen species as mediators of angiotensin II signaling. In: Regul. Pept., 2000, vol. 91, p. 21-27.
107. Groemping Y., Rittinger K. Activation and assembly of the NADPH oxidase: a structural perspective. In: Biochem. J., 2005, vol. 386, p. 401-416.
108. Grummer R. R. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. In: J. Anim. Sci., 1995, vol. 73, p. 2820-2833.
109. Halliwell B., Gutteridge J.M.C. Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford, Clarendon Press, 1989.
110. Halliwell B., Gutteridge J.M.C. Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford University Press, 1999, 543 p.
111. Harmon R. J. Use of organic minerals in livestock diets. În: Alltech Summit Series. Review, 2002.

112. Harrison R. Physiological roles of xanthine oxidoreductase. In: Drug Metab. (Rev.), 2004, vol. 36, p. 363-375.
113. Harrison G. A., Tricarico J. M., Elliot S. A. Effect of Sel-Plex supplementation during the dry period on whole blood and colostrums selenium in dairy cows in a commercial dairy herds in the Southeastern US. In: Proceedings of the 21st Annual Symposium on Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries, Lexington, Ky, 2005. (Suppl. 1)
114. Herdt, T. H. Fatty liver in dairy cows. In: Vet. Clin. N. Am. Food Anim. Prac., 1988, vol. 4, p. 269-287
115. Holban D., Cociu V., Fauzi Gamali. Risk factors of lipids peroxidation syndrome and methods of their elimination in reference to the experiments on cattle. În: Symposium with international participation „Pathology in ruminants”. Timișoara, 1995, p. 57-58.
116. Huang C. J., Fwu M. L. Degree of protein deficiency affects the extent of the depression of the antioxidative enzyme activities and the enhancement of tissue lipid peroxidation in rats. In: J. Nutr., 1993, vol. 123, p. 803-810.
117. Iialal I., Norkus E. P., Cristal L., Grundy S. M. Beta-carotene inhibits the oxidative modification of low-density lipoprotein. In: Biochem. Biophys. Acta, 1991, vol. 86, p. 134-138.
118. Imlay J. A. Pathways of oxidative damage. In: Ann. Rev. Microbiol., 2003, vol. 57, p. 395-418.
119. Ingvarsen K. L., Andersen J. B. Symposium: dry matter intake of lactating dairy cattle. Integration of metabolism and intake regulation: a review focusing on periparturient animals. In: J. Dairy Sci., 2000, 83, p. 1573-1597.
120. Jacob R. A., Burri B. J. Oxidative damage and defence. In: Am. J. Clin. Nutr., 1996, vol. 863, p. 985-990.
121. Jager F. C. Determination of vitamin E requirement in Rats by Means of spontaneous haemolysis in vitro. In: Nutr. Dieta, 1968, № 10, p. 215-223.
122. James A. M., Smith R. A., Murphy M. P. Antioxidant and prooxidant properties of mitochondrial Coenzyme Q. In: Arch. Biochem. Biophys., 2004, vol. 423, p. 47-56.
123. Janisch K. M., Milde J., Schempp H., Elstner E. F. Vitamin C, vitamin E and flavonoids. In: Dev. Ophthalmol., 2005, vol. 38, p. 59-69.
124. Jewett S. L. et al. A new look at a time-worn system: oxidation of CuZn-SOD by H₂O₂. In: Free Radic. Biol. Med., 1999, vol. 26, p. 905-918.
125. Johnson N. A., Fischer J. G. Role of minerals in protection against free radicals. In: Food Techn., 1994, vol. 5, p. 112-119.

126. Kasai H. Chemistry-based studies of oxidative DNA damage: formation, repair and mutagenesis. In: *Free Radic. Biol. Med.*, 2002, vol. 33, p. 450-456.
127. Kleczkowski M. Cooper content and superoxide dismutase and ceruloplasmin activities in selected organs and constitutional fluids of cows from the Biebrza river valley. In: *Roczn. Nauk. Roln., Seria B*, 1990, vol. 106, p. 7-19.
128. Kleczkowski M. Evalution of lipids peroxidation in tissues of bulls fed cooper, zinc, molybdenum, and sulphur (Part II). *Rozprawa habil. PIWet.*, Pulawy, 1991, p. 41-74.
129. Kleczkowski M. Ascorbic acid – properties and participation in metabolism. In: *Mat. XX Konf. Naukowej Pracowni Biochemicznych ZHW, PIWet.* Pulawy, 1993, p. 6-35.
130. Kleczkowski M. et al. Role of transition metals ion and reactive oxygen species in biological oxidation in cattle. In: *Polish J. Vet. Sci.*, 2002, vol. 4, p. 263-268.
131. Kleczkowski M., Klucinski W., Bartosz G. *Free radical basics of cattle diseases*. Lomza, 2006, 105 p.
132. Koizumi M. et al. A marked increase in free copper levels in the plasma and liver of LEC rats: an animal model for Wilson disease and liver cancer. In: *Free Radic. Res.*, 1998, vol. 28, p. 441-450.
133. Kondo H. et al. Trace element movement and oxidation stress in skeletal muscle atrophied by immobilization. In: *Am. J. Physiol.*, 1992, vol. 262, p. 583-590.
134. Krause K. H. Tissue distribution and putative physiological function of NOX family NADPH oxidases. In: *Jpn. J. Infect. Dis.*, 2004, vol. 57, p. 28-29.
135. Kwiatkowski J. M. Enzymes of erythrocytes their structure and function. In: *Post. Bioch.*, 1989, vol. 35, p. 575-584.
136. Lambeth J. D. Nox/Duox family of nicotinamide adenine dinucleotide (phosphate) oxidases. In: *Curr. Opin. Hematol.*, 2002, vol. 9, p. 11-17.
137. Lenzi A. Lipoperoxidation damage of spermatozoa polyunsaturated fatty acids (PUFA): Scavenger mechanisms and possible scavenger therapies. In: *Frontiers in Bioscience*, 2000, vol. 5, p. 1-15.
138. Lomba F. Influence des rapports anions-cations et oxydants-antioxydants dans les ration des vaches laitieres en periode de tarissement sur l'incidence du syndrome du part. In: *Ann. Med. Vet.*, 1996, vol. 140, p. 109-122.
139. Löhrke B., Viergutz T., Kanitz W., Losand B., Weiss D. G., and Simko M. Hydroperoxides in circulating lipids from dairy cows: implication for bioactivity of endogenous-oxidized lipids. In: *J. Dairy Sci.*, 2005, vol. 88, p. 1708-1710.

140. Löhrke B., Viergutz T. T., Kanitz W., Gollnitz K., Becker F., Hurtienne A., Schweigert F. J. High milk yield in dairy cows associated with oxidant stress. In: J. Vet. Res., 2004, 8, 70-78.
141. McCord J. M. Free radicals and prooxidants in health and nutrition. In: Food Technol., 1994, vol. 5, p. 106-111.
142. McGeary R. P., Szyzew A. J., Toth I. Biological properties and therapeutic potential of bilirubin. In: Mini Rev. Med. Chem., 2003, vol. 3, p. 253-256.
143. McDowell L. P. Reevaluation of the metabolic essentiality of the vitamins. In: Asian-Australian Journal of Animal Sciences, 2000, vol. 13, p. 115-125.
144. Miller B. L., Perry H. B., Fowler M. A., Gregorio R. M. The effect of vitamin E addition on calves fed milk replacer. In: J. Dairy Sci., 1993, vol. 76 (suppl. 1), p. 221, (Abstract).
145. Miller J. K., Brzezinska-Slebodzinska E., Madsen F.C. Oxidative stress, antioxidants, and animal function. In: J. Dairy Sci., 1993, vol. 76, p. 2812-2823.
146. Nagorna-Stasiak B., Lazuga-Adamczyk A., Lechowski J. Influence of motility fatty acids – acetic, propionic, and butyric on absorption vitamin C in chickens. Medycyna Wet., 1991, (47), p. 86-89.
147. Nicpon J. Influence of metabolic disorders in cows on quantity and quality of milk. In: Conference materials. Polanica Zdroj, 1998, p. 26-27.
148. Nordlund, K. V., Garrett E. F. Rumenocentesis: a technique for collecting rumen fluid for the diagnosis of subacute rumen acidosis in dairy herds. In: Bovine Pract., 1994, vol. 28, p.109.
149. Normand J., Thériez M., Bas P., Aurousseau B., Sauvart D. Effet de la nature de l'énergie ingérée, céréales vs pulpes de betteraves, sur les performances de croissance et la qualité des carcasses d'agneaux de bergerie. In: Ann. Zootech., 1999, vol. 48, p. 367-380.
150. Omoto E., Tavassoli M. Purification and partial characterisation ceruloplasmin receptors from rat liver endothelium. In: Arch. Biochem., 1990, vol. 282, p. 34-39.
151. Parnham M. J. Free radicals and inflammation, 1st edn., Birkhauser Verlag, Basel-Boston-Berlin, 2000.
152. Pintea A., D. Zinveliu, R. Al. Pop, S. Andrei, E. Kiss. Antioxidant status in dairy cows during lactation. In: Buletin USAMV-CN, 2006, vol. 63, p. 130-135.
153. Re R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. In: Free Radic. Biol. Med., 1999, vol. 26, p. 1231-1237.
154. Rifkind J. M. et al. Redox reactions of hemoglobin. In: Antioxid. Redox Signal, 2004, vol. 6, p. 657-666.
155. Roberts C. J., Reid I. M., Rowlands G. J., Patterson A. A fat mobilisation syndrome in dairy cows in early lactation. In: Vet.Rec., 1981, vol. 108, p.7–9.

156. Rohrdanz E., Kahl R. Alterations of antioxidant enzyme expression in response to hydrogen peroxide. In: *Free Radic. Biol. Med.*, 1998, vol. 24, p. 27-38.
157. Ronchi B., Bernabucci U., Lacetera N. and Nardone A. Oxidative and metabolic status of high yielding dairy cows in different nutritional conditions during the transition period. In: *Proc. 51st Annual Meeting EAAP*, 2000, Vienna, p. 125.
158. Sahoo S. S., R .C. Patra, P. C. Behera, D. Swarup. Oxidative stress indices in the erythrocytes from lactating cows after treatment for subclinical ketosis with antioxidant incorporated in the therapeutic regime. In: *Veterinary Research Communications*. March 2009, Volume 33, Issue 3, pp 281-290. ISSN: 0165-7380 (Print) 1573-7446 (Online)
159. Selman C., Mc Laren J. S., Himanka M. J., Speakman J. R. Effect of long term cold exposure on antioxidant enzyme activities in a small mammal. In: *Free Radic. Biol. Med.*, 2000, vol. 28, p. 1279-1285.
160. Senesi N. Molecular and quantative aspects of the chemistry of fulvic acid and its interactions with metal ions and organic chemicals. In: *Anal. Chim.*, 1990, vol. 232, p. 51-75.
161. Sen C. K., Packer L. Thiol homeostasis and supplements in physical exercise. In: *The Am. J. Clin. Nutr.*, 2000, vol. 72 (suppl), p. 553-669.
162. Serteyn D., Mouithys-Mickalad A., Franck T., Grulke S., Lamy M., Deby C., Deby-Dupon G. La nature chimique et la réactivité de l'oxygène. In: *Ann. Méd. Vét.*, 2002, 146, p. 137-153.
163. Sigel A., Sigel H. Metal ions in biological systems, 1st ed., Marcel Dekker, Inc., New York-basel-Hong -Kong, 1999.
164. Sies H., Stahl W., Sundquist A. R. Antioxidant functions of vitamins: Vitamin E and C, beta carotene and other carotenoids. In: *Ann. NY Acad. Sci.*, 1992, vol. 699, p.7-20.
165. Sies H. Antioxidants in disease mechanisms and therapy. In: *Advances in Pharmacology*, 1997, Vol. 38, p. xxiii.
166. Silvaş E. et al. Modern means of controlling metabolic health state of high performance milk cow stocks. In: *PROCEEDINGS Symposium with international participation „Pathology in ruminants”*. Timișoara, 1995, p. 56.
167. Skrzydlewska E., Sulkowska M., Makiela M. Zmiany wewnątrzkomorkowej degradacji białek w procesie starzenia się organizmu. In: *Post Hig. Med. Dosw.*, 2001, vol. 55, p. 467-481.
168. Smith B. P. Large animal medicine. 2nd ed., Mosby-Year Book, Inc., St. Louis-London-Philadelphia-Toronto, 2002.
169. Sordillo L. M. and Aitken S.L. Impact of oxidative stress of the health and immune function of dairy cattle. In: *Vet. Immunol. Immunopatol.* 2009, 128, p. 104-109.

170. Sordillo L. M., O'Boyle N., Gandy J. C., Corl C. M. and Hamilton E. Shifts in thioredoxin reductase activity and oxidant status in mononuclear cells obtained from transition dairy cattle. In: J. Dairy Sci., 2007, 90, p. 1186-1192.
171. Stanko R. L., Guthrie M. J., Chase C. C. Jr., Randel R. D. Effects of exogenous glucose on colostrum on body temperature, plasma glucose and serum insulin in cold stressed newborn brahman calves. In: J. Anim. Sci., 1992, vol. 70, p. 3007-3013.
172. Stone J. R. An assessment of proposed mechanisms for sensing hydrogen peroxide in mammalian systems. In: Arch. Biochem. Biophys., 2004, vol. 422, p. 119-124.
173. Sugino N. Roles of reactive oxygen species in the corpus luteum. Animal Sciences Journal, 2006, 77, 556-565.
174. Surai P. Antioxidant systems in animal body. In: Selenium in nutrition and health. Nottingham University Press, UK, 2006, p. 1-32
175. Szpringer E. et al. Peroxidation-antioxidation imbalance after severe injury. In: Pol. Sc., 2000, vol. 3, p. 39-45.
176. Teramoto S. et al. Effect of whole body cold stress on glutathione metabolism in young and old mice. In: J. Clin. Biochem. Nutr., 1998, vol. 24, p. 69-77.
177. Thomas O.E. The influence of medium components on Cu⁺⁺ dependent oxidation of low-density lipoproteins and its sensitivity to superoxide dismutase. In: Biophys. Biochim. Acta., 1992, vol. 1128, p. 50-57.
178. Thomson C. D. Selenium speciation in human body fluids. In: Analyst, 1998, vol. 123, p. 827-831.
179. Touyz R. M., Schiffrin E. L. Reactive oxygen species in vascular biology: implications in hypertension. In: Histochem. Cell. Biol., 2004, vol. 122, p. 339-352.
180. Tsan M. F. Superoxide dismutase and pulmonary toxicity: lessons from transgenic and knockout mice. In: Int. J. Mol. Med., 2001, vol. 7, p. 13-19.
181. Turrens J. F. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. In: J. Physiol., 2003, vol. 552, p. 335-344.
182. Underwood E. J., Suttle N. F. Mineral nutrition of livestock, 2nd edn., CABI Publishing, Wallingford, 1999.
183. Urquiaga I., Leighton F. Plan polyphenol antioxidants and oxidative stress. In: Biol. Res., 2000, vol. 33, p. 55-64.
184. Ushio-Fukai M., Alexander R. W. Reactive oxygen species as mediators of angiogenesis signaling: role of NAD(P)H oxidase. In: Mol. Cell. Biochem., 2004, vol. 264, p. 85-97.

185. Valle G. Effect of different methods, sources and levels of selenium supplementation and fertilization on beef cattle and forage tissue levels. PhD thesis, University of Florida, Florida US, 2001.
186. Vázquez-Añón M., Nocek J., Bowman G., Hampton T., Atwell C., Vazquez P. and T. Jenkins. Effects of feeding a dietary antioxidant in diets with oxidized fat on lactation performance and antioxidant status of the cow. In: Journal of Dairy Science, 2008, vol. 91, p. 3165-3172.
187. Vignais P. V. The superoxide-generating NADPH oxidase: structural aspects and activation mechanism. In: Cell. Mol. Life. Sci., 2002, vol. 59, p. 1428-1459.
188. Weiss W. P., Hogan J. S., Todhunter D. A. and Smith K. L. Effect of vitamin E supplementation in diets with a low concentration of selenium on mammary gland health of dairy cows. In: J. Dairy Sci., 1997, vol. 80, p. 1728-1737.
189. Wiseman H. Dietary influences on membrane function: importance in protection against oxidative damage and disease. In: J. Nutr. Biochem., 1996, vol. 7, p. 2-15.
190. Witt E. H. et al. Exercise oxidative damage and effects of antioxydant manipulation. In: J. Nutr., 1992, vol. 122, p. 766-773.
191. Winston G. W. et al. A rapid gas chromatographic assay for determining oxyradical scavenging capacity of antioxidants and biological fluids. In: Free Radic. Biol. Med., 1998, vol. 24, p. 480-493.
192. Winterbourn C. C. Biological reactivity and biomarkers of the neutrophil oxidant, hypochlorous acid. In: Toxicology, 2002, vol. 181-182, p. 223-227.
193. Wolfram S. Absorption and metabolism of selenium: difference between inorganic and organic sources. In: Biotechnology in the Feed Industry. Proceedings of 15th Alltech's Annual Symposium. Nottingham University Press, UK, 1999, p. 547-566.
194. Yao L. H. et al. Flavonoids in food and their health benefits. In: Plant Foods Hum. Nutr., 2004, vol. 59, p. 113-122.

ANEXE

**Copia certificatului despre rezultatele examenului
anatomo-patologic la vacile bolnave de cetoă (lotul B₃)**

СПРАВКА

о результатах патоморфологических исследований туш и внутренних органов пяти вынужденно убитых коров, принадлежащих племзаводу «Малаештский» Оргеевского района.

При осмотре туш и внутренних органов установлено, что животные нижесредней упитанности, анемичны, околопочечный и подэпикардальный жир ярко желтого (лимонного) цвета, творожистой (мажущейся) консистенции - (стеатит).

В сальнике кровоизлияния. Сердце увеличено в объеме, в основном за счёт правой половины, консистенция мышц правого желудочка дряблая. Печень увеличена (у одного животного – 12 кг), дряблая, неравномерно окрашена. Почки увеличены, дряблые, границы между корковым и мозговым веществом сглажены, корковый слой расширен. В рубце ороговение и уплотнение сосочков слизистой оболочки (паракератоз). В сычуге у 3-х животных изменения, характерные для катарального воспаления.

При гистологическом исследовании установлено:

в печени - зернистая дистрофия гепатоцитов, у одного животного жировая дистрофия, отёк интерстиция (вероятно в результате сердечно-сосудистой недостаточности);
в почках - зернистая дистрофия эпителия почечного канальца, у двух животных - серозный гломерулонефрит;
в сердце - миокардиодистрофия;
в селезёнке - у двух животных гиперплазия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обнаруженные изменения дают основания считать, что у исследованных животных имело место глубокие нарушения белкового, жирового и углеводного обмена, обусловленного нарушением сахара-протеинового соотношения, дефицитом сырой клетчатки, витаминов А, Е, С, серосодержащих аминокислот и интоксикацией со стороны желудочно-кишечного тракта.

Кандидат ветеринарных наук,
доцент Кишиневского Сельскохозяйственного
Института

Г. Е. ГОНЧАРУК

Anexa 2.

Componenta rației la vacile din loturile B₁₋₃

Nutrețuri	Canitatea, kg	SU, kg	UN	Energia metabolică, MJ	Proteină brută, g	Proteină digestibilă, g	Grăsimi brută, g	Celuloza, g	Amidon, g	Glucosa, g	Lizină, g	Metionina+ cistină, g	Calciu, g	Fosfor, g
Siloz	20	6,6	6	62	280	240	162	1760	160	120	10	16	35,2	11
Senaj	5	2,356	1,6	20,5	405	300	80	660	52,5	35,5	28,5	19	32	6,0
Fîn	5	4,150	2,2	33,6	790	505	110	1265	45	100	36,5	27,5	85	11
Sfeclă furajeră	25	4,550	4,5	45	380	275	50	255	140	191	10,0	5,0	15	5,0
Făină de iarbă	1,5	1,329	1,08	13,35	229,5	115,5	45	355,5	51	46,5	13,5	6,6	18,45	3,75
Tăieței de sfeclă uscați	0,3	0,258	0,228	2,67	51,3	25,5	4,8	43,5	-	-	1014	0,72	1,26	3,39
Melasă	1,5	1,17	1,14	11,7	183	92	7,5	-	-	814,5	-	-	4,05	4,05
Făină de soia	1,0	0,860	1,36	14,0	318	267,1	195	59	111,6	10,0	17,8	9,1	1,3	4,8
Combifuraj	8,0	6,817	7,78	78	1357,4	118,4	201,36	505,28	2037,28	463,12	56,72	425,4	15,03	68,97
Carboxilină	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NaCl	0,15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Monocalciu fosfat	0,15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	26,4	34,5
Total	67,9	28,09	25,88	280,8	3294,2	2938,5	855,66	4903,2	2597,38	1780,6	174,1	509,3	233,6	159,4
Necesarul		21,7	22,1	244	3125	2081	920	3344	4500	227,5			148	107
Neajuns							-64	-1559	-1902,6	-494,4				
Exces		+7,0	+4,0	+40,0	+799	+857,5							+85,6	+45,4

Copia instrucțiunii de utilizare a antioxidantului sintetic Diludină

Утверждаю:

Заместитель, начальника Главного
управления по производству комби-
кормов и кормовых добавок
А. Г. Ключковский

НАСТАВЛЕНИЕ

от 16. 04. 84 г. № 109-10

Москва

**по применению дилудина в качестве стимулятора продуктивности
сельскохозяйственных животных**

1. Общие сведения

- 1.1. Дилудин, 2,6-диметил-3,5-дикарбэтокси-1,4-дигидропиридин $C_{13}H_{19}NO_4$.
- 1.2. Дилудин представляет собой зеленовато-желтый порошок со слабым специфическим запахом, в воде не растворим, плохо растворим в этиловом спирте, хлороформе, растительных маслах и жирах, молекулярный вес — 254, температура плавления — 183—187 °С.
- 1.3. Выпускают дилудин в виде порошка, содержащего 96% активно действующего вещества. Препарат расфасовывают в полиэтиленовые мешки, которые вкладывают в крафт-мешки с черной прокладкой. Вес мешка 20 кг. Хранят дилудин в темном, сухом месте. Срок годности препарата — 2 года.

2. Механизм действия

- 2.1. Дилудин стимулирует рост, развитие и продуктивность животных, повышает в организме уровень токоферолов, снижает содержание перекисей, в печени, как антиоксидант стабилизирует каротин, витамины А, Д, Е, растительные масла и жиры.
- 2.2. Препарат всасывается в желудочно-кишечном тракте и распределяется в организме сравнительно равномерно. Через 72 часа его остаточных количеств в органах и тканях не обнаруживается. Дилудин малотоксичен для теплокровных животных. ЛД₅₀ для мышей при пероральном введении препарата составляет 3000 мг/кг живой массы. Препарат не обладает эмбриотоксическим, мутагенным действием и не накапливается в организме животных.

3. Применение препарата

- 3.1. Дилудин вводят в корма на комбикормовых заводах, а также в комбикормовых цехах хозяйств согласно существующей технологии ввода микродобавок. Основным требованием является равномерное распределение препарата во всей массе корма.

Дозы введения дилудина в корма (г/т):

цыплятам и бройлерам — 400; курам-несушкам — 400; пороссятам до 3 мес. — 200; свиньям на откорме — 200; свиноматкам — 250; телятам 1—6 мес. — 400; молодняку крупного рогатого скота на откорме — 350; дойным коровам — 600;

- 3.2.1. Препарат исключают из рациона животных за 72 часа до убоя.

- 3.2.2. Побочных явлений от применения дилудина не отмечается. Противопоказаний к его применению не имеется.

Считать утратившим силу «Временное наставление по применению дилудина в качестве стимулятора продуктивности сельскохозяйственных животных», утвержденное Главным управлением ветеринарии Минсельхоза СССР 12 сентября 1979 года.

Наставление разработано ордена Трудового Красного Знамени Институтом органического синтеза АН Латвийской ССР.

Одобрено Ветеринарным фармакологическим советом 21 сентября 1982 года.

Copia actului de implementare a rezultatelor științifice în procesul didactic

MINISTERUL AGRICULTURII
ȘI INDUSTRIEI ALIMENTARE
AI REPUBLICII MOLDOVA



МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
И ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ
РЕСПУБЛИКИ МОЛДОВА

UNIVERSITATEA AGRARĂ
DE STAT DIN MOLDOVA

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ МОЛДОВЫ

MD-2049, m.Chisinău, str. Mircești 44
tel: 31-22-58, 43-24-90
fax(373-22) 31-22-76
<http://www.uasm.md>

МД-2049, Кишинэу, ул. Мирчешть, 44
тел: 31-22-58, 43-24-90
факс (373-22) 31-22-76
<http://www.uasm.md>

„ 03 ” 04 2015
Nr. 06.09-413

ACT DE IMPLEMENTARE A REZULTATELOR ȘTIINȚIFICE

Prin prezentul, se confirmă implementarea rezultatele investigațiilor științifice la tema „Aspecte ale stresului oxidativ la bovine și combaterea lui”, realizată de **Cociu Valeriu** în Universitatea Agrară de Stat din Moldova. Rezultatele studiului efectuat, concluziile și recomandările, privind posibilitatea testării statusului antioxidant și diagnosticării stresului oxidativ la vaci, sunt utilizate în procesul didactic la Universitatea Agrară de Stat din Moldova, în cadrul Facultății de Medicină Veterinară, catedra Terapie. Printre cele mai importante cursuri în care au fost implementate rezultatele studiului respectiv menționăm:

1. „Fiziopatologia generală”;
2. „Biochimia clinică”;
3. „Boli de nutriție și metabolism”.

În baza investigațiilor științifice au fost susținute teze de licență și master.

Prim-prorector,
conferențiar universitar



Vasile Vrancean

Decanul Facultății de Medicină Veterinară,
conferențiar universitar

Gheorghe Donica

DECLARAȚIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII

Subsemnatul, declar pe răspundere personală că materialele prezentate în teza de doctorat, se referă la propriile activități și realizări științifice. Conștientizez, că în caz contrar, urmează să suport consecințele în conformitate cu legislația în vigoare.

_____ 2015

COCIU Valeriu

CURRICULUM VITAE

Numele și prenumele: COCIU Valeriu

Data nașterii: 18 decembrie 1963

Locul nașterii: c. Visoca, r-l Dondușeni, Republica Moldova.

Cetățenia: Republica Moldova, România.

Studii:

1989 –1986: Institutul Agricol din Chișinău, Facultatea de Medicină Veterinară, medic veterinar;

1988 – 1990: Institutul Agricol din Chișinău, FMV, catedra Terapie, studii de doctorat.

Stagii:

1995 – Institutul "Pasteur", București, România.

2015 – Facultatea de Medicină Veterinară, USAMV, Cluj Napoca.

Domeniile de interes științific:

Medicină veterinară, cercetarea statusului antioxidant la vacile de lapte.

Activitatea profesională:

1991 – 2000: lector universitar la catedra Terapie, UASM;

2000 – până în prezent: lector superior universitar la catedra Terapie, UASM.

Participări în proiecte științifice naționale și internaționale:

2008– 2010: "Incidența distrofiei grase a ficatului la vaci în fermele din Serbia, România și Republica Moldova", proiect de colaborare în cadrul organizației "BSEC".

Participări la foruri științifice (naționale și internaționale): conferințele științifice din Moscova și Leningrad (1989), Rusia; Simpozioanele Științifice internaționale din Timișoara (1995, 2008) și Cluj-Napoca (2005), România; Simpozioanele Științifice ale Facultății de Medicină Veterinară din Chișinău, UASM (1990, 1998, 2003, 2008, 2014).

Lucrări științifice și metodicodidactice publicate: lucrări științifice – 48, lucrări metodice – 4, brevete de invenție – 1.

Apartenența la societăți/asociații științifice naționale, internaționale: membru al Asociației Medicilor Veterinari din Republica Moldova.

Cunoașterea limbilor: limba română (maternă); limba rusă (fluent); limba franceză și engleză (citit, scris).

Date de contact:

MD-20, Chișinău, Mircești 22/4, Universitatea Agrară de Stat din Moldova, catedra Terapie, tel. serviciu (022-312-320), mob. (+373) 69978585, e-mail: valeriucociu@ymail.com

