

DOI: 10.7251/VETJ1702182V

UDK 636.2.09:[616-008.9:577.334]

Стручни рад

ПОЛИФЕНОЛИ ГРОЖЋА У ЗАШТИТИ ДОМАЋИХ ЖИВОТИЊА ОД ОКСИДАТИВНОГ СТРЕСА

Оливера Валчић, Светлана Милановић*

Кратак садржај

Актуелни трендови употребе биљних производа у заштити здравља људи и животиња довели су до широке примене природних полифенола присутних у биљкама, као што су зелени чај, боровница, аронија, итд. На основу досадашњих испитивања настанка оксидативног стреса као и начина превенције, можемо закључити да су грожђе, семенке грожђа, као и комина показали одређене пројективне ефекте. *In vivo* студије ефикасности полифенола су изузетно комплексне и до сада су дале контроверзне резултате. У овде представљеном раду дат је преглед до сада постигнутих сазнања ефеката употребе полифенола грожђа у заштити од оксидативног стреса домаћих животиња.

Кључне речи: полифеноли, грожђе, оксидативни стрес, домаће животиње

DOI: 0.7251/VETJ1702182V

UDK 636.2.09:[616-008.9:577.334]

Professional paper

GRAPE POLYPHENOLS IN THE PROTECTION OF DOMESTIC ANIMALS FROM OXIDATIVE STRESS

Olivera Valčić, Svetlana Milanović*

Summary

Current trends on the use of plant products in the protection of human and animal health have resulted in the widespread use of natural polyphenols present in plants such as green tea, chokeberries, blackberries, etc. According to a wide array of trials on oxidative stress and its prevention it can be concluded that grapes, grapeseeds and

¹ Проф. др Оливера Валчић и проф.др Светлана Милановић
Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду, Булевар ослобођења 18, 11000 Београд,
Република Србија

Електронска пошта кореспондентног аутора: olja@vet.bg.ac.rs

* Prof.dr Olivera Valčić, Prof.dr Svetlana Milanović, Faculty of Veterinary Medicine, Belgrade, Serbia

polyphenols have some protective effects. In vivo polyphenol efficacy studies are extremely complex and up to date have raised a number of controversial results. In the here presented paper we have offered a review on the knowledge on grape polyphenols in oxidative stress protection of domestic animals.

Key words: polyphenols, grapes, oxidative stress, domestic animals

УВОД

Природни екстракти биљака су нашли широку примену у очувању здравља, производних и репродуктивних карактеристика домаћих животиња. Потреба за изналагањем ефикасних, лако доступних природних препарата је настала као последица све чешће појаве непожељних ефеката синтетских производа. Установљено је да бројни биљни деривати имају пожељна антиоксидативна, антиинфламаторна, кардио и неуропротективна дејства као и антидијабетичке ефекте. Бројна истраживања која су спроведена у циљу идентификације активних молекула одговорних за набројана дејства су указала на широку групу органских једињења познатих као полифеноли (*Graf u cap., 2005; Arts u Hallman, 2005*).

ОКСИДАТИВНИ СТРЕС – УТИЦАЈ НА ЗДРАВЉЕ ДОМАЋИХ ЖИВОТИЊА

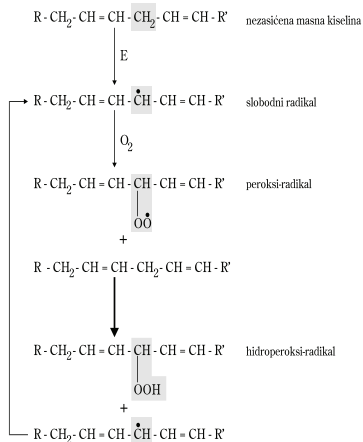
Током еволуције организми су се метаболички прилагодили на аеробне услове, међутим као последица оваквих адаптивних процеса дошло је до настанка слободних реактивних кисеоничних радикала. Слободни радикали су молекули који су у стању да реагују са кључним органским молеку-

лима у ћелији (липидима, угљеним хидратима, протеинима и нуклеинским киселинама) при чему доводе до поремећаја њихове структуре и последичног нарушавања функције (*Li u cap., 2010*). Наиме, липиди који су присутни првенствено у ћелијским мембранама подлежу процесу пероксидације уз ослобађање токсичног малондиалдехида (МДА), ензими могу бити инактивисани услед оксидације сулфидрилних група, могући су агрегација полисахаридних ланаца, депомелиризација угљених хидрата и оштећења генетског материјала (*Halliwel, 2008*).

Поред ендогених фактора на настанак слободних радикала утичу и други фактори као што су инфламаторни процеси, загађење средине, јонизујуће зрачење, стрес, физички напор, итд.

Процењује се да су ћелије једног човека свакодневно изложене удару од 10^5 реактивних слободних радикала, што индукује настанак оксидативног стреса (*Valko u cap., 2004*). Услед дејства слободних радикала ћелијски протеини могу бити модификовани на један од следећих начина: (а) оксидација специфичних аминокиселина, (б) цепање на пептиде, (в) умрежавање са производима липидне пероксидације (*Lobo u cap., 2010*). Фентонова ре-

акција представља кључни механизам настанка хидроксилних радикала који оштећују РНК и ДНК хеликс. Истовремено, хидроксилни радикали доводе до оксидативних оштећења. За време иницијалне фазе гликолизе долази до настанка кратколанчаних молекула који су склони самооксидацији и настанку супероксидног радикала. Овај радикал индукује ланчану реакцију и формацију дикарбонилних једињења која су изузетно мутагена (*Benov u Veena, 2003*). Најосетљивији молекули на дејство слободних радикала јесу ланци незасићених масних киселина. Наиме, присутне двогубе везе у ланцима незасићених масних киселина лако отпуштају водоникове атоме, при чему настају високореактивни слободни радикали (СЛИКА 1). Након губитка водониковог атома може доћи до молекуларног реаранжмана и настанка пероксидног радикала чиме се омогућава настанак ланчане реакције пероксидације липида уз ослобађање молекула малондиалдехида (МДА).



Слика 1. Шематски приказ ланчане реакције пероксидације масних киселина.

Интензивна липидна пероксидација биолошких мембрана доводи до нарушавања структурног интегритета мембрана, губитка флуидности, смањења мембранског потенцијала и повећања пермеабилности. Наведене промене резултирају губитком интегритета мембране и испуштањем целуларног садржаја (*Halliwell u Chirico, 1993*).

Природни физиолошки одговор на синтезу слободних радикала се огледа у повећаној активности система антиоксидативне заштите ћелије. Антиоксидативна заштита ћелије је вишестепена и чине је ензимски и неензимски фактори. У ензимске факторе (прва линија одбране) спадају супероксид дисмутаза, каталаза и глутатион пероксидаза, док се међу неензимским факторима (друга линија одбране) истичу витамин Ц, витамин Е, глутатион, таурин, итд. (*Halliwell u Gutteridge, 1999; Cadenas u Packer, 1996*).

У физиолошким условима, код здравих организама, постоји равнотежа између оксидативних процеса и антиоксидативних способности. Уколико дође до нарушавања равнотеже, долази до појаве оксидативног стреса.

ПОЛИФЕНОЛИ ГРОЖЂА КАО ПРИРОДНИ АНТИОКСИДАНСИ

Већ дуги низ година се ради на изналажењу „идеалног“ антиоксидативног средства које би пружило адекватну заштиту од оксидативног стреса. Савремени трендови свакако да потенцирају примену природних суплемената не само у циљу очувања здравља људи

и домаћих животиња, већ и у прерађивачкој индустрији нпр. ради продужене одрживости меса током дуготрајног складиштења (*Пешум, 2005*).

Полифеноли присутни у биљкама представљају метаболите који су задужени за заштиту од ултраљубичастиг зрачења или напада биљних патогена (*Beckman, 2000*). У природи постоји више од 8000 једињења која спадају у биљне полифеноле. Они представљају деривате фенилаланина. Налазе се првенствено коњуговани са угљенохидратном резидуом која је везана за хидроксилну групу (*Panday u Riszvi, 2009*), мада није ретка ни њихова конјугација са органским киселинама, липидима или аминима. Полифеноли се могу класификовати на основу броја присутних фенолних прстенова у више група које укључују: фенолне киселине, флавоноиде, стилбене и лигнане.

Полифеноли су добри донори редукционих еквивалената (електрони/атоми водоника) помоћу којих неутралишу слободне радикале и реактивне кисеоничне молекуле (РОС). Процес неутрализације слободних радикала представља суштину одбране од оксидативног стреса.

Грожђе представља богат извор полифенола који су присутни у кожици (трансресвератрол, кверцетин, проантоцијанидини), петелци (рутин, кверцетин, трансресвератрол), семенкама (катехин, епикатехин) (*Brenes u cap., 2016*). Међутим, треба имати у виду да састав и релативна заступљеност

појединих полифенола зависе од сорте, климе и степена зрелости грожђа (*Rodriguez u cap., 2006*).

Бројне *in vitro* студије су доказале антиоксидативне и антиинфламаторне ефекте биљних полифенола, међутим *in vivo* студије су често дале контрадикторне резултате. Овакво неслагање литературних података је првенствено последица чињенице да се слободни полифеноли и њихови једноставни коњугати ресорбују у горњим партијама гастроинтестиналног тракта, при чему је њихова биолошка расположивост ниска у поређењу са витаминима који имају такође антиоксидативни ефекат (*Van Duynhoven u cap., 2011*). Након интестиналне ресорпције мање комплексни полифеноли подлежу даљем метаболизму у самим ентероцитима и хепатоцитима. Метаболичка трансформације биофенола резултира настанком серије хидросолубилних коњугата који се постепено ослобађају у општу циркулацију (*Manach u cap., 2004*). Сматра се да од укупне количине унетих полифенола моногастрични организми ресорбују свега 5–10%. Преостали нересорбовани полифеноли се акумулирају у дебелом цреву где подлежу микробној разградњи. Након дејства микробних ензима деривати полифенола се могу екскретовати, или ресорбовати и путем порталног крвотока даље метаболисати у јетри. Из наведеног је јасно да микрофлора дигестивног тракта има кључну улогу у процесу разградње полифенола у молекуле мање молекулске масе, као што су фенолна

једињења, која су биолошки расположива и одговорна за биолошку активност. Због ниске биолошке расположивости физиолошке концентрације полифенола и њихових метаболита у крвној плазми су изузетно ниске ($<1 \mu\text{mol/L}$) чиме је додатно отежано ефикасно *in vivo* деловање. Екскреција полифенола се обавља првенствено преко бубрега након гликуронизације, сулфовања и метилације (Nicholson *u cap.*, 2012).

Велики проблем у ветеринарској и хуманој медицини представља мишљење да ефекти природних суплемената, па самим тим и ефекти полифенола грожђа, расту са порастом њихове унете количине. Овакав став је изузетно погрешан и штетан. Наиме, полифеноли реагују са јонима прелазних елемената при чему настају про-оксиданси који имају негативне ефекте по здравље људи и животиња (Halliwell, 2012), при чему про-оксиданси настају у реакцијама које се одвијају у самом гастроинтестиналном тракту. Дакле, полифеноле можемо сматрати мачем са две оштрице. Са једне стране када се налазе у одговарајућој концентрацији делују као антиоксиданси и заштитници од оксидативног стреса, док са друге стране, када се путем дијетарних суплемената дају у високим дозама показују непожељну прооксидативну активност (Bouayed *u Bohn*, 2010).

Најновије студије (Zhang *u Tsao*, 2016) су показале да при ниским концентрацијама полифеноли не само да

повећавају активност ензимске антиоксидативне заштите, већ инхибирају проинфламаторне цитокине и директно атенуирају ћелијску сигнализацију током инфламаторних процеса.

ДИЈЕТАРНА ПРИМЕНА ПОЛИФЕНОЛА ГРОЖЂА У ВЕТЕРИНАРСКОЈ ПРАКСИ

Живинарска производња је једна од првих грана у којој је почела примена производа винарске индустрије (екстракта семенки грожђа и комина), односно природних полифенола грожђа. Испитивања ефеката ресвератрола, антоцијанидина, катехина и осталих полифенола присутних у семенкама грожђа и комина су указала да постоји значајан ефекат на смањење оксидације ткивних липида (Goni *u cap.*, 2007; Liu *u cap.*, 2014) као и на смањене показатеља оксидативног стреса током инфекције кокцидијама (Wang *u cap.*, 2008). Наведени аутори нису установили значајан ефекат суплементације полифенолима грожђа на прираст живине током тога. Ефекти природних екстракта грожђа на стабилност ткивних липида се подударају са раније описаним антиоксидативним ефектима дијетарне суплементације бројлера у тову витамином Е и селенизираним квасцем (Пешум, 2005, 2006; Валчић *u сар.*, 2011). Поред наведеног, слично ефектима дијетарне суплементације селеном и витамином Е, полифеноли грожђа су показали значајан ефекат на одрживост живинског мяса током складиштења на ниским температурама (Brenes *u cap.*, 2016). Несумњиво је да су овакви

ефекти полифенола грожђа на заштиту од оксидативног стреса, стабилност ткивних липида, као и продужене одрживости меса током складиштења на ниским температурама, изузетно пожељни. Поред наведеног, ови препарати су и економски исплативи јер користе споредне производе индустрије вина и сокова чиме њихова примена постаје, поред технолошки и медицински оправданом и економски исплативом.

Убрзо након охрабрујућих резултата примене полифенола грожђа у живинарској производњи почела су испитивања на свињама у тову. Серија најновијих студија спроведених на товним свињама дала је прилично охрабрујуће резултате, што указује на потребу да се спроведу детаљнија испитивања у контролисаним условима како би се пратили мултифакторијални ефекти исхране, смештаја, температуре, инфекција итд. *Fiesel u cap.* (2014) и *Zhang u cap.* (2014) установили су повољне ефекте на конверзију хране и на смањење вредности МДА у крвној плазми што указује на нижи ниво оксидације ткивних липида услед смањеног оксидативног стреса. Поред повољних ефеката на оксидативни стрес свиња у тову аутори су уочили да дијетарна суплементација полифенолима грожђа доводи до модификације и побољшања квалитета микрофлоре дигестивног тракта. Аутори су тестирали широк опсег доза од 1г/кг до 30г/кг, при чему нису уочени непожељни ефекти. За разлику од горенаведених новијих радова, ра-

није објављене студије нису установиле ефекте полифенола грожђа на оксидативну стабилност липида свиња у интензивном или екстензивном тову (*Gonzales u Tejada, 2007; O'Grady u cap, 2008*). Описане разлике можемо приписати вероватно слабо контролисаним експерименталним условима и уплитањем низа спољних фактора који су додатно допринели појави оксидативног стреса.

Интересовање о повољним ефектима полифенола грожђа се проширило са економски значајних категорија као што су товне свиње и бројлери и на кућне љубимце и спортске коње. Током дуготрајног физичког напора и захтевних такмичења као што су ендјуранс трке и *three day event*, коњи се ослањају првенствено на аеробни катаболизам масних киселина, што као последицу има повећан ризик од дејства кисеоничних радикала и последичног оксидативног стреса (*Joviћ u cap. 2013*). Превентивна дијетарна суплементација оброка спортских коња полифенолима грожђа (посебно ресвератрола) је данас изузетно заступљена услед доказаних антиинфламаторних и протективних ефеката. *Etete u cap. (2015)* су испитивали ефекат ресвератрола код старих коња који су патили од хромости услед инфламаторних процеса на локомоторном систему. Резултати су показали да ресвератрол има заштитни ефекат који постиже повећањем антиоксидативног капацитета коња.

Штетним ефектима оксидативног стреса такође су изложени спорт-

ски и радни пси. *Куковска и сар.* (2015) су установили да интезиван тренинг службених војних паса доводи до пораста кисеоничних метаболита (РОМ) и производа оксидације (МДА). Међутим, двомесечна суплементација екстрактом семенки грожђа није довела до значајних промена показатеља оксидативног стреса (РОМ, МДА, ФРАП). Наведеној студији су претходили и радови *Dunlap и сар.* (2006) који су испитивали ефекте биљних полифенола на параметре оксидативног стреса радних поларних паса. Наиме, аутори су одредили значајан ефекат екстракта боровнице (богата полифенолним једињењима) на смањење оксидативног стреса након интензивног физичког рада.

ЗАКЉУЧАК

Проблематика заштите домаћих животиња од негативних ефеката оксидативног стреса, посебно у условима интензивне производње или значајног физичког оптерећења, свакако је актуелна. Међутим, иако су бројна *in vitro* истраживања утврдила позитивне заштитне ефекте полифенолних молекула грожђа и других биљака, разлике које постоје између објављених *in vivo* резултата указују на потребу да се спроведу даље детаљне студије које би биле методолошки стандардизоване. Садашња сазнања су још увек недовољна у смислу давања препорука дневних доза и хемијског облика биљних препарата са високим садржајем полифенола у превенцији и терапији оштећења организма живо-

тиња услед оксидативног стреса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Arts I., Hollman P. C. H. (2005): Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *Am. J. Clin. Nutr.* 81:317–325.
2. Backman C. (2000): Phenolic storing cells: keys to programmed cell death and periderm formation in wilt disease resistance and in general defence responses in plants? *Physiol Mol Plant Pathol* 57: 101–110.
3. Benov L., Beema A.F. (2003): Superoxide-dependence of the short chain sugars-induced mutagenesis. *Free Radic. Biol. Med.* 34: 429–433.
4. Bouayed J., Bohn T. (2010): Exogenous antioxidants - double-edged swords in cellular redox state: health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses. *Oxid Med Cell Longev* 3:228–237.
5. Brenes A., Viveros A., Chamorro S., Arija I. (2016): Use of polyphenol-rich grape by-products in monogastric nutrition. A review. *Animal Feed Science and Technology* 211: 1–17.
6. Cadenas E, Packer L. (1996): *Handbook of antioxidants*. Marcel Dekker, New York.
7. Dunlap K., Reynolds A., Duffy L. (2006): Total antioxidant power in sled dogs supplemented with blueberries and the comparison of blood parameters associated with exercise. *CBP, Part A*, 143: 429–434.

8. Ememe M., Abdullahi U., Sackey A., Ayo J, Mshelia W., Edeh R. (2016): Effects of a joint supplement whose main components are resveratrol and hyaluronic acid on some biochemical parameters in aged lame horses. *Equine Sci.* 27 (1): 19–22.
9. Fiesel A., Gassner DK., Erika Most., Eder K., (2014): Effects of dietary polyphenol- rich plant products from grape or hop on pro-inflammatory gene expression in the intestine, nutrient digestibility and fecal microbiota of weaned pigs. *BMC Vet. Res.* 10: 196–206.
10. Fiesel A., Gessner DK., Erika Most E., Eder K. (2014): Effects of dietary polyphenol-rich plant products from grape of hop an pro-inflammatory gene expression in the intestine, nutrient digestibility and faecal microbiota of weaned pigs. *BMC Vet. Res.* 10: 196–206.
11. Goñi I., Brenes A., Centeno C., Viveros A., Saura-Calixto R., Rebolé A., Arijia I., Esteve R. (2007): Effect of dietary grape pomace and vitain E on growth performance, nutrient digestibility, and susceptibility to meat lipid oxidation. *Poult. Sci* 43:5111–5123.
12. Gonzalez E., Tejeda JF. (2007): Effects of dietary incorporation of different antioxidant extracts and free-range rearing on fatty acid composition and lipid oxidation of Iberian pig meat. *Animal* 1: 1060–1067.
13. Halliwell B. (2012): Free radicals and antioxidants: updating a personal view. *Nutr Rev* 70:257–237.
14. Halliwell, B. (2008): Are polyphenols antioxidants or pro-oxidants? What do we learn from cell culture and in vivo studies? *Arch Biochem Biophys* 476: 107.
15. Halliwell, B., Chirico, S. (1993): Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am. Clin. Nutr.* 57,715–724.
16. Halliwell B, Gutteridge JMC. (1999): Free radicals in biology and medicine. 3 nd ed. Clarendon Press, Oxford.
17. Hua Zhang and Rong Tsao (2016): Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. *Curr Opin. In Food Sci* 8:33–42.
18. Jović S., Stevanović J., Borozan S., Dimitrijević B., Milosavljević P. (2013): Influence of physical activity of racehorses on lactate dehydrogenase and creatine kinase activities, and protein synthesis. *Acta Vet* 63:549–568.
19. Kukovska V., Celeska I., Ruškovska T., Valčić O., (2015): Effects of rose-hip and grapeseed dietary supplementation on serum oxidative stress parameters in dogs before and after physical exercise, *Acta Vet* 65: 404–416.
20. Li I., Lin P.H., Yao Q., Chen C. (2010): Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental

- approaches and model systems. *Cell Mod. Med.* 14: 840–860
21. Lin LL., He JH., Xie HB., Yang YS., Li JC., Zou Y. (2014): Resferatrol induces antioxidant and heat shock protein mRNA expression on response to heat stress in black-boned chicken. *Poult.Sci.* 93:54–62.
 22. Lobo V., Phatak A., Chandra N. (2010): Free radicals and functional foods: impact on human health. *Pharmacogn. Rev.* 4: 118–126.
 23. Manach C., Scalbert A., Morand C., Rémésy C., Jimenez L. (2004): Polyphenol: food sources and bioavailability. *Am. J. Clin.Nutr.* 79:727–744.
 24. Nicholson JK., Holmes E., Kinross J., Burcelin R., Gibson G., Jia W., Pettersson S. (2012): Host-gut microbiota metabolic interactions. *Science* 336:1262–1267.
 25. Panday K. B., Riszvi S. I. (2009): Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxid. Med. Cell Longev.* 2(5):270–278.
 26. Pešut O., Nollet L. and Tucker L. (2006): Effect of Se (Sel-Plex) in combination with α tocopherol on fresh and frozen poultry meat. *Experimentelle Modelle der Spurenelementforschung. Schriftenreihe der Gesellschaft für Mineralstoffe und Spurenelemente e.V. Book of Proceedings of 21.Jarestandung der GMS am 28 und 29. Oktober. Wien, Austria, 244–248.*
 27. Pešut O., Nollet L. and Tucker L. (2005): Effect of Se (Sel-Plex) in combination with α tocopherol on fresh and frozen poultry meat. *Proceedings of the 15 european Symposium on Poultry Nutrition, 25 - 29 September, Baltonfüred, Hungary, 499–502.*
 28. O’Grady MN, Carpšenter R, Lynch PB, O’Brien NM, Kerry JP. (2008): Addition of grape seed extract and bearberry to porcine diets: influence on quality attributes of raw and cooked pork. *Meat Sci.* 78:485–495.
 29. Pešut Olivera, (2005) „*Uticaј selena i vitamina E dodatog u hranu na sastav i oksidativnu stabilnost lipida u svežem i zamrznutom mesu brojlera*“, Doktorska disertacija, Fakultet vetinarske medicine u Beogradu.
 30. Rodriguez-Montealegre R., Romero R., Chacón JL., Marinez J., Garcia E. (2006): Phenolic compounds in skins and seeds of ten grape *Vitis vinifera* varieties grown in warm climate. *J. Food compos. Anal.* 19:687–693.
 31. Valčić Olivera, I.B. Jovanović and Svetlana Milanović, (2011). Selenium, thiobarbituric acid reactive substances, and thyroid hormone activation in broilers supplemented with selenium as selenized yeast or sodium selenite, *Jpn J Vet Res* 59 (2&3):69–77.
 32. Valko, M., Izakovic, M. Mazur. M. Rhodes, C., Telser, (2004): Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol. Cell.*

- Biochem. 266, 37-56. Villanueva. C., Kross. R.D. 2012. Antioxidant-induced stress. *Int. Mol. Sci.* 13: 2091–2109.
33. Van Diynhoven J., Vaughan EE., Jacobs DM., Kemperman RA., Van Velzen EJ., Gross G., Roger LC., Possemiers S., Smide AK., Doré J (2011): Metabolic fate of polyphenols in the human superorganism. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, 108(Suppl.1):4531–4538.
34. Wang ML., Suo X., Gu JH, Zhang WW., Fant Q., Wang X. (2008): Influence of grape seed proanthocyanidin extract in broiler chickens: effect on chicken cocciosis and antioxidant status. *Poult. Sci.* 87:2273–2280.
35. Zhang HJ., Jiang XR., Mantovani G., Valdez AE., Comi M., Alborali G., Savoini G, Dell’Orto B., Bontepo V. (2014): Modulation of plasma antioxidant activity in weaned pigs by plant polyphenols. *Ital. J. Anim. Sci.* 13:424–430.

Рад примљен: 21.7.2017.

Рад прихваћен: 12.10.2017.