



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DEL MOLISE

Dipartimento di Scienze Animali, Vegetali e dell'Ambiente

DOTTORATO DI RICERCA

**BENESSERE ANIMALE E QUALITÀ DELLE PRODUZIONI ZOOTECNICHE
(XXII CICLO)**

TESI DI DOTTORATO

**IMPIEGO DEL VERBASCOSIDE SULLO STATO OSSIDATIVO
PLASMATICO E SU ALCUNI PARAMETRI EMATICI E PRODUTTIVI IN
PECORE ED AGNELLI DI RAZZA LACAUNE**

Dottorando:

Dott.ssa

Tiziana Presutti

Docente Guida:

Chiar.mo Prof.

Donato Vito Casamassima

Coordinatore: Chiar. mo Prof. Donato Vito Casamassima

Anno accademico 2008/2009

INDICE

PREMESSA.....	2
RICERCA N° 1.....	19
OBIETTIVO DEL LAVORO.....	19
MATERIALI E METODI.....	19
ANALISI STATISTICA.....	22
RISULTATI E DISCUSSIONE.....	22
1. Performance produttive.....	22
2. Parametri ematici	24
3. ROMs, Tbars, Vitamina A, Vitamina E.....	28
CONCLUSIONI.....	31
RICERCA N°2.....	32
MATERIALI E METODI.....	32
RISULTATI E DISCUSSIONE.....	33
1. Performance produttive.....	33
2. Parametri ematici.....	35
3. ROMs, Tbars, vitamina A, vitamina E.....	38
CONCLUSIONI.....	42
TABELLE	
BIBLIOGRAFIA.....	55

PREMESSA

Lo stress ossidativo è una particolare condizione indotta da un'accentuazione in senso pro-ossidante dell'equilibrio dinamico fra i processi ossidativi e riduttivi che avvengono in ogni cellula con la produzione di numerose specie radicaliche (Sies, 1991).

I radicali liberi sono molecole, altamente instabili e reattive, caratterizzate dalla presenza di un elettrone spaiato nel loro orbitale esterno. I radicali liberi più conosciuti sono quelli a contenuto d'ossigeno (ROS) come l'anione superossido (O_2^-) ed il perossido d'idrogeno (H_2O_2) e sono dovuti a fattori ambientali (raggi UV, inquinamento, droghe etc...) e a fattori endogeni (trasporto di elettroni nei mitocondri, attività delle cellule fagocitarie).

Tra le specie reattive dell'ossigeno radicaliche possiamo includere l'anione superossido e il radicale ossidrile mentre tra le specie non radicaliche si annovera il perossido di idrogeno e l'ossigeno singoletto, dotate comunque di analoga reattività e simile tossicità.

• *Anione superossido* $O_2^{\cdot-}$

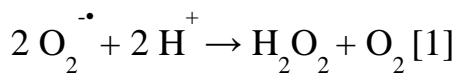
L'anione superossido è il prodotto della riduzione monoelettronica dell'ossigeno biatomico molecolare, reazione frequente in natura. Con un elettrone spaiato, l'anione superossido è un radicale libero e come l'ossigeno molecolare ha caratteristiche paramagnetiche.

Esso si può formare attraverso i seguenti meccanismi:

- 1) per interazione dell'ossigeno molecolare con elettroni che occasionalmente sfuggono alla catena respiratoria, soprattutto nel passaggio ossido-riduttivo tra CoQ e citocromi, a livello degli enzimi NADH-ubichinone reduttasi e ubichinone-citocromo C reduttasi;
- 2) nel corso di ossidazioni metallo-dipendenti di neurotrasmettitori quali adrenalina e noradrenalina e di alcuni composti tiolici;

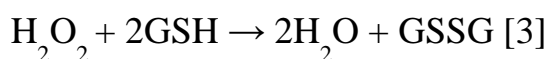
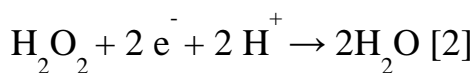
3) per produzione diretta nel corso di alcune reazioni enzimatiche specifiche catalizzate ad esempio dalle xantine ossidasi, triptofano deossigenasi e indolamine deossigenasi.

L'anione superossido, pur essendo citotossico, può causare un danno limitato in quanto non è in grado di attraversare la membrana mitocondriale, perché bloccato dalla carica negativa; può essere inoltre inattivato dall'enzima protettivo superossido dismutasi (SOD), che lo converte a perossido di idrogeno, e da composti come la vitamina A, in grado di sequestrarlo (Halliwell et Gutteridge, 1990).



• *Perossido di idrogeno H_2O_2*

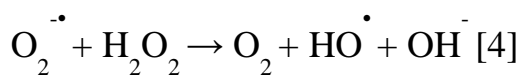
Dalla reazione di dismutazione [1] si forma perossido di idrogeno che non è normalmente tossico, in quanto viene rapidamente neutralizzato dagli enzimi catalasi [2] e glutatione perossidasi [3].



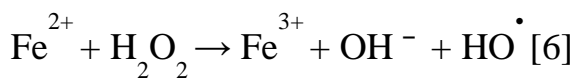
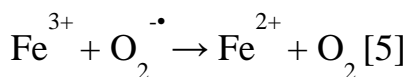
Il perossido di idrogeno si può formare, oltre che dalla reazione [1], anche direttamente a livello di perossisomi e mitocondri. E' presente all'interno della cellula in concentrazioni variabili tra 10^{-9} e 10^{-7} M, ed il rischio ad esso associato è dovuto alla sua capacità di attraversare velocemente le membrane cellulari, diffondendosi in altri distretti dove può attivare processi perossidativi.

• **Radicale ossidrilico HO^\bullet**

Una molecola di anione superossido $\text{O}_2^{\bullet -}$ ed una molecola di perossido di idrogeno possono combinarsi per formare una molecola di ossigeno, un radicale ossidrilico OH^\bullet ed uno ione ossidrilico secondo la reazione di Haber-Weiss [4], catalizzata da ioni Fe^{2+} o Cu^+ (Kehrer, 2000) (Cuzzocrea et al., 2001).



Per la produzione del radicale ossidrilico è fondamentale la presenza di ferro allo stato di Fe^{2+} , mentre il metallo è normalmente legato a proteine di trasporto e di deposito (transferrina, ferritina), o a proteine funzionali (emoglobina, mioglobina) sotto forma di ione ferrico. Per rendere libero il ferro è sufficiente la presenza di elevate quantità di anione superossido [6] o un abbassamento del pH dovuto, ad esempio, alla produzione di acido lattico (ischemia o anossia) e lo ione ferroso che si ottiene può nuovamente ossidarsi reagendo con H_2O_2 e formando HO^\bullet nella reazione di Fenton:



Il risultato netto di queste due reazioni è proprio quella di Haber-Weiss che avviene nel nostro organismo.

Il radicale ossidrilico generato nelle reazioni [4] è, fra i radicali dell'ossigeno, la molecola più tossica perché altamente reattiva e priva di ogni meccanismo di inattivazione endogena. Costituisce l'agente responsabile della fase iniziale dei processi perossidativi che avvengono a livello dei tessuti dell'organismo. Il radicale ossidrilico è in grado infatti di danneggiare tutte le macromolecole

cellulari: proteine, acidi nucleici, glicosaminoglicani e soprattutto gli acidi grassi poliinsaturi dei fosfolipidi di membrana.

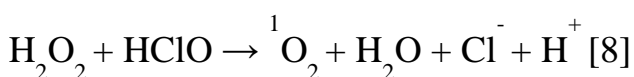
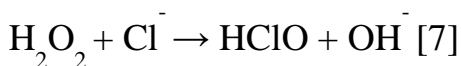
• *Ossigeno singoletto* 1O_2

Questa forma chimica dell'ossigeno non è un vero e proprio radicale libero ma una forma elettronicamente eccitata di O_2 capace di attaccare rapidamente molte molecole inclusi gli acidi grassi poliinsaturi: differisce dallo stato fondamentale (tripletto) dell'ossigeno molecolare per l'inversione di direzione dello spin di un elettrone nell'orbitale di valenza più esterno. Da studi in vitro è emerso che l'ossigeno singoletto può ossidare diverse molecole organiche quali lipidi di membrana, proteine, acidi nucleici, carboidrati e tioli.

Sono stati individuati quattro principali meccanismi di reazione:

- 1) reazioni di addizione con il doppio legame carbonio-carbonio nelle olefine insature per formare idroperossido;
- 2) reazioni di addizione con sistemi di dieni coniugati (reazione di Diels-Alder) per formare endoperossidi ciclici;
- 3) reazioni con composti fenolici per formare idroperossidienoni;
- 4) reazioni di trasferimento di energia che trasformano 1O_2 in 3O_2 con composti quali carotenoidi, bilirubina, tocoferolo, fenoli, complessi del nichel e ioni.

L'ossigeno singoletto si può formare in seguito ad esposizione a luce ultravioletta (320-380 nm) o durante l'attivazione dei macrofagi nella risposta immunitaria. La mieloperossidasi, una eme-proteina, utilizza il perossido di idrogeno per convertire il cloro in acido ipocloroso [7]; quest'ultimo reagisce ancora con H_2O_2 per formare ossigeno singoletto [8].



L'ossigeno singoletto sembra si formi anche durante la perossidazione lipidica, dando sviluppo di chemiluminescenza.

Tutte le specie radicaliche che si formano nei processi ossido-riduttivi possono danneggiare le strutture biologiche, ed in particolare:

- Gli acidi nucleici (DNA e RNA), con conseguente danneggiamento del materiale genetico.
- Le lipoproteine a bassa densità (LDL), inducendo lo sviluppo e la progressione delle lesioni aterosclerotiche.
- I lipidi delle membrane cellulari, con alterazioni funzionali delle cellule e di conseguenza, dei tessuti di appartenenza.

• *Acidi nucleici*

Nell'ambito dei danni cellulari causati dalle specie reattive dell'ossigeno, quello al DNA è potenzialmente il più pericoloso poiché tali alterazioni sono spesso associate a mutazioni genetiche ed allo sviluppo di cancro. E' emerso inoltre un legame sempre più evidente tra alterazioni al DNA ROS-mediate ed il processo di invecchiamento, la patogenesi del diabete mellito e di alcune malattie a carico del fegato e ad eziologia infiammatoria.

Esempi di danni agli acidi nucleici sono, tra gli altri, la formazione di legami intermolecolari DNA-DNA o DNA-proteine e modificazioni ossidative a carico delle basi azotate.

Le più sensibili sono le basi pirimidiniche citosina e timina le quali possono andare incontro a saturazione o apertura dell'anello con idrossilazione di quest'ultimo. Ciò implica la perdita dell'aromaticità e della planarità, determinando distorsioni nella geometria del DNA. Inoltre l'ossidazione della timina può portare alla formazione dei cosiddetti "dimeri di timina".

Una delle più frequenti alterazioni ossidative delle basi puriniche riguarda invece l'ossidazione in posizione 8 della guanosina e il distacco delle basi azotate dagli zuccheri.

Si è notato che l'escrezione urinaria di 8-idrossi-deossiguanosina (8-OhdG) aumenta dopo l'esercizio ed è considerata una misura dell'ossidazione del DNA in risposta ai radicali liberi (Urso et al., 2003).

Se le basi danneggiate vengono rimosse e riparate prima della divisione cellulare, non ci sarà alcun danno permanente. Se invece il sistema di riparazione è soggetto ad errori, la generazione successiva riceverà una molecola di DNA difettosa in cui una base azotata è eliminata o sostituita da una base impropria.

• *Proteine*

Anche le proteine sono un bersaglio per i radicali liberi, i cui danni possono essere distinti in reversibili ed irreversibili; tra i primi vi è l'ossidazione dei gruppi tiolici della metionina a solfossido mentre tra gli irreversibili, la rottura dell'anello dell'istidina e del triptofano e l'idrolisi del legame peptidico in presenza di prolina. Quest'ultimo evento danneggia particolarmente il collagene, ricco di prolina ed idrossiprolina.

I gruppi SH dei residui di cisteina delle proteine sono fra i più esposti alle collisioni radicaliche: i radicali tioli (RS•) che si formano possono dimerizzare o ossidarsi a RSO_2 , provocando danni alla struttura e alla funzionalità delle proteine stesse.

In particolare possono venire attaccate proteine con funzione enzimatica, come la fosfofruttochinasi ed appartenenti alla catena respiratoria mitocondriale, di importanza fondamentale per la produzione di energia per la cellula.

L'ossidazione delle proteine sembra essere inoltre responsabile, almeno in parte, di patologie quali l'aterosclerosi, il danno da ischemia-riperfusion e l'invecchiamento.

• **Carboidrati**

I radicali liberi reagiscono rapidamente con i carboidrati estraendo facilmente atomi di idrogeno: desossiribosio, ribosio, proteoglicani ed eteropolisaccaridi (acido ialuronico) possono venire degradati mediante attacco ossidativo. Ciò nuoce soprattutto ai proteoglicani, molecole di elevato peso molecolare che fanno parte del parenchima tissutale, i quali vanno incontro a frammentazione e depolimerizzazione con danno strutturale e funzionale irreversibile.

• **Lipidi**

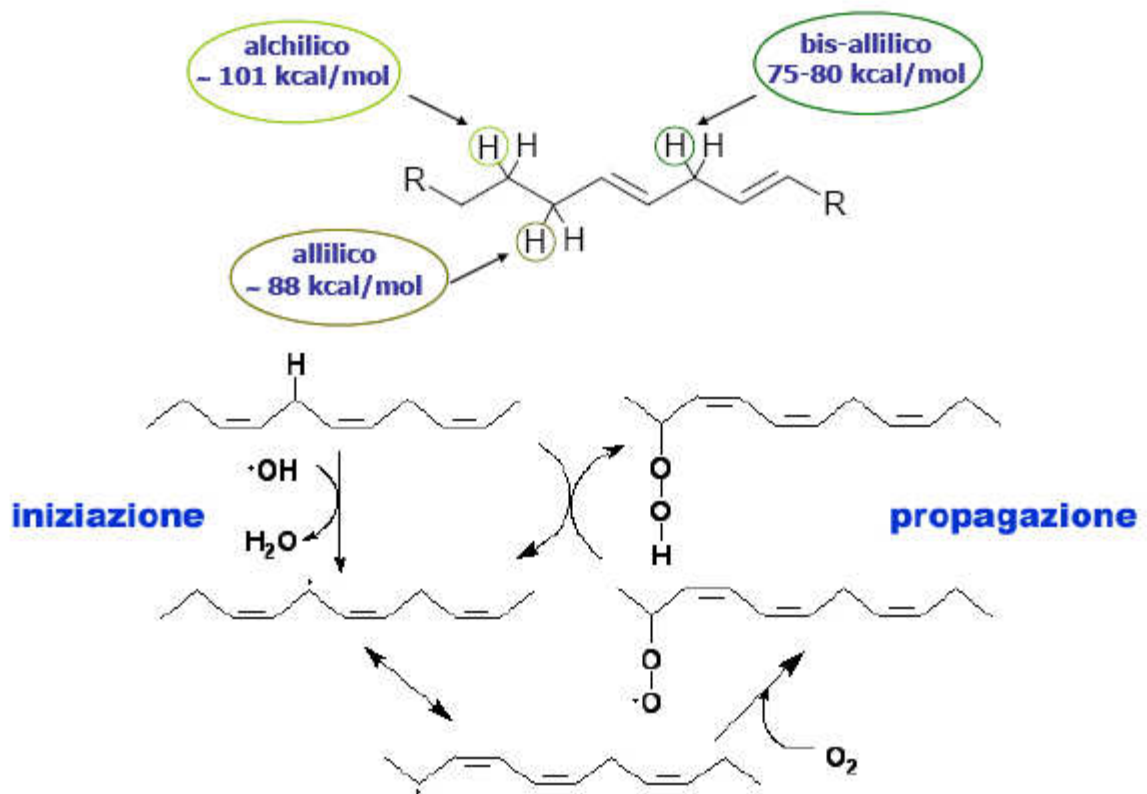
I lipidi sono importanti per la loro presenza nelle membrane che circondano ogni cellula.

L'azione ossidativa a carico dei lipidi procede con un meccanismo radicalico a catena definito *lipoperossidazione*. I principali bersagli di questo fenomeno sono gli acidi grassi poliinsaturi, che sono presenti in elevate concentrazioni nei fosfolipidi delle membrane cellulari.

La perossidazione lipidica si sviluppa attraverso tre fasi consequenziali:

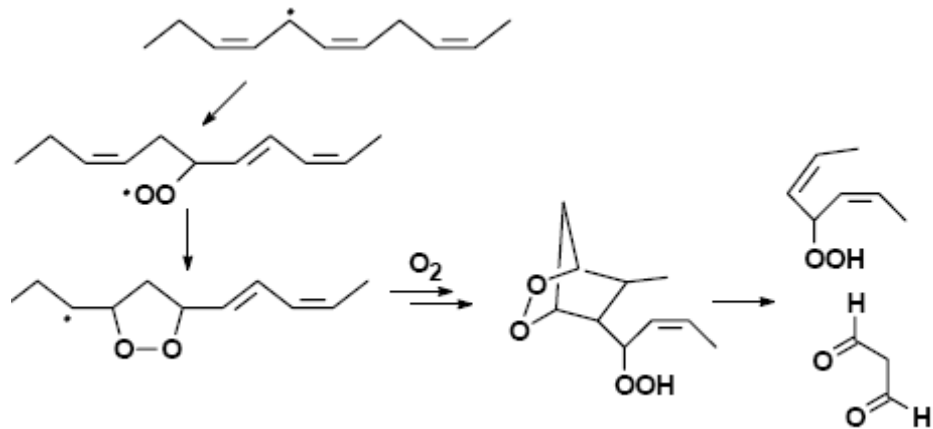
- iniziazione
- propagazione
- terminazione

Il primo evento nell'inizio della perossidazione lipidica è l'estrazione di un idrogeno da un gruppo metilenico bis-allilico di un acido grasso poliinsaturo da parte di un radicale ossidrile. Questo idrogeno presenta un'energia di legame tale (circa 75-80 kcal/mol) da favorire la reazione rispetto all'idrogeno metilenico alchilico o allilico di un acido grasso (Neil Hogg et Kalyanaraman, 1999):



Il radicale lipidico ($\text{L}\cdot$) riarrangia immediatamente a diene coniugato che reagisce con l'ossigeno molecolare formando perossilradicali in posizione +2 e -2 rispetto al carbonio da cui è stato estratto inizialmente l'idrogeno.

Questo prodotto ($\text{LOO}\cdot$) è altamente reattivo e può ciclizzare e formare un lipoperossido ciclico, da substrati quali l'acido arachidonico ed eicosapentaenoico. Il prodotto ciclico così ottenuto può successivamente frammentarsi e dar luogo a catene alifatiche, contenenti due gruppi carbonilici, formando composti come la malondialdeide (MDA), una dialdeide altamente reattiva, e il 4-idrossinonenale (HNE).



Queste possono reagire con gruppi amminici liberi di proteine, fosfolipidi o acidi nucleici formando legami covalenti stabili, tipo basi di Schiff, che inducono alterazioni strutturali di tali molecole biologiche. I legami crociati proteina-MDA-fosfolipide, proteina-MDA-proteina o fosfolipide-MDA-fosfolipide causano infatti diminuzione del grado di libertà e della possibilità di movimento delle molecole stesse, con perdita di fluidità della membrana come effetto ultimo.

Una volta terminato tutto l'ossigeno a disposizione o quando intervengono sostanze antiossidanti che possono donare un atomo di idrogeno o un elettrone, ha luogo la fase di *terminazione*, dove i radicali formati reagiscono per dare prodotti finali non radicalici inattivi.

ANTIOSSIDANTI

Gli antiossidanti sono composti in grado di proteggere sostanze chimiche e materiale biologico dai danni provocati dall'ossidazione indotta da radicali. Il complesso sistema antiossidante che l'organismo umano ha sviluppato per proteggere le cellule dalle specie reattive dell'ossigeno coinvolge componenti endogeni ed esogeni che funzionano sinergicamente per neutralizzare i radicali liberi. Tra i componenti endogeni possiamo includere alcuni enzimi in grado di catalizzare reazioni di inattivazione di radicali liberi, alcune proteine in grado di chelare ioni essenziali per la reazione di ossidazione (Fe^{2+} e Cu^+), mentre tra gli esogeni possiamo includere gli antiossidanti assunti con la dieta quali l'acido ascorbico, la vitamina E, i carotenoidi, i polifenoli e altri composti a basso peso molecolare.

Gli antiossidanti possono essere classificati in funzione del loro meccanismo d'azione. Essi infatti possono bloccare la fase di iniziazione, inibendo enzimi pro-ossidanti che producono radicali o chelando ioni di metalli di transizione che catalizzano la formazione di radicali, oppure possono agire nella fase di propagazione della reazione a catena neutralizzando i radicali che si formano in questo stadio.

Gli antiossidanti che prevengono la formazione dei radicali, e che quindi riducono i danni in modo indiretto, vengono classificati come *antiossidanti preventivi* mentre quelli che agiscono direttamente come *scavenger* di radicali nella fase di propagazione vengono invece classificati come *chain-breaking* e sono caratterizzati dalla capacità di trasferire un atomo di H o un singolo elettrone. Alcuni antiossidanti sono inoltre in grado di aumentare i livelli delle difese antiossidanti endogene in vivo aumentando, per esempio, la trascrizione dei geni che codificano la produzione di enzimi antiossidanti (come la SOD, la catalasi o la glutatione-perossidasi). Questa classificazione non è però netta ed assoluta in quanto spesso diversi meccanismi d'azione possono coesistere in una singola molecola (Hong-Yu Zhang et al., 2006).

Il sistema antiossidante che l'organismo umano ha sviluppato è perfezionato dalla possibilità che diversi composti antiossidanti interagiscano fra loro producendo un effetto sinergico. Ne è un esempio il sistema vitamina E / vitamina C: l'acido ascorbico mostra infatti la capacità di rigenerare l' α -tocoferolo dal suo radicale (tocoferile) potenziando così l'attività antiossidante del tocoferolo (Ji Li Li, 1999).

La **vitamina E** è costituita da un complesso di tocoferoli e tocotrienoli (α -, β -, γ - e δ -tocoferolo e α -, β -, γ - e δ -tocotrienolo) aventi nella struttura il sistema 6-idrossicromano isoprenoide-sostituito (tocoli). In natura la forma più abbondante e di maggiore attività è chiamata α -tocoferolo. Gli isomeri β , γ e δ hanno attività ridotta e si distinguono per la posizione e per il numero dei metili sostituenti attaccati all'anello del cromano.

La **vitamina A** è una vitamina liposolubile presente in natura in diverse forme. Con il termine di vitamina A vengono indicati sia il **retinolo** che i suoi analoghi, detti retinoidi, di cui se ne conoscono almeno 1500 tipi diversi, tra naturali e sintetici. Anche i carotenoidi posseggono l'attività biologica della vitamina A in quanto possono fungere da provitamine (se ne conoscono almeno 600 tipi diversi di cui solo il 10% possiede una simile attività). Gli alimenti di origine animale contengono soprattutto retinolo e suoi esteri (retinolo palmitato), mentre nei vegetali si trovano soprattutto carotenoidi. Essa gioca un ruolo cruciale sulla riproduzione, sul sistema immunitario e sul processo di differenziazione cellulare (Olson, 1984; Blomhoff, 1994; Basu and Dickerson, 1996; Napoli, 1999). La vitamina C, idrosolubile, è particolarmente efficace nei confronti del radicale superossido, idrossilico e l'ossigeno singoletto (Padayatty et al., 2003). Cambiamenti nella concentrazione plasmatica di tali componenti sono quindi utilizzati per la valutazione dello **status antiossidante** di un organismo; per la valutazione globale della componente **pro-ossidante** dello stress ossidativo, invece, il d-ROMs test è il test usato per la quantificazione degli idroperossidi, metaboliti reattivi

dell'ossigeno (*Reactive Oxygen Metabolites*, ROMs) prodotti nelle cellule dall'attacco ossidativo dei ROS. I biomarcatori frequentemente utilizzati per la valutazione della perossidazione lipidica sono la malondialdeide (MDA) e i TBARS. L'MDA è un sottoprodotto altamente tossico generato dalla perossidazione lipidica e la sua tossicità è dovuta alla rapida reazione con le proteine ed il DNA (Slatter *et al.*, 2000). La sua determinazione avviene mediante reazione con acido tiobarbiturico, seguita da lettura spettrofotometrica (Esterbauer and Zollner, 1989) e i risultati sono così espressi in "Sostanze reagenti con l'acido tiobarbiturico" ("*TBA reacting substances*") (TBARS). Molte sostanze presenti in natura nei vegetali hanno la capacità di neutralizzare l'azione dei radicali liberi. Alcune di esse interrompono le reazioni a catena che portano alla formazione di ulteriori radicali, impedendo così la propagazione del danno cellulare; altre svolgono una funzione di *scavenger* dei radicali liberi, ossidandosi a loro volta e richiedendo di essere rigenerate per riacquistare la loro funzione (Halliwell, 1997; Nijveldt *et al.*, 2001). Flavonoidi, proantocianidine, flavonoli e catechine contenuti in estratti di alcune piante caratteristiche delle *Mauritius* hanno mostrato avere effetti modulatori sulle attività del promotore di diversi enzimi antiossidanti in cellule dei tubuli renali di scimmia COS7 (Toyokuni *et al.*, 2003). Ben nota è l'azione protettiva delle Brassicacee contro il danno ossidativo, disordini cronici, quali il cancro, malattie cardiovascolari e diabete (Anna Podsedek, 2007). Alcuni Autori (Manfredini *et al.*, 2003), valutando la capacità antiossidante in fotochemiluminescenza di prodotti derivanti dal frutto Baobab (*Adansonia digitata*), hanno rilevato elevate proprietà antiossidanti in particolare nella polpa e nelle fibre. Salvatori e coll. (1995) hanno valutato in agnelli in allattamento, di razza Ile de France, l'effetto di DL- α -tocoferil acetato somministrato a diverse dosi per via intramuscolare sia sui lipidi sierici che sulla lipoperossidazione muscolare, evidenziando nei campioni di muscolo dei soggetti trattati una significativa riduzione dei

processi di lipoperossidazione. L'impiego della vitamina E nell'alimentazione degli animali è stato studiato soprattutto nella specie suina in relazione all'effetto inibitore sulla lipoperossidazione del tessuto muscolare (Morrisey et al., 1994) e all'azione sul quadro lipidico sierico (Chung et al., 1992). Pastorelli et al. (1995), in uno studio su suini pesanti alimentati con mangime contenente dosi diverse di vitamina E, hanno dimostrato come l'impiego della vitamina E, a livelli più elevati, è in grado di migliorare sensibilmente la stabilità ossidativa della carne e ridurre le perdite essudative concorrendo pertanto alla cosiddetta "health image".

Diverse ricerche, realizzate su animali da laboratorio, hanno dimostrato che numerosi composti naturali (come polifenoli, carotenoidi, antocianidine, vitamina C, ecc.) posseggono una considerevole ed interessante attività antiossidante (Katiyar, 2002; Riondel et al., 2002) e sono in grado di integrare le difese antiossidanti endogene che, in particolari periodi di stress dell'organismo, possono ridursi, come ad esempio al parto, allo svezzamento, negli sforzi intensi e prolungati nel tempo, con la presenza di inquinamento ambientale ecc. Il periodo del periparto è una delle fasi più delicate e critiche della carriera dei ruminanti da latte; infatti, durante il passaggio dalla fase di fine gravidanza a quella di inizio lattazione, l'animale è soggetto a repentine e intense variazioni dell'equilibrio metabolico ed endocrino e dello stato immunitario oltre che delle condizioni ambientali e alimentari (Reynolds et al., 2003). Nei piccoli ruminanti, generalmente, i disordini di origine metabolica aumentano con l'avvicinarsi del parto a causa di un incremento della richiesta di nutrienti da parte del feto non supportata da una assunzione di sostanza secca adeguata. Il periodo del periparto è estremamente critico perchè l'animale è particolarmente suscettibile alle patologie (Goff, 2003; Savoini et al., 2003) a causa dei radicali cambiamenti fisiologici e degli stress metabolici (Grummer, 1993; Goff et al., 1997; Drackley, 1999) che accompagnano tale periodo. Alcuni Autori (Bernabucci et al., 2005) hanno evidenziato che, nelle bovine da latte, il periodo del periparto

(in particolare il postparto) è caratterizzato da una diminuzione degli antiossidanti endogeni a causa, probabilmente, dei cambiamenti metabolici ed endocrini a livello fetale e della ghiandola mammaria. Infatti, in bovine da latte, è stato rilevato, durante il periodo di transizione, una variazione dei *markers* dello *stress* ossidativo quali la glutatione perossidasi, il glutatione, la superossidismutasi e la ceruloplasmina (Stefanon et al., 2005). Tra le possibili azioni per migliorare lo stato di benessere degli animali, nella fase critica del periparto, migliorandone al contempo la capacità produttiva e riproduttiva, si annovera la somministrazione di sostanze attive sul sistema immunitario.

Tra le numerose sostanze fitoderivate che hanno dimostrato proprietà antiossidanti, si annovera il verbascoside, un fenilpropanoide glucoside (PPG) presente in molte piante medicinali e chiamato *pseudo-ginseng* dalle popolazioni della Cina Nordorientale. Studi in vitro hanno dimostrato che tale molecola svolge un'azione anti-infiammatoria (Deepak & Handa, 2000), antitumorale (Kunvari et al., 1999) ed un'attività antiossidante (Daels-Rakotoarison et al., 2000) attraverso un effetto *scavenger* sulle specie reattive dell'ossigeno (ROS) (Wang et al., 1996; Gao et al., 1999). In molti studi, inoltre, è stato dimostrato l'attività antiossidante del verbascoside su sistemi cellulari e su vari organi ed apparati dell'organismo umano (Li et al., 1999; Chen et al., 2002). La sua proprietà antiossidante è stata evidenziata ricorrendo al dosaggio su plasma della perossidazione lipidica e della fluidità della membrana degli eritrociti, in conigli sottoposti ad immobilizzazione (Liu et al., 2003). Corino e Coll. (2007) hanno rilevato un miglioramento delle *performances* di crescita e una maggiore stabilità ossidativa in suini trattati con due diversi dosaggi di verbascoside ricavato da *Syringa vulgaris*.

La maggior parte degli studi sugli effetti di molecole nutraceutiche sono riferite all'uomo o ad un modello di animale monogastrico, mentre molto limitate sono le esperienze sui ruminanti, nei quali la degradazione microbica a livello ruminale potrebbe determinare una sostanziale modifica delle

proprietà antiossidanti; resta comunque di notevole interesse valutare l'effetto dell'aggiunta e dell'azione di antiossidanti, quale il verbascoside, sulle performances produttive, su alcuni parametri ematici e markers dello status ossidativo, specie in fasi particolarmente delicate, quale quella del periparto, in cui l'organismo subisce depauperamento di alcuni importanti fattori nutrizionali necessari per il mantenimento dei naturali sistemi di difesa con conseguente stato di depressione immunitaria.

Per una descrizione più esaustiva dell' estratto vegetale preso in considerazione è di seguito riportato la scheda della specie botanica utilizzata.



Syringa vulgaris

Regno: [Plantae](#) (Piante)

Sottoregno: [Tracheobionta](#) (Piante vascolari)

Superdivisione: [Spermatophyta](#) (Piante con semi)

Divisione: [Magnoliophyta](#) (Piante con fiori)

Classe: [Magnoliopsida](#) (Dicotiledoni)

Sottoclasse: [Asteridae](#)

Ordine: [Scrophulariales](#)

Famiglia: [Oleaceae](#)

Genere: [Syringa](#) L. (lilac)

HABITAT: Il genere *Syringa* comprende specie provenienti da Turchia, Iran, Cina, Europa e Himalaya ed è ormai diffusa e spontaneamente naturalizzata nel bacino del Mediterraneo. Il suo nome scientifico è di origine greca: *syrinx* (tubo, da cui siringa).

USI ANTICHI

Utilizzata soprattutto a scopi decorativi, la profumatissima *Syringa Vulgaris*, meglio conosciuta come Lilla', è stata ampiamente usata in passato anche a scopo curativo. Il decotto della corteccia veniva utilizzato come febbrifugo, dall'infuso delle foglie venivano attribuite proprietà decongestionanti per il fegato e la digestione. Con i fiori si preparavano profumi e si ricavava anche l'olio da massaggio (attraverso la macerazione) per combattere reumatismi e dolori. Oggi come tonico del cuore e della circolazione si trovano in commercio i gemmoderivati (*Syringa vulgaris* macerato glicerico). Era antica credenza che le fate amassero stare tra i fiori di Lilla', e che piantato in un luogo lo purificasse dal male, inoltre i fiori freschi potevano servire ad allontanare gli spiriti da luoghi infestati. L'olio era impiegato nei rituali di equilibrio mentale, per i poteri psichici e la purificazione.

PROPRIETA' TERAPEUTICHE:

Syringa vulgaris gemme (macerato glicerinato)

In questa pianta riscontriamo un'azione spasmolitica e vasodilatatoria sulle arterie soprattutto coronariche dove aumenta l'irrorazione e migliora il trofismo e il rendimento miocardico. Viene utilizzata per l'angina pectoris e la coronarosclosi.

PREPARAZIONE FARMACEUTICA: Verbacht® estratto ricco in PPG

Composizione: estratto secco delle foglie di *S. vulgaris* e maltodestrine (1:1)

Aspetto: polvere fine di colore marrone

Metodica di estrazione: sonicazione in etanolo 60%, essiccazione dell'estratto per spray-drying con aggiunta di maltodestrine

Solubilità in acqua: Elevata (5g/l)

Polifenoli totali: 15,3 %

Analisi quantitativa: 9.67 % di verbascoside e 3.04 % di isoverbascoside (12,71% PPG totali)

RICERCA N° 1

“L’impiego del verbascoside sullo stato ossidativo plasmatico e su alcuni parametri ematici e produttivi in pecore di razza Lacaune”

OBIETTIVO DELLA RICERCA

La presente ricerca ha avuto come obiettivo la valutazione dell'effetto della somministrazione del verbascoside, nella pecora da latte, durante il periodo del periparto, sullo stato ossidativo plasmatico e su alcuni parametri ematici e produttivi in pecore Lacaune.

MATERIALI E METODI

La prova, della durata di 60 giorni, è stata condotta su 40 pecore, pluripare, di razza Lacaune, al 5° mese di gestazione, da 20 giorni prima del parto fino a 40 giorni dopo. Gli animali sono stati suddivisi in 2 gruppi, di 20 soggetti ciascuno, omogenei, per peso vivo ($62,70 \pm 2,72$) e ordine di parto ($4 \pm 1d$) ed alloggiati in 4 box, in numero di 10 per ciascuno di essi, delle dimensioni di 12 m², di cui un gruppo è stato utilizzato come controllo, mentre l'altro gruppo, sperimentale, era costituito da soggetti che hanno ricevuto individualmente, mescolato al mangime, un'integratore alimentare allo 0,5% di principio attivo a base di verbascoside. La dose di verbascoside somministrata quotidianamente e individualmente è stata stabilita nella misura di 0,49 mg di principio attivo/kg p.v.^{0,75} adottando come peso vivo di

riferimento quello rilevato in 3 diversi momenti della prova (a 20d ante partum, 0d e 20d post partum). Al fine di agevolare l'assunzione da parte dell'animale della dose quotidiana di verbascoside è stata pesata quotidianamente per ogni soggetto una quantità di 100 g di mangime sfarinato nel quale veniva mescolato l'integratore alimentare e poi somministrato individualmente, assicurandosi che venisse da ciascuno di essi completamente consumato.

Tutti i soggetti hanno ricevuto, sulla base delle esigenze fisiologiche e produttive, una razione alimentare composta da mangime concentrato, pellettato di produzione commerciale, nella misura di 400 g/d (comprensivo dei 100g di mangime sfarinato utilizzato per facilitare la somministrazione del verbascoside) e fieno di prato polifita, somministrato *ad libitum*, dall'inizio della prova (20d ante partum) fino al momento del parto. In seguito, subito dopo il parto e fino al termine della prova (40d), la razione è stata modificata aumentando il mangime concentrato da 400 g/d a 700 g/d, mentre si è continuato a somministrare il fieno *ad libitum*.

Le pecore sono state sottoposte ai seguenti controlli sperimentali, ad intervalli di 20 giorni,

durante l'intero periodo di prova:

Ante partum: (a 20d dalla data prevista del parto):

- *Rilievo dei pesi vivi*

- *Prelievi ematici*

Post partum: (a 0d, 20d e 40d):

- *Rilievi dei pesi vivi e BCS*

- *Rilievi della produzione individuale di latte*, con il metodo della doppia pesata degli agnelli

- *Rilievi delle caratteristiche chimico-bromatologiche del latte*, mediante il prelievo di un campione di 100 cc di latte, in concomitanza della pesata degli agnelli; su ciascun campione di latte è stato immediatamente determinato, in

laboratorio, il contenuto in grasso, proteine totali e lattosio utilizzando uno spettrofotometro IR (Milko Scan 133B, Foss Electric, DK-3400 Hillerod, Denmark), le cellule somatiche utilizzando lo strumento Foss Electric Fossomatic 90 Cell Counter (IDF, 1995), il contenuto di urea con l'impiego dell'Eurochem CL-10 che utilizza la pHmetria differenziale; l'attitudine alla coagulazione del latte tramite il Formagraph (Foss Electric) con il metodo di Zannoni e Annibaldi (1981)

- *Prelievi ematici*

Il sangue, prelevato dalla vena giugulare esterna con metodo *vacutainer*, è stato centrifugato per 15 minuti a 3000 rpm e sul siero sono stati determinati, immediatamente, i seguenti parametri: glucosio, trigliceridi, colesterolo totale, colesterolo HDL e colesterolo LDL, proteine totali, albumina, urea e creatinina, bilirubina, CK, ALT, AST, Ca, P, Cl e Mg mediante l'impiego di un analizzatore automatico di chimica clinica modello "ARCO", mentre sodio e potassio tramite lettura con fotometro a fiamma modello FP 20 SEAC. La determinazione dei TBARS è stata effettuata tramite lettura allo spettrofotometro e, a tale scopo, è stata costruita una curva standard con l'1,1,3,3-tetramethoxypropane (Sigma Aldrich, St. Louis). Ai campioni di plasma è stato aggiunto acido tricloroacetico al 10% per favorire la precipitazione delle proteine e la miscela così ottenuta è stata incubata per 15 minuti in ghiaccio. Dopo centrifugazione a 2200 giri per 15 minuti a 4° C, al surnatante è stato aggiunto acido tiobarbiturico 0,67% e incubato in bagnomaria a 90° C per 10 minuti; l'assorbanza è stata letta a 532 nm allo spettrofotometro. I risultati sono stati espressi in μmol di acido tiobarbiturico per litro di siero. I ROMs sono stati determinati allo spettrofotometro con il metodo colorimetrico proposto dalla Diacron ad una lunghezza d'onda di 505 nm, utilizzando lo specifico kit commerciale (Cesarone *et al.*, 1999) . Vitamina A ed E sono state estratte dai campioni di plasma con cloroformio (Zhao *et al.*, 2004) e la separazione è stata eseguita con l'HPLC (Kontron

Instruments - Italia) costituito da un autocampionatore (HPLC Autosampler 360) con un *loop* da 20 µl, due pompe reciprocanti (HPLC Pump 422), una colonna C18, 5µ, 250 x 4,60 mm (Phenomenex, Torrance, Ca, USA), utilizzando una fase mobile al 75% di acetonitrile e 25% di metanolo (flusso 1,0 ml/min.), un rilevatore fluorimetro (SFM) e un computer provvisto di software. La concentrazione delle vitamine A ed E è stata determinata in base a quelle dello standard interno e ai tempi di eluizione degli standard puri. E' stato altresì eseguito, su sangue intero, l'esame emocromocitometrico con conta dei globuli rossi, globuli bianchi, piastrine e determinazione dell'ematocrito mediante il conta-globuli automatico SEAC.

ANALISI STATISTICA DEI DATI

Previa valutazione della normalità della distribuzione di frequenza, tutte le variabili sono state sottoposte ad analisi della varianza adottando la procedura GLM per misure ripetute del pacchetto statistico SPSS (2009). La variazione, nel tempo, dei parametri considerati è stata valutata con l'ANOVA e le differenze fra le medie mediante il test del *t* di student per le pecore e mediante il test di Scheffè per gli agnelli .

RISULTATI E DISCUSSIONE

1. Performance produttive

I valori dei *pesi vivi* e del *body condition score* (BCS) rilevati durante la sperimentazione nei due gruppi allo studio sono riportati in tabella 1. Per i due parametri allo studio non sono state osservate differenze statisticamente significative tra il gruppo T di controllo e quello sperimentale, in accordo con quanto riscontrato da Hatfield et al.(2002), che hanno valutato l'effetto della somministrazione di zinco e vitamina E in pecore Yearling Targhee in asciutta e non gravide. Le pecore del gruppo di controllo hanno fatto registrare, nel periodo post partum (0d-40d), un peso vivo medio e un BCS,

rispettivamente, di 54,08 Kg e 2,44, mentre le pecore del gruppo sperimentale hanno evidenziato valori medi di 54,82 Kg e 2,50. In particolare, i valori del peso vivo, nel corso della prova, sono aumentati significativamente ($P < 0,05$) solo nel gruppo sperimentale dal momento del parto (Kg 53,62) sino al termine della prova (Kg 56,10); i valori del BCS sono aumentati anch'essi significativamente ($P < 0,01$) solo nel gruppo sperimentale passando da valori iniziali di 2,33 (0d) a valori di fine prova di 2,70 (40d). Per quanto riguarda il BCS, nel confronto tra i gruppi, sono state evidenziate, nel corso della prova, differenze significative ($P < 0,05$) tra il gruppo di controllo (2,59) ed il gruppo sperimentale (2,70), solo al termine della stessa (40d) evidenziando un'effetto positivo dell'impiego del verbascoside nel gruppo sperimentale.

In tabella 1 e 2 sono riportate *le caratteristiche quanti-qualitative del latte* prodotto dai due gruppi allo studio i cui valori rientrano pienamente nei range produttivi della razza (Oravcova et al., 2007). Il trattamento sperimentale ha influenzato significativamente ($P < 0,01$) la produzione di latte che è risultata maggiore nel gruppo sperimentale (36,54 Kg) rispetto al gruppo T di controllo (33,43 Kg).

In particolare, le differenze statistiche ($P < 0,01$) sono state registrate a 0-20d (18,00 vs 15,83 Kg) con produzioni di latte maggiori nel gruppo sperimentale rispetto a quello di controllo.

Relativamente alle caratteristiche qualitative del latte, non sono state osservate differenze significative nel confronto tra i gruppi e all'interno di ciascuno di essi nel corso della prova; i parametri presi in considerazione, infatti, sono rimasti stabili durante l'intero periodo di prova. Va evidenziato, comunque, per entrambi i gruppi, il basso contenuto in cellule somatiche con conseguente produzione di latte di buona qualità per l'assenza di stati infiammatori a carico della mammella e, nel complesso, di buone condizioni igienico-sanitarie dell'allevamento.

2. Parametri ematici

Nelle tabelle 3a e 3b sono riportati i valori di alcuni parametri ematici relativi all'intero periodo di prova.

Il trattamento sperimentale con verbascoside, nell'intera prova, ha influenzato significativamente, tra gli analiti allo studio, solo i *trigliceridi*, il *colesterolo totale*, il *colesterolo HDL*, il *colesterolo LDL*, le *AST* ($P < 0,01$) e la *bilirubina* ($P < 0,05$).

Per quanto riguarda i *trigliceridi* si è osservato, nell'intero periodo di prova, una diminuzione significativa dei valori del 12,5% nel gruppo sperimentale rispetto al gruppo di controllo; la differenza statistica, tra i gruppi a confronto, è stata evidenziata a 20 e 40d. All'interno di ciascuno di essi, i valori sono rimasti sostanzialmente stabili nel gruppo di controllo, mentre sono diminuiti statisticamente ($P < 0,05$) e in maniera progressiva con l'avanzare della prova nel gruppo sperimentale trattato con verbascoside.

Anche il *colesterolo totale* ha evidenziato, nell'intera prova, una diminuzione statisticamente significativa dei valori del 3,1% nel gruppo sperimentale rispetto a quello di controllo; le differenze statistiche ($P < 0,01$), tra i gruppi a confronto, si sono evidenziate, nel corso della prova, a 0d, a 20d e 40d. Nell'ambito di ciascun gruppo, è stata osservata nel tempo, solo nel gruppo sperimentale, una progressiva diminuzione dei valori che si sono differenziati statisticamente a 20 (- 5,2%) e 40 giorni (-5,7%) rispetto ai valori iniziali rilevati al I prelievo (20d ante partum).

Il *colesterolo HDL*, invece, ha evidenziato, nell'intera prova, un aumento statisticamente significativo ($P < 0,01$) dei valori dell' 8,4% nel gruppo sperimentale rispetto al gruppo di controllo; in particolare le differenze statistiche ($P < 0,01$), tra i gruppi a confronto, si sono evidenziate a 20 (11,4%) e 40d (18,6%) con valori più elevati nel gruppo sperimentale rispetto a quello di controllo. Nell'ambito di ciascun gruppo, è stato evidenziato nel tempo, nel

gruppo sperimentale, con il proseguire della prova, un incremento dei valori del *colesterolo HDL* che si sono differenziati statisticamente ($P < 0,05$) a 20 (11,4%) e a 40d (18,6%) rispetto ai valori iniziali rilevati al primo prelievo (20d ante partum).

Il *colesterolo LDL* ha evidenziato, nell'intera prova, una diminuzione statisticamente significativa ($P < 0,01$) dei valori del 10% nel gruppo sperimentale rispetto a quello di controllo; in particolare le differenze statistiche, tra i gruppi a confronto, si evidenziano subito dopo il parto e proseguono per l'intero periodo di prova con valori più bassi nel gruppo sperimentale rispetto a quello di controllo (-13,7% a 0d; -14,4% a 20d; -17,4% a 40d). Nell'ambito di ciascun gruppo, è stato evidenziato nel tempo, nel gruppo sperimentale, un decremento dei valori del *colesterolo LDL* che si sono differenziati statisticamente ($P < 0,05$) a 0d, 20d e 40d rispetto ai valori iniziali rilevati al primo prelievo (20d ante partum), mentre, nel gruppo T di controllo i valori non hanno presentato alcuna variazione.

La diminuzione dei trigliceridi, colesterolo totale e dell'LDL e l'aumento del colesterolo HDL può essere dovuta all'effetto dei polifenoli presenti nel verbascoside che hanno agito sul metabolismo lipidico in modo simile alle statine (simvastatina e pravastatina), utilizzati nel trattamento dell'ipercolesterolemia, che riducono la sintesi di colesterolo e inducono un incremento dell'espressione del recettore per le LDL, agendo a livello dell'HMG-CoA, enzima coinvolto nella sintesi del colesterolo a livello epatico. L'inibizione della sintesi del colesterolo a livello del fegato ha come conseguenza una up-regulation dell'espressione dei recettori delle LDL che vengono così richiamate dal circolo periferico al fegato con diminuzione della loro concentrazione plasmatica.

Choi e Hwang (2005), sperimentando su ratti a cui erano stati somministrati i fiori e/o i frutti di alcune piante medicinali (*Piper cubeba*, *Physalis angolata* e *Rosa Hybrid*) hanno evidenziato un aumento del colesterolo HDL e una

diminuzione del colesterolo totale, dell'LDL e dei trigliceridi anche se i valori non hanno raggiunto la significanza statistica, dovuto, probabilmente, secondo gli Autori, al breve periodo di trattamento (3 settimane). Radwan *et al.* (2008), in galline ovaiole, la cui dieta era stata supplementata con vit. E, olio di timo, origano, rosmarino e curcuma, hanno evidenziato nei gruppi che ricevevano olio di timo e di rosmarino una diminuzione significativa dei lipidi totali, rispetto al gruppo di controllo, del 17,15 e del 27,15%, rispettivamente, mentre il colesterolo totale e il colesterolo LDL ha fatto riscontrare una tendenza alla diminuzione senza raggiungere la significatività statistica.

Le AST hanno presentato, nell'intera prova, una diminuzione significativa ($P < 0,01$) dei valori del 4,0% nel gruppo sperimentale rispetto al gruppo di controllo; in particolare, tali differenze sono da attribuire ad una marcata ($P < 0,01$) diminuzione dei valori delle AST, nel gruppo sperimentale, a 40 giorni di prova, nella misura dell'11,1%. Nell'ambito di ciascun gruppo, nel tempo, si è osservata una diminuzione significativa ($P < 0,05$) dei valori delle AST, solo nel gruppo sperimentale, al III (5,6%) e IV prelievo (13,8%) rispetto ai valori rilevati a 20d ante partum.

Tale diminuzione è da attribuire molto probabilmente alla capacità dei polifenoli, presenti nel verbascoside, di contenere eventuali danni a livello delle cellule epatiche, in seguito a cambiamenti della permeabilità cellulare dovuti all'attacco dei ROS, in accordo con quanto riscontrato da Wang *et al.* (1996) che, in ratti con epatopatia da alcool, hanno rilevato una riduzione dei livelli serici delle transaminasi ALT e AST in seguito alla somministrazione di Cardo mariano (*Sylibum marianum*). In uno studio condotto da Botsoglou *et al.* (2009), su ratti sottoposti a stress ossidativi, indotto dal trattamento con tetracloruro di carbonio e, alla cui dieta venivano aggiunti origano e rosmarino, non è stato evidenziato alcun effetto sull'attività dei markers enzimatici epatici (AST, ALT e ALP).

La concentrazione della *bilirubina* è stata influenzata statisticamente ($P < 0,05$) dal trattamento sperimentale, evidenziando, nell'intera prova, una diminuzione dei valori medi nel gruppo sperimentale ($7,70 \mu\text{mol/l}$) rispetto al gruppo di controllo ($8,22 \mu\text{mol/l}$). Tra i gruppi a confronto le differenze statistiche sono state evidenziate al III e IV prelievo con valori inferiori nel gruppo sperimentale dell' 8,4% e del 12,5 % rispettivamente.

La durata della sperimentazione ha influenzato significativamente ($P < 0,05$) il parametro della *bilirubina* che ha subito nel tempo, nel gruppo sperimentale, un decremento della concentrazione plasmatica a 20d ($7,52 \mu\text{mol/l}$) e 40d ($7,18 \mu\text{mol/l}$) rispetto ai valori iniziali rilevati al primo prelievo ($8,23 \mu\text{mol/l}$). La diminuzione di tale parametro potrebbe essere dovuta all'effetto positivo del verbasco side che, riducendo la concentrazione di bilirubina, un potente antiossidante a basse concentrazioni ($< 70 \text{ nmoli}$) e al tempo stesso sostanza tossica a concentrazioni più alte, risulta utile nella definizione precoce di danno ossidativo e quindi nella sua prevenzione.

Infatti, Yousef et al. (2003) hanno evidenziato una diminuzione della bilirubina, in conigli alimentati con micotossine, grazie all'effetto lenitivo dell'acido ascorbico.

Gli altri parametri ematici, da noi considerati nella presente ricerca, (*glucosio, proteine totali, albumina, urea, creatinina, magnesio, cloro, calcio, fosforo, ALT, CK, sodio, potassio*) non sono stati influenzati dalla somministrazione di verbascoside e rientrano pienamente nei range tipici della specie (Casamassima et al., 1997).

Nella tabella 4 sono riportati i valori della concentrazione di alcuni parametri dell'esame emocromocitometrico (*RBC, WBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, PLT*) che non hanno fatto registrare, anch'essi, differenze significative tra i gruppi a confronto.

3. ROMs , TBARS, VITAMINA A, VITAMINA E

La somministrazione di verbascoside ha influenzato significativamente tutti i markers dello status ossidativo da noi considerati (tabella 5).

I valori medi dei *ROMs*, nell'intera prova, sono risultati statisticamente più bassi ($P < 0,01$) nel gruppo sperimentale rispetto a quello di controllo (146,56 vs 253,48 U/Carr, rispettivamente). In particolare la diminuzione dei valori, osservata nel gruppo sperimentale, è stata evidenziata già al secondo prelievo (0d) nella misura del 23,4% ed è proseguita, nei prelievi successivi, sino al termine della sperimentazione (40d), facendo registrare una riduzione del 67,1% rispetto al gruppo di controllo.

Nell'ambito di ciascun gruppo e nel corso della prova, i *ROMs* hanno presentato, nel gruppo di controllo, un'innalzamento statisticamente significativo ($P < 0,01$) dei valori, passando da concentrazioni iniziali di 158,7 U/Carr (20d ante partum) a valori di fine sperimentazione di 335,0 U/Carr (40d) con un sensibile incremento degli stessi (33,8%) in corrispondenza del secondo prelievo effettuato subito dopo il parto (0d). Il gruppo sperimentale, invece, ha presentato, nel corso della prova, una diminuzione dei valori ($P < 0,01$) passando da concentrazioni iniziali di 155,9 U/Carr (20d ante partum) a valori di fine sperimentazione di 110,1 U/Carr (40d); va comunque rilevato un incremento significativo dei valori del 15,2%, subito dopo il parto, solo in corrispondenza del II prelievo, per poi ridursi in seguito progressivamente fino al termine della prova del 40,1% rispetto ai valori rilevati dopo il parto.

Anche i *TBARs* hanno mostrato, nell'intera prova, differenze statistiche tra il gruppo di controllo e quello sperimentale con valori statisticamente significativi ($P < 0,05$) ed inferiori in quest'ultimo gruppo (0,307 vs 0,276 $\mu\text{mol/l}$). Per tale parametro le variazioni statistiche ($P < 0,05$), tra i gruppi a

confronto, sono state osservate solo al termine della prova (40d) con una diminuzione percentuale dei valori, osservata nel gruppo sperimentale, del 46,9%.

Nel corso della prova, in entrambi i gruppi, si è osservato un aumento significativo ($P < 0,01$) dei valori in corrispondenza del II prelievo, subito dopo il parto, del 62,1% nel gruppo di controllo e del 66,1% nel gruppo sperimentale; successivamente essi sono diminuiti, in entrambi i gruppi, per raggiungere al termine della prova (40d) valori nettamente inferiori nel gruppo sperimentale del 72,1% e nel gruppo di controllo del 42,5%.

La riduzione dei ROMs e della perossidazione lipidica (TBARS) può essere attribuita sia ad una azione diretta di cattura dei radicali liberi, operata dal verbascoside per la sua attività antiossidante, nella fase di propagazione della reazione a catena sia ad un blocco della fase di iniziazione del processo ossidativo, attraverso l'inibizione degli enzimi pro-ossidanti che produrrebbero radicali liberi.

Tali risultati sono in accordo con quanto riscontrato da Corino *et al.* (2007) in una precedente esperienza su suinetti svezzati ed alimentati con un'integratore a base di verbascoside e da Susca *et al.* (2005) in bovini di razza Charolaise, sottoposti a stress da trasporto, che hanno evidenziato una diminuzione della concentrazione di Malonaldehyde (MDA) nel gruppo di soggetti che avevano usufruito di una razione alimentare integrata con fitoderivati ad elevato potere antiossidante. La somministrazione, per via parenterale, di β -carotene, nel periodo del periparto, in pecore di razza Tuj, ha determinato, secondo quanto riportato da Kamiloglu *et al.* (2006), una minore concentrazione plasmatica di TBARS rispetto al gruppo di controllo.

Il trattamento con verbascoside, nell'intera prova, ha prodotto, nel gruppo sperimentale, un'incremento significativo ($P < 0,01$) dei valori della *vitamina E* rispetto al gruppo di controllo che ha fatto registrare valori più bassi (0,186 vs 0,140 $\mu\text{g/ml}$). In particolare, tra i due gruppi a confronto, l'aumento della

concentrazione di *vitamina E* è stato evidenziato, nel gruppo sperimentale, già al secondo prelievo (0d) nella misura del 16,6% ed è proseguito, nei prelievi successivi, sino al termine della sperimentazione (40d), facendo registrare un'incremento del 40,2% rispetto al gruppo di controllo.

Nell'ambito di ciascun gruppo, la *vitamina E* ha presentato, nel gruppo sperimentale, un'incremento significativo dei valori ($P < 0,05$) passando, nel corso della prova, da concentrazioni iniziali di 0,135 $\mu\text{g/ml}$ (20d ante partum) a valori di fine sperimentazione (40d) di 0,234 $\mu\text{g/ml}$ con un incremento significativo degli stessi del 42,3%, mentre nel gruppo di controllo le concentrazioni sono rimaste sostanzialmente invariate.

Dall'esame dei dati riportati in tabella 5, è possibile rilevare, nell'intera prova, una maggior concentrazione ($P < 0,01$) di *vitamina A* nel gruppo sperimentale rispetto a quello di controllo (0,189 vs 0,142 $\mu\text{g/ml}$, rispettivamente).

In particolare, nel confronto tra i due gruppi, le differenze statistiche ($P < 0,01$), a favore del gruppo sperimentale, si sono osservate a 20 (39,0%) e a 40d (86,0%).

Nel corso della prova e all'interno di ciascun gruppo, si osserva un aumento significativo della concentrazione di *vitamina A* ($P < 0,05$), nel gruppo sperimentale, a partire da valori iniziali di 0,143 $\mu\text{g/ml}$ (20d ante partum) sino a valori finali di 0,253 $\mu\text{g/ml}$ (40d) con un'incremento percentuale della concentrazione del 43,5%; mentre nel gruppo di controllo i valori di *vitamina* rimangono sostanzialmente invariati dall'inizio al termine della prova .

L'aumento della *vitamina A* ed *E* a livello serico potrebbe essere attribuito, probabilmente, alla capacità del verbascoside di potenziare e risparmiare il sistema antiossidante endogeno, controllando il metabolismo ossidativo attraverso la riduzione della produzione di specie reattive e l'induzione di enzimi ad attività antiossidante.

CONCLUSIONI

Il trattamento sperimentale, a base di verbascoside, ha migliorato la produzione di latte nelle pecore Lacaune, mentre la qualità del latte, il peso vivo e il BCS non hanno subito alcuna influenza.

A livello ematico sono stati osservati degli effetti significativamente positivi del trattamento con verbascoside sul contenuto in colesterolo HDL che si è incrementato dell'8,4% mentre sono diminuiti i trigliceridi del 12,5%, il colesterolo totale del 3,1%, il colesterolo LDL del 10,0%, le AST del 4,0% e la bilirubina del 6,3%. Su questi parametri notevole influenza è stata esercitata dalla durata di somministrazione del verbascoside che ha evidenziato un'effetto progressivamente crescente con l'avanzare della prova. L'integrazione alimentare con verbascoside ha prodotto un miglioramento della stabilità omeostatica a livello plasmatico con conseguente decremento della concentrazione dei ROMs e dei TBARs. Di particolare interesse sono apparsi i risultati emersi dall'impiego di verbascoside che ha prodotto nel gruppo sperimentale un aumento significativo delle concentrazioni di vitamina E e di vitamina A. Tali risultati evidenziano il ruolo positivo svolto dall'impiego di nutraceutici sulla produzione di latte e su alcuni parametri ematici e, più in generale, sullo stato di benessere delle pecore durante il periodo del parto.

RICERCA N° 2

“L’impiego del verbascoside sullo stato ossidativo plasmatico e su alcuni parametri ematici e produttivi in agnelli allattati naturalmente”

MATERIALI E METODI

La prova, della durata di 40 giorni, è stata condotta su 40 agnelli di razza Lacaune, dell’età di 2-3 giorni, suddivisi in 4 gruppi di 10 soggetti ciascuno, omogenei tra loro per sesso e peso vivo ($5,340 \pm 0,466$ Kg) ed allattati naturalmente sino al termine della sperimentazione.

I gruppi a confronto sono stati così caratterizzati:

- a) Gruppo T (controllo): pecore e agnelli non hanno ricevuto integrazione di verbascoside per l’intero periodo sperimentale
- b) I gruppo: gli agnelli, durante l’allattamento, hanno ricevuto un’integrazione alimentare a base di verbascoside nella misura di 0,90 mg/kg p.v.^{0,75}/giorno, mentre le madri non hanno ricevuto alcuna integrazione
- c) II gruppo: gli agnelli, durante l’allattamento, non hanno ricevuto l’integrazione alimentare a base di verbascoside, mentre le madri hanno ricevuto tale integrazione nella misura di 0,49 mg/kg p.v.^{0,75}/giorno, a partire da 20 giorni prima della data prevista del parto fino al termine della sperimentazione (40d)
- d) III gruppo: gli agnelli durante l’allattamento, hanno ricevuto verbascoside nella misura di 0,90 mg/kg p.^{v.0,75}/giorno; le madri hanno ricevuto anch’esse tale integrazione nella misura, però, di 0,49 mg/kg p.^{v.0,75}/giorno, a partire da 20 giorni prima della data prevista del parto fino al termine della sperimentazione (40d)

Gli agnelli hanno ricevuto per os alle ore 9.00 del mattino la dose del verbascoside che è stata calcolata sulla base del peso vivo di riferimento che, per l’intero periodo sperimentale, è stato assunto pari a 10 Kg e , nella

fattispecie, a 5,62 Kg di peso metabolico; mentre per le pecore è stato assunto come peso vivo di riferimento quello rilevato in tre momenti diversi della sperimentazione (a 20d ante partum, a 0d e 20d post partum). La somministrazione di verbascoside è stata effettuata, individualmente e quotidianamente, per gli agnelli utilizzando una siringa provvista di un apposito dosatore e per le pecore mescolando la dose programmata in 100g di mangime concentrato sfarinato.

Gli agnelli sono stati sottoposti, nel corso della prova, ai seguenti controlli sperimentali:

- rilievo del peso vivo e degli accrescimenti giornalieri, ogni 20 giorni, per un numero complessivo di 3 rilievi di peso vivo (0d, 20d e 40d)
- rilievo del consumo di latte e del relativo indice di conversione con il sistema della doppia pesata, ogni 20 giorni, dalla nascita al termine della prova (0d, 20d e 40d).
- prelievi ematici alla nascita e in seguito a 20d e 40d

Per quanto riguarda i parametri ematici, si è proceduto alla determinazione delle seguenti costanti ematiche: *glucosio, trigliceridi, colesterolo totale, colesterolo HDL, colesterolo LDL, proteine totali, albumina, urea, creatinina, magnesio, cloro, calcio, fosforo, AST, ALT, CK, sodio, potassio*; come indicatori plasmatici dello stato ossidativo sono stati determinati: *ROMs, TBARs, Vitamina A ed E* con le modalità precedentemente utilizzate nel protocollo sperimentale della ricerca N°1.

RISULTATI E DISCUSSIONE

1. Performance produttive

I valori dei pesi vivi e degli incrementi giornalieri (IMG), rilevati durante la sperimentazione nei quattro gruppi allo studio, sono riportati in tabella 1.

Il peso vivo e gli incrementi giornalieri sono stati influenzati statisticamente ($P < 0,05$) dal trattamento sperimentale; le differenze sono state evidenziate tra il terzo gruppo e quello di controllo con valori rispettivamente di 14,905 Kg vs 13,780 Kg e 237,00 g/d vs 214,00 g/d.

In particolare, tra i gruppi a confronto, le differenze statistiche ($P < 0,05$) per gli accrescimenti giornalieri sono state evidenziate nel periodo 20-40d a favore del gruppo III nella misura del 11,68% rispetto a quello di controllo.

L'effetto positivo sulla crescita è stato da noi evidenziato anche in una precedente ricerca (Casamassima et al., 2009) su agnelli allattati naturalmente a cui era stato somministrato un'integratore a base di verbascoside, e da Corino e Coll. (2007) in suinetti alimentati con un mangime supplementato con lo stesso integratore.

Anche Radwan e Coll (2008, 2003), aggiungendo al mangime lo 0,5-1% di foglie di timo, origano e rosmarino, hanno evidenziato, in galline ovaiole, un effetto positivo sulla produzione di uova, sul peso e sulla massa dell'uovo, mentre nei pulcini, un aumento del peso vivo, dell'IGM e un miglioramento dell'indice di conversione alimentare. L'effetto benefico della somministrazione di tali erbe potrebbe essere dovuto non solo all'attività antimicrobica e antifungina posseduta dai composti fenolici (Dorman e Deans, 2000; Giannenas et al., 2003; Arcila-Lozano et al., 2004 e Bozin et al., 2006) ma anche alla presenza, nel timo e nell'origano, di oli essenziali quali il timolo e carvacrolo (Basilico & Basilico, 1999).

Al contrario, Simitzis *et al.* (2008), sperimentando su agnelloni dell'età di circa 7 mesi, alimentati con mangime concentrato, arricchito con oli essenziali di origano, non hanno riscontrato differenze sul peso vivo e sul peso della carcassa; anche Bampidis e Coll. (2005) in agnelli, svezzati, di razza Chios, alimentati con mangime arricchito da foglie di origano, non hanno evidenziato effetti positivi sull'accrescimento, sulla crescita muscolare e sulle caratteristiche della carcassa.

Dall'esame della tabella 2, che riporta i consumi di latte e l'ICA degli agnelli, si evince, per quanto riguarda i consumi di latte, una differenza statisticamente significativa ($P < 0,05$) nell'intera prova, dovuta ad un maggior consumo di latte nei gruppi sperimentali I, II e III (829,83, 858,67 e 941,42, rispettivamente) rispetto al gruppo T di controllo (813,67), mentre l'indice di conversione, non è stato influenzato significativamente dal trattamento sperimentale; esso si è attestato mediamente, nei gruppi a confronto, tra valori di 3,60 e 4,00. L'aumento del consumo di latte, negli agnelli dei gruppi sperimentali (I, II e III), può essere attribuito, molto probabilmente, ad un effetto positivo del verbascoside sul benessere degli agnelli in allattamento attraverso un generale miglioramento dello stato immunitario e quindi sanitario degli animali.

2. Parametri ematici

Nelle tabelle 3a e 3b sono riportati i valori di alcuni parametri ematici relativi all'intero periodo di prova.

Il trattamento sperimentale con verbascoside, nell'intera prova, ha influenzato significativamente ($P < 0,05$), tra gli analiti allo studio, i *trigliceridi*, il *colesterolo totale*, il *colesterolo HDL*, il *colesterolo LDL* e la *bilirubina*.

Per i *trigliceridi* le differenze statistiche, tra i gruppi a confronto, si evidenziano, nell'intera prova, con una diminuzione significativa dei valori ($P < 0,05$) nei 3 gruppi sperimentali che oscilla mediamente tra il 10,5% e l'11,7% rispetto al gruppo di controllo. In particolare le differenze statistiche, tra i gruppi a confronto, si sono evidenziate a 20d e 40d con concentrazioni inferiori nei gruppi sperimentali I, II, III che hanno oscillato tra il 14,0% e il 14,8% a 20d e il 16,6% e il 21% a 40d.

Nel corso della prova, i *trigliceridi* hanno presentato, nel gruppo di controllo, un'incremento significativo ($P < 0,05$) dei valori dall'inizio al termine della prova del 5%, mentre i gruppi sperimentali hanno evidenziato, nello stesso

periodo, una diminuzione statistica ($P < 0,05$) del 14,2% , del 12,1% e del 17,3% , rispettivamente, nei gruppi I, II e III.

Il *colesterolo totale* è diminuito significativamente ($P < 0,05$), nell'intera prova, del 4,18% nel gruppo sperimentale I, del 4,29% nel gruppo II e del 5,22% nel gruppo III rispetto al gruppo di controllo; esso ha evidenziato, inoltre, durante la prova, tra i gruppi a confronto, una diminuzione significativa dei valori ($P < 0,05$) a 40 giorni.

Nel corso della sperimentazione, nell'ambito di ciascun gruppo, i valori di *colesterolo totale* sono diminuiti significativamente ($P < 0,05$), nei gruppi sperimentali I, II e III, a 40 giorni di prova rispetto ai valori iniziali (0d), mentre nel gruppo di controllo essi non hanno subito alcuna variazione.

Il *colesterolo HDL*, ha presentato, nel confronto tra i gruppi, nell'intera prova, un'incremento significativo ($P < 0,05$) dei valori del 4,8% nel gruppo sperimentale I e del 5,7% nel gruppo III rispetto a quello di controllo; quest'ultimo, invece, ha mostrato valori molto simili al gruppo II. Nel corso della prova e tra i gruppi a confronto, le differenze statistiche ($P < 0,05$) si sono osservate solo in corrispondenza del 40° giorno di prova con valori più elevati nei gruppi I e III rispetto a quello di controllo e al gruppo II dove questi ultimi due gruppi hanno mostrato valori non dissimili fra loro.

I valori di *colesterolo HDL* sono cresciuti significativamente ($P < 0,05$), anche nel tempo, nei gruppi sperimentali I e III, evidenziando dall'inizio al termine della prova (40d), un incremento percentuale del 14,3% e del 13,5%, rispettivamente.

I valori del *colesterolo LDL* sono, invece, diminuiti significativamente ($P < 0,05$), nell'intera prova, nei gruppi I (12,8%) e III (14,2%) rispetto al gruppo di controllo in conseguenza della differenza statistica evidenziatasi al 40esimo giorno di prova.

Nell'ambito di ciascun essi ed in relazione alla durata della sperimentazione si è osservato, inoltre, una riduzione significativa ($P < 0,05$) del *colesterolo LDL* nei tre gruppi sperimentali dall'inizio al termine della prova.

Gli effetti ipocolesterolemici del verbascoside possono essere attribuiti alla capacità dei componenti fenolici di inibire l'assorbimento del colesterolo a livello intestinale, causando conseguentemente una riduzione dei livelli di colesterolo a livello epatico e plasmatico.

Anche Lee *et al.*, (2003) hanno osservato una diminuzione dei trigliceridi e dei fosfolipidi ematici del 12 e del 7% rispettivamente, somministrando a dei broiler una dieta arricchita di carvacrolo che ha prodotto una minore biosintesi di colesterolo. Risultati simili sono stati ottenuti da Fidan e Dundar (2008) che, somministrando a ratti diabetici degli estratti di *Yucca Schidigera* e di *Quillaja Saponaria*, hanno evidenziato una diminuzione significativa dei trigliceridi e del colesterolo dovuta, probabilmente, al fatto che le saponine, contenute in queste piante, influenzano, attraverso la formazione di micelle contenenti acidi biliari, acidi grassi e trigliceridi, la stabilità delle micelle di colesterolo, riducendone la capacità di penetrazione attraverso le cellule intestinali.

La *bilirubina*, nell'intera prova, evidenzia una diminuzione statisticamente significativa ($P < 0,05$) nei gruppi sperimentali I e III rispetto a quello di controllo (7,56, 7,51 vs 8,16 $\mu\text{mol/L}$, rispettivamente) e tale differenza si manifesta, tra gli stessi gruppi, in corrispondenza del 40 esimo giorno di prova.

La durata della sperimentazione, nell'ambito di ciascun gruppo, ha influenzato significativamente ($P < 0,05$) tale parametro che ha subito nel tempo, nei tre gruppi sperimentali, un decremento della concentrazione plasmatica dall'inizio al termine della prova nella misura del 9,9%, del 3,6% e del 12,3% rispettivamente nei gruppi I, II e III.

I rimanenti parametri ematici da noi considerati e riportati nelle tabelle 3a e 3b (*glucosio, proteine totali, albumina, urea, creatinina, magnesio, cloro, calcio, fosforo, sodio, potassio, AST, ALT, CK*) non sono stati influenzati dal trattamento sperimentale e sono rientrati tutti nei range di normalità della specie (Rico *et al.*, 1976; Bornez *et al.*, 2008).

Nella tabella 4 sono riportati i valori della concentrazione di alcuni parametri dell'esame emocromocitometrico (*RBC, WBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, PLT*) relativi ai prelievi effettuati durante la sperimentazione. Non si registrano nell'ambito di ciascuno di essi differenze significative e i loro valori rientrano nei range della specie.

3. Roms, Tbars, Vitamina A e Vitamina E

La somministrazione di verbascoside ha influenzato significativamente tutti i markers dello status ossidativo da noi considerati (tabella 5).

Il trattamento sperimentale ha influenzato significativamente ($P < 0,01$), nell'intera prova, i valori dei *ROMs* i quali sono risultati più bassi nei gruppi sperimentali I, II e III rispetto a quello di controllo (171,21, 185,03, e 163,27 U/Carr *vs* 228,87 U/Carr, rispettivamente). In particolare, le differenze si sono evidenziate già a metà prova e sono proseguite sino al termine della stessa (40d) con valori significativamente inferiori ($P < 0,01$) del 44,4% nel gruppo sperimentale I, del 37,5% nel gruppo II e del 53,9% nel gruppo III rispetto a quello di controllo.

Nell'ambito di ciascun gruppo e, durante la prova, i *ROMs* hanno evidenziato una riduzione significativa dei valori ($P < 0,01$), nei tre gruppi sperimentali I, II, III, in misura del 34,9%, 27,5% e 47,4% dall'inizio al termine della prova; nessuna variazione statistica invece è stata osservata nel gruppo di controllo.

Il trattamento sperimentale ha influenzato significativamente ($P < 0,01$), nell'intera prova, i valori dei *TBARs* che sono risultati più bassi del 35,1% nel gruppo sperimentale I, del 23,5% nel gruppo II e del 36,0% nel gruppo III

rispetto al gruppo di controllo; le variazioni statistiche si sono osservate già a 20 giorni di prova per i gruppi sperimentali I e III rispetto a quello di controllo e si sono ampliate, in seguito fino al termine della prova (40d), anche al secondo gruppo con una riduzione percentuale dei valori, rispettivamente, del 64,2%, 63,5 %, 45,0%.

Nell'ambito di ciascun gruppo, i valori dei *TBARs* sono diminuiti significativamente ($P < 0,01$), dall'inizio al termine della prova, nei gruppi sperimentali I, II, III in misura del 22,41% nel gruppo sperimentale I, del 18,7% nel gruppo II e del 45,1 % nel gruppo III, mentre il gruppo di controllo, nello stesso periodo, di tempo si è incrementato del 52,0%.

Tali risultati sono da attribuire molto probabilmente all'azione antiossidante dei polifenoli presenti nel verbascoside che, in qualità di molecole redox-attive, cioè in grado di ossidarsi e ridursi senza divenire a loro volta molecole radicaliche altamente reattive, svolgono una funzione preventiva nei confronti dei ROS, con conseguente riduzione della lipoperossidazione evidenziata dal decremento dei livelli plasmatici di MDA.

Anche Li *et al.* (1999), in uno studio condotto sui muscoli scheletrici di ratti sottoposti a sforzo, la cui dieta era integrata con verbascoside per un periodo di 10 giorni, hanno osservato una diminuzione della concentrazione dei ROMs rispetto ai soggetti non trattati.

Risultati simili sono stati osservati da Fidan e Dundar (2008) che hanno evidenziato, in ratti diabetici, in seguito a somministrazione di estratti di *Yucca Schidigera* e di *Quillaja Saponaria*, entrambi ricchi di saponine, una diminuzione dell'MDA dovuta ad un'effetto protettivo antiossidante dei gruppi fenolici presenti in questi fitoestratti, come il resveratrolo,

I livelli di *vitamina E*, nell'intera prova, sono cresciuti statisticamente ($P < 0,01$) nei gruppi sperimentali I, II e III rispetto a quello di controllo mediamente tra il 36,7 e il 65,0 %. In particolare le differenze statistiche si sono manifestate non solo tra i 3 gruppi sperimentali verso il gruppo di

controllo, ma anche tra il gruppo sperimentale I in cui solo gli agnelli ricevevano verbascoside e il gruppo sperimentale III in cui il verbascoside veniva somministrato anche alle madri; le variazioni statistiche della vitamina E si sono osservate, tra i gruppi a confronto, già a 20 giorni di prova per i gruppi sperimentali I e III rispetto a quello di controllo e si sono estese, in seguito fino al termine della prova (40d), anche al secondo gruppo con un' incremento percentuale dei valori, rispettivamente, del 133,9% nel gruppo I, 136,4% nel gruppo III e dell' 87,3% nel gruppo II.

Il contenuto di vitamina E, nel corso della prova, all'interno dei gruppi sperimentali, è aumentato significativamente ($P < 0,01$) passando i valori da concentrazioni iniziali di 0,119, 0,121 e 0,120 $\mu\text{g/ml}$ a valori finali di 0,276, 0,221 e 0,279 $\mu\text{g/ml}$, rispettivamente, nei gruppi I, II e III, mentre nel gruppo di controllo le concentrazioni sono rimaste sostanzialmente invariate.

La *vitamina A* è stata influenzata significativamente ($P < 0,01$), nell'intera prova, dal trattamento sperimentale. Dall'esame della tabella 5, è possibile rilevare un aumento significativo della concentrazione di tale vitamina dal gruppo T di controllo al gruppo I, II e III (0,154 vs 0,225 vs 0,238 vs 0,252 $\mu\text{g/ml}$, rispettivamente); in particolare le differenze statistiche della *vitamina A*, tra i gruppi a confronto, si sono osservate, già a 20 giorni di prova per i gruppi sperimentali I, II e III rispetto a quello di controllo e sono proseguite, in seguito fino al termine della stessa facendo rilevare un'incremento percentuale dei valori, rispettivamente, del 85,2%, 94,4% e del 129,0%.

Durante la prova e nell'ambito di ciascun gruppo, è stato osservato, inoltre, un' aumento significativo ($P < 0,05$) della concentrazione di *vitamina A*, nei gruppi sperimentali I, II e III, a partire dall'inizio al termine della prova, in misura percentuale del 94,8%, 100,6% e del 139,3%, rispettivamente, mentre nel gruppo di controllo è rimasta invariata.

L'aumento della vitamina A ed E a livello serico potrebbe essere attribuito, probabilmente, alla capacità del verbascoside di potenziare e risparmiare il

sistema antiossidante endogeno, controllando il metabolismo ossidativo attraverso la riduzione della produzione di specie reattive e l'induzione di enzimi ad attività antiossidante.

Contrariamente a quanto da noi rilevato, nella presente ricerca, Capper et al. (2005) somministrando a pecore gravide della vitamina E ed acidi grassi, non hanno rilevato un'aumento statistico del contenuto in vitamina E nei tessuti e nel plasma degli agnelli nati.

CONCLUSIONI

Il trattamento sperimentale ha determinato un'incremento significativo dei pesi vivi, degli accrescimenti giornalieri e dei consumi di latte negli agnelli che hanno ricevuto un' integrazione alimentare a base di verbascoside.

L'integratore alimentare ha prodotto, inoltre, a livello ematico, una riduzione significativa dei trigliceridi, del colesterolo totale, del colesterolo LDL e della bilirubina ed un'aumento del colesterolo HDL.

Il verbascoside ha determinato, altresì, un miglioramento dello stato ossidativo e della stabilità omeostatica plasmatica attraverso un significativo decremento delle concentrazioni dei ROMs e dei TBARs ed un'incremento delle concentrazioni di vitamina A ed E.

Dai risultati della presente ricerca, emerge, pertanto, il ruolo svolto dall'impiego di integratori alimentari ad attività antiossidante che assume particolare interesse nel miglioramento delle condizioni di benessere degli animali e delle loro performance fisio-produttive.

Tabella 1. Pesi vivi, BCS e produzione di latte in pecore di razza Lacaune

Parametri	GruppoT (controllo)	Gruppo sperimentale (0,49 mg/kg p.v. ^{0,75} /giorno di verbascoside)	ES	Effetto, P		
				G	T	GxT
n° soggetti	n.	20	20			
Pesi vivi:						
20d ante partum	Kg	62,37 ^a	62,97 ^a	0,430		
0d	"	53,05 ^b	53,62 ^b	0,404		
20d	"	53,87 ^b	54,72 ^{bc}	0,399		
40d	"	55,32 ^b	56,10 ^c	0,516		
<i>Periodo post partum (0-40d)</i>		54,08	54,82	0,425	ns	*
BCS:						
0d		2,32	2,33 ^a	0,023		
20d		2,41	2,47 ^b	0,023		
40d		2,59 ¹	2,70 ^{2c}	0,022	*	
<i>Intera prova (0-40d)</i>		2,44	2,50	0,019	ns	**
Produzione totale di latte:						
0-20d	Kg	15,83 ¹	18,00 ²	0,282	**	
20-40d	"	17,60	18,54	0,290	ns	
0-40d	"	33,43¹	36,54²	0,531	**	/ /

ns = non significativo

Sulla stessa riga medie seguite da numeri diversi differiscono per almeno P<0,05 (^{1,2})

Sulla stessa colonna medie seguite da lettere diverse differiscono per almeno P<0,05 (a,b,c)

Tabella 2. Caratteristiche qualitative del latte in pecore di razza Lacaune

Parametri		Gruppo T (controllo)	Gruppo sperimentale (0,49 mg/kg p.v. ^{0,75} /giorno di verbasoside)	ES	Effetto, P		
					G	T	G x T
n° soggetti	n.	20	20				
Proteine							
0d	%	5,66	5,67	0,050			
20d	"	5,67	5,70	0,041			
40d	"	5,70	5,69	0,043			
<i>Intera prova (0-40d)</i>	"	5,68	5,69	0,023	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
Grassi							
0d	%	8,37	8,36	0,068			
20d	"	8,37	8,37	0,067			
40d	"	8,42	8,34	0,069			
<i>Intera prova (0-40d)</i>	"	8,39	8,36	0,043	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
Lattosio							
0d	%	4,67	4,69	0,033			
20d	"	4,73	4,71	0,034			
40d	"	4,80	4,82	0,028			
<i>Intera prova (0-40d)</i>	"	4,73	4,74	0,016	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
Densità							
0d		1035,29	1036,46	0,656			
20d		1035,56	1037,22	0,788			
40d		1035,25	1036,67	0,644			
<i>Intera prova (0-40d)</i>		1035,37	1036,78	0,434	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
RSM							
0d	%	10,59	10,62	0,048			
20d	"	10,55	10,59	0,044			
40d	"	10,60	10,64	0,048			
<i>Intera prova (0-40d)</i>	"	10,58	10,62	0,026	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
Indice crioscopico							
0d	°C	-0,550	-0,560	0,013			
20d	"	-0,560	-0,560	0,001			
40d	"	-0,560	-0,560	0,002			
<i>Intera prova (0-40d)</i>	"	-0,560	-0,560	0,004	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
Na							
0d	mg/100 ml	37,30	36,70	1,762			
20d	"	40,70	40,85	1,916			
40d	"	41,50	41,55	1,815			
<i>Intera prova (0-40d)</i>	"	39,83	39,70	1,140	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
K							
0d	mg/100 ml	143,60	143,85	1,071			
20d	"	145,45	145,30	0,920			
40d	"	144,70	144,50	0,862			
<i>Intera prova (0-40d)</i>	"	144,58	144,55	0,542	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
Urea							
0d	mg/100 ml	46,70	46,00	0,100			
20d	"	46,60	47,15	1,005			
40d	"	47,60	47,55	0,863			
<i>Intera prova (0-40d)</i>	"	46,97	46,90	0,568	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
NaCl							
0d	%	0,142	0,145	0,004			
20d	"	0,141	0,143	0,003			
40d	"	0,140	0,135	0,003			
<i>Intera prova (0-40d)</i>	"	0,141	0,141	0,002	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
Cellule somatiche							
0d	10 ³ cellule/ml	2,43	2,50	0,067			
20d	"	2,33	2,37	0,062			
40d	"	2,31	2,23	0,061			
<i>Intera prova (0-40d)</i>	"	2,35	2,37	0,036	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>

Tabella 3a. Parametri ematici in pecore di razza Lacaune

Parametri	Gruppo T (controllo)	Gruppo sperimentale (0,49 mg/kg p.v. ^{0,75} /giorno di verbascoside)		ES	Effetto, P		
					G	T	GxT
n° soggetti	n.	20	20				
Glicemia:							
20d ante partum	mmol/l	4,18	4,18	0,022			
0d	"	4,20	4,23	0,024			
20d	"	4,18	4,26	0,023			
40d	"	4,17	4,19	0,026			
Intera prova	"	4,18	4,22	0,015	ns	ns	ns
Trigliceridi:							
20d ante partum	mmol/l	0,25	0,24 ^a	0,004			
0d	"	0,25	0,22 ^{ac}	0,005			
20d	"	0,25 ¹	0,20 ^{2b}	0,006			
40d	"	0,23 ¹	0,18 ^{2b}	0,006			
Intera prova	"	0,24¹	0,21²	0,004	**	*	*
Colesterolo tot:							
20d ante partum	mmol/l	1,89	1,92 ^a	0,013			
0d	"	1,94 ¹	1,87 ²	0,013			
20d	"	1,93 ¹	1,82 ^{2b}	0,015			
40d	"	1,93 ¹	1,81 ^{2b}	0,014			
Intera prova	"	1,92¹	1,86²	0,008	**	*	*
Colesterolo HDL:							
20d ante partum	mmol/l	0,71	0,70 ^a	0,011			
0d	"	0,71	0,75 ^{ab}	0,011			
20d	"	0,70 ¹	0,78 ^{2b}	0,014			
40d	"	0,72 ¹	0,83 ^{2bc}	0,014			
Intera prova	"	0,71¹	0,77²	0,008	**	*	*
Colesterolo LDL:							
20d ante partum	mmol/l	1,07	1,11 ^a	0,016			
0d	"	1,17 ¹	1,01 ^{2b}	0,017			
20d	"	1,11 ¹	0,95 ^{2bc}	0,023			
40d	"	1,09 ¹	0,90 ^{2c}	0,020			
Intera prova	"	1,10¹	0,99²	0,012	**	**	**
Proteine totali:							
20d ante partum	g/l	71,70	69,75	0,468			
0d	"	71,25	70,70	0,473			
20d	"	71,55	72,80	0,474			
40d	"	70,95	71,95	0,454			
Intera prova	"	71,36	71,30	0,228	ns	ns	ns
Albumina:							
20d ante partum	g/l	24,65	24,25	0,226			
0d	"	24,70	24,75	0,277			
20d	"	24,40	24,35	0,318			
40d	"	24,80	24,85	0,284			
Intera prova	"	24,64	24,55	0,170	ns	ns	ns
Urea:							
20d ante partum	mmol/l	5,34	5,27	0,071			
0d	"	5,45	5,25	0,082			
20d	"	5,59	5,44	0,059			
40d	"	5,40	5,36	0,063			
Intera prova	"	5,44	5,33	0,034	ns	ns	ns
Creatinina:							
20d ante partum	µmol/l	75,14	75,91	1,238			
0d	"	76,91	76,91	1,680			
20d	"	76,02	76,91	1,149			
40d	"	71,60	73,37	0,972			
Intera prova	"	74,92	75,77	0,707	ns	ns	ns

Sulla stessa riga medie seguite da numeri diversi differiscono per almeno P<0,05 (^{1,2})

Sulla stessa colonna medie seguite da lettere diverse differiscono per almeno P<0,05 (a,b,c)

Tabella 3b. Parametri ematici in pecore di razza Lacaune

Parametri	GruppoT (controllo)	Gruppo sperimentale (0,49 mg/kg p.v. ^{0,75} /giorno di verbascoside)		ES	Effetto, P		
					G	T	GxT
Magnesio:							
20d <i>ante partum</i>	mmol/l	0,97	0,95	0,019			
0d	"	0,93	0,95	0,021			
20d	"	0,91	0,93	0,023			
40d	"	0,91	0,84	0,024			
<i>Intera prova</i>	"	0,93	0,92	0,009	ns	ns	ns
Cloro:							
20d <i>ante partum</i>	mmol/l	97,18	97,83	0,328			
0d	"	96,72	97,74	0,390			
20d	"	97,27	98,86	0,440			
40d	"	96,41	96,30	0,536			
<i>Intera prova</i>	"	96,89	97,68	0,213	ns	ns	ns
Calcio:							
20d <i>ante partum</i>	mmol/l	2,43	2,43	0,018			
0d	"	2,45	2,42	0,023			
20d	"	2,44	2,41	0,017			
40d	"	2,47	2,50	0,016			
<i>Intera prova</i>	"	2,45	2,44	0,009	ns	ns	ns
Fosforo:							
20d <i>ante partum</i>	mmol/l	1,66	1,65	0,022			
0d	"	1,70	1,70	0,020			
20d	"	1,66	1,63	0,025			
40d	"	1,73	1,62	0,021			
<i>Intera prova</i>	"	1,69	1,65	0,010	ns	ns	ns
Sodio:							
20d <i>ante partum</i>	mmol/l	150,40	150,25	0,524			
0d	"	150,00	150,75	0,496			
20d	"	150,05	150,85	0,805			
40d	"	150,70	150,80	0,628			
<i>Intera prova</i>	"	150,29	150,25	0,333	ns	ns	ns
Potassio:							
20d <i>ante partum</i>	mmol/l	4,83	4,89	0,047			
0d	"	4,76	4,85	0,046			
20d	"	4,73	4,80	0,040			
40d	"	4,59	4,74	0,052			
<i>Intera prova</i>	"	4,73	4,82	0,026	ns	ns	ns
AST:							
20d <i>ante partum</i>	UI/L	63,43	62,92 ^a	0,365			
0d	"	62,06	61,53 ^{ac}	0,525			
20d	"	61,55	59,36 ^{bc}	0,572			
40d	"	61,06 ¹	54,25 ^{2bd}	0,839			
<i>Intera prova</i>	"	62,03¹	59,52²	0,404	**	*	*
ALT:							
20d <i>ante partum</i>	UI/L	15,07	14,95	0,379			
0d	"	14,83	14,75	0,291			
20d	"	14,44	14,74	0,266			
40d	"	14,42	14,90	0,279			
<i>Intera prova</i>	"	14,69	14,84	0,183	ns	ns	ns
CK:							
20d <i>ante partum</i>	UI/L	29,01	29,04	0,502			
0d	"	28,71	28,72	0,439			
20d	"	28,19	28,69	0,444			
40d	"	28,70	26,95	0,557			
<i>Intera prova</i>	"	28,65	28,35	0,288	ns	ns	ns
Bilirubina:							
20d <i>ante partum</i>	μmol/l	8,24	8,23 ^a	0,274			
0d	"	8,21	7,87	0,257			
20d	"	8,21 ¹	7,52 ^{2b}	0,257			
40d	"	8,21 ¹	7,18 ^{2b}	0,222			
<i>Intera prova</i>	"	8,22¹	7,70²	0,137	*	*	*

Sulla stessa riga medie seguite da numeri diversi differiscono per almeno $P < 0,05$ (^{1,2})

Sulla stessa colonna medie seguite da lettere diverse differiscono per almeno $P < 0,05$ (a,b)

Tabella 4. Parametri emocromocitometrici in pecore di razza Lacaune

Parametri		Gruppo T (controllo)	Gruppo sperimentale (0,49 mg/kg p.v. ^{0,75} /giorno di verbascoside)	ES	Effetto, P		
					G	T	GxT
n° soggetti	n.	20	20				
RBC:							
20d ante partum	x10 ⁶ /UI	8,80	8,83	0,185			
0d	"	9,28	9,21	0,174			
20d	"	9,65	9,68	0,177			
40d	"	9,68	9,65	0,168			
<i>Intera prova</i>	"	9,35	9,34	0,080	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
WBC:							
20d ante partum	x10 ³ /UI	8,02	8,05	0,127			
0d	"	8,07	8,09	0,203			
20d	"	8,47	8,42	0,211			
40d	"	8,48	8,50	0,178			
<i>Intera prova</i>	"	8,26	8,26	0,097	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
HGB:							
20d ante partum	g/dl	10,60	10,52	0,263			
0d	"	10,43	10,53	0,163			
20d	"	10,71	10,73	0,138			
40d	"	10,78	10,54	0,193			
<i>Intera prova</i>	"	10,63	10,58	0,101	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
HCT:							
20d ante partum	%	26,99	27,05	0,466			
0d	"	27,79	27,72	0,657			
20d	"	27,62	27,75	0,531			
40d	"	27,77	27,51	0,529			
<i>Intera prova</i>	"	27,54	27,51	0,310	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
MCV:							
20d ante partum	μ	29,35	29,20	0,306			
0d	"	30,65	30,35	0,531			
20d	"	30,35	30,85	0,328			
40d	"	29,65	29,95	0,355			
<i>Intera prova</i>	"	30,00	30,09	0,253	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
MCH:							
20d ante partum	pg	10,71	10,80	0,109			
0d	"	11,87	11,97	0,282			
20d	"	11,73	11,79	0,349			
40d	"	11,54	11,53	0,140			
<i>Intera prova</i>	"	11,46	11,52	0,129	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
MCHC:							
20d ante partum	g/dl	39,22	39,21	0,429			
0d	"	38,50	39,01	0,755			
20d	"	37,85	38,09	0,286			
40d	"	37,94	38,30	0,505			
<i>Intera prova</i>	"	38,38	38,65	0,245	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
PLT:							
20d ante partum	x10 ³ /UI	285,90	298,00	13,992			
0d	"	300,75	305,55	16,067			
20d	"	303,75	292,80	14,190			
40d	"	296,75	302,35	9,048			
<i>Intera prova</i>	"	296,79	299,67	6,840	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>

Tabella 5. Alcuni parametri dello stato ossidativo plasmatico in pecore di razza Lacaune

Parametri		GruppoT (controllo)	Gruppo sperimentale (0,49 mg/kg p.v. ^{0,75} /giorno di verbascoside)	ES	Effetto, P		
					G	T	G x T
n° soggetti	n.	20	20				
ROMs:							
20d <i>ante partum</i>	U/Carr	158,75 ^a	155,92 ^a	4,317			
0d	"	239,88 ^{1b}	183,83 ^{2b}	8,622			
20d	"	280,25 ^{1c}	136,44 ^{2c}	15,070			
40d	"	335,05 ^{1d}	110,06 ^{2d}	20,491			
<i>Intera prova</i>	"	253,48¹	146,56²	10,180	**	**	**
TBARS:							
20d <i>ante partum</i>	µmol/l	0,190 ^a	0,186 ^a	0,009			
0d	"	0,501 ^b	0,549 ^b	0,023			
20d	"	0,247 ^{acd}	0,217 ^a	0,013			
40d	"	0,288 ^{1d}	0,153 ^{2a}	0,014			
<i>Intera prova</i>	"	0,307¹	0,276²	0,089	*	**	*
Vit E:							
20d <i>ante partum</i>	µg/ml	0,137	0,135 ^a	0,005			
0d	"	0,141 ¹	0,169 ^{2ab}	0,006			
20d	"	0,143 ¹	0,210 ^{2b}	0,008			
40d	"	0,140 ¹	0,234 ^{2bc}	0,011			
<i>Intera prova</i>	"	0,140¹	0,186²	0,005	**	*	*
Vit A:							
20d <i>ante partum</i>	µg/ml	0,144	0,143a	0,007			
0d	"	0,154	0,171a	0,006			
20d	"	0,136 ¹	0,189 ^{2a}	0,007			
40d	"	0,136 ¹	0,253 ^{2b}	0,012			
<i>Intera prova</i>	"	0,142¹	0,189²	0,005	**	*	*

Sulla stessa riga medie seguite da numeri diversi differiscono per almeno P<0,05 (1,2)

Sulla stessa colonna medie seguite da lettere diverse differiscono per almeno P<0,05 (a,b,c,d)

Tabella 1. Peso vivo e incremento giornaliero in agnelli di razza Lacaune (media \pm ES)

Parametri	Gruppo T (controllo)	Gruppi sperimentali			ES	Effetto, P G
		I verbascoside somministrato: agnelli (0,90 mg/Kg p.v. ^{0,75} /giorno)	II verbascoside somministrato: alle madri (0,49mg/Kg p.v. ^{0,75} /giorno)	III verbascoside somministrato: alle madri (0,49mg/Kg p.v. ^{0,75} /giorno) agnelli (0,90 mg/Kg p.v. ^{0,75} /giorno)		
soggetti	n.	10	10	10	10	
peso vivo:						
0 d	kg	5,220	5,415	5,308	5,425	0,073 ns
20 d	"	9,433	9,932	9,867	10,050	0,109 ns
40 d	"	13,780 ¹	14,670	14,520	14,905 ²	0,139 *
incrementi:						
0-20d	g/d	210,66	225,88	227,95	231,25	3,467 ns
20-40d	"	217,33 ¹	236,88	232,65	242,75 ²	3,188 *
Intera prova (0-40d)	"	214,00¹	231,38	230,30	237,00²	2,57 *

ns = non significativo * P<0,05

Sulla stessa riga medie seguite da numeri diversi differiscono per P<0,05 (^{1,2})

Tabella 2. Consumi ed indici di conversione del latte in agnelli di razza Lacaune (media \pm ES)

Parametri	GruppoT (controllo)	Gruppi sperimentali			ES	Effetto, P G
		I verbascoside somministrato: agnelli (0,90 mg/Kg p.v. ^{0,75} /giorno)	II verbascoside somministrato: alle madri (0,49mg/Kg p.v. ^{0,75} /giorno)	III verbascoside somministrato: alle madri (0,49mg/Kg p.v. ^{0,75} /giorno) agnelli (0,90 mg/Kg p.v. ^{0,75} /giorno)		
soggetti	n.	10	10	10	10	
Consumi di latte:						
0-20 d	g/d	772,83 ¹	797,17 ^{1,2a}	861,67 ^{2,3}	937,50 ³	13,70 *
20-40 d	"	854,50	862,50 ^b	855,67	945,33	12,45 ns
<i>Intera prova (0-40 d)</i>	"	<i>813,67¹</i>	<i>829,83²</i>	<i>858,67²</i>	<i>941,42²</i>	<i>12,13 *</i>
Indici di conversione:						
0-20d		3,71	3,56	3,73	4,09	0,075 ns
20-40d		3,95	3,65	3,83	3,91	0,073 ns
<i>Intera prova (0-40d)</i>		<i>3,83</i>	<i>3,60</i>	<i>3,78</i>	<i>4,00</i>	<i>0,057 ns</i>

ns = non significativo ** P<0,01; * P<0,05

Sulla stessa riga medie seguite da numeri diversi differiscono per P<0,05 (^{1,2,3})

Sulla stessa colonna medie seguite da lettere diverse differiscono per P<0,05 (a,b)

Tabella 3a. Parametri ematici in agnelli di razza Lacaune

Parametri	GruppoT (controllo)	Gruppi sperimentali			ES	Effetto, P		
		I verbascoside somministrato: agnelli (0,90 mg/Kg p.v. ^{0,75} /giorno)	II verbascoside somministrato: alle madri (0,49mg/Kg p.v. ^{0,75} /giorno)	III verbascoside somministrato: alle madri (0,49mg/Kg p.v. ^{0,75} /giorno) agnelli (0,90 mg/Kg p.v. ^{0,75} /giorno)		G	T	GxT
soggetti	n.	10	10	10	10			
Glicemia:								
0d	mmol/l	4,42	4,34	4,37	4,40	0,028		
20d	"	4,37	4,28	4,35	4,33	0,023		
40d	"	4,45	4,32	4,28	4,37	0,023		
Intera prova (0-40d)	"	4,41	4,31	4,33	4,37	0,019	ns	ns ns
Trigliceridi:								
0d	mmol/l	0,241 ^a	0,239 ^a	0,240 ^a	0,242 ^a	0,005		
20d	"	0,250 ^{1b}	0,213 ^{2b}	0,215 ^{2b}	0,214 ^{2b}	0,004		
40d	"	0,253 ^{1b}	0,205 ^{2c}	0,211 ^{2b}	0,200 ^{2c}	0,003		
Intera prova (0-40d)	"	0,248¹	0,222²	0,222²	0,219²	0,003	*	* * *
Colesterolo tot:								
0d	mmol/l	1,936	1,931 ^a	1,919 ^a	1,926 ^a	0,0116		
20d	"	1,937	1,847	1,878 ^a	1,847 ^a	0,0148		
40d	"	1,936 ¹	1,788 ^{2b}	1,761 ^{2b}	1,730 ^{2b}	0,0201		
Intera prova (0-40d)	"	1,936¹	1,855²	1,853²	1,835²	0,0113	*	* * *
Colesterolo HDL:								
0d	mmol/l	0,781	0,777 ^a	0,783	0,788 ^a	0,0126		
20d	"	0,784	0,813 ^b	0,789	0,814 ^b	0,0133		
40d	"	0,797 ¹	0,884 ^{2c}	0,802 ¹	0,894 ^{2c}	0,0206		
Intera prova (0-40d)	"	0,787¹	0,825²	0,791¹	0,832²	0,0394	*	* * *
Colesterolo LDL:								
0d	mmol/l	1,062	1,025 ^a	1,015 ^a	1,001 ^a	0,021		
20d	"	1,064	0,939	0,996	0,925 ^a	0,022		
40d	"	1,048 ¹	0,806 ^{2b}	0,886 ^{2b}	0,799 ^{2b}	0,028		
Intera prova (0-40d)	"	1,058¹	0,923²	0,966¹	0,908²	0,025	*	* * *
Proteine totali:								
0d	g/l	70,40	70,90	70,80	70,70	0,620		
20d	"	70,30	71,80	70,40	71,30	0,620		
40d	"	74,80	69,70	69,30	71,20	0,640		
Intera prova (0-40d)	"	71,83	70,80	70,17	71,07	0,530	ns	ns ns
Albumina:								
0d	g/l	24,10	24,30	24,10	24,50	0,320		
20d	"	25,10	24,20	24,70	24,30	0,220		
40d	"	24,50	24,50	25,30	25,10	0,180		
Intera prova (0-40d)	"	24,57	24,33	24,70	24,63	0,160	ns	ns ns
Urea:								
0d	mmol/l	5,13	5,67	5,57	5,16	0,064		
20d	"	5,30	5,53	5,46	5,46	0,071		
40d	"	5,22	5,40	4,88	5,14	0,074		
Intera prova (0-40d)	"	5,22	5,53	5,30	5,26	0,043	ns	ns ns
Creatinina:								
0d	μmol/l	64,76	64,53	64,88	64,72	1,41		
20d	"	65,76	64,30	65,30	65,53	1,41		
40d	"	65,42	65,00	64,65	65,02	1,41		
Intera prova (0-40d)	"	65,31	64,61	64,94	65,09	1,15	ns	ns ns

Sulla stessa riga medie seguite da numeri diversi differiscono per P<0,05 (^{1,2})

Sulla stessa colonna medie seguite da lettere diverse differiscono per P<0,05 (a,b,c)

Tabella 3 b. Parametri ematici in agnelli di razza Lacaune

Parametri	Gruppo T (controllo)	Gruppi sperimentali			ES	Effetto, P			
		I verbascoside somministrato: agnelli (0,90 mg/Kg p.v. ^{0,75} /giorno)	II verbascoside somministrato: alle madri (0,49mg/Kg p.v. ^{0,75} /giorno)	III verbascoside somministrato: alle madri (0,49mg/Kg p.v. ^{0,75} /giorno) agnelli (0,90 mg/Kg p.v. ^{0,75} /giorno)		G	T	GxT	
Magnesio:									
0d	mmol/l	0,99	0,99	1,00	0,99	0,021			
20d	"	0,99	0,99	0,99	0,98	0,026			
40d	"	0,98	1,00	0,98	1,00	0,023			
Intera prova (0-40d)	"	0,99	0,99	0,99	0,99	0,016	ns	ns	ns
Cloro:									
0d	mmol/l	96,58	96,71	96,25	96,55	0,398			
20d	"	96,76	96,62	96,30	96,63	0,942			
40d	"	96,20	96,55	95,80	96,23	0,527			
Intera prova (0-40d)	"	96,51	96,63	96,12	96,47	0,46	ns	ns	ns
Calcio:									
0d	mmol/l	2,38	2,43	2,51	2,45	0,018			
20d	"	2,38	2,35	2,37	2,42	0,013			
40d	"	2,40	2,39	2,39	2,36	0,019			
Intera prova (0-40d)	"	2,39	2,39	2,42	2,41	0,011	ns	ns	ns
Fosforo:									
0d	mmol/l	1,59	1,62	1,61	1,61	0,029			
20d	"	1,64	1,64	1,59	1,61	0,030			
40d	"	1,67	1,60	1,65	1,63	0,026			
Intera prova (0-40d)	"	1,63	1,62	1,62	1,61	0,021	ns	ns	ns
Sodio:									
0d	mmol/l	149,50	147,80	147,10	148,40	0,532			
20d	"	151,40	148,00	149,20	147,90	0,447			
40d	"	150,20	147,60	150,70	148,50	0,572			
Intera prova (0-40d)	"	150,37	147,80	149,00	148,27	0,320	ns	ns	ns
Potassio:									
0d	mmol/l	4,97	4,93	4,57	4,75	0,050			
20d	"	4,76	4,66	4,60	4,87	0,045			
40d	"	4,79	4,78	4,92	4,92	0,043			
Intera prova (0-40d)	"	4,84	4,79	4,69	4,85	0,03	ns	ns	ns
Bilirubina:									
0d	µmol/l	8,04	7,97 ^a	8,04 ^a	7,99 ^a	0,239			
20d	"	8,21	7,52 ^b	7,87	7,52 ^b	0,154			
40d	"	8,22 ¹	7,18 ^{2c}	7,75 ^{1b}	7,01 ^{2c}	0,137			
Intera prova (0-40d)	"	8,16¹	7,56²	7,89¹	7,51²	0,120	*	*	*
AST:									
0d	UI/L	56,85	57,51	57,62	57,47	0,988			
20d	"	54,94	58,22	57,21	57,66	0,891			
40d	"	57,79	56,95	57,50	57,81	1,018			
Intera prova (0-40d)	"	56,53	57,56	57,44	57,65	0,74	ns	ns	ns
ALT:									
0d	UI/L	14,34	14,32	14,44	13,99	0,330			
20d	"	14,51	14,32	14,35	14,35	0,230			
40d	"	14,53	14,61	14,12	14,55	0,193			
Intera prova (0-40d)	"	14,46	14,42	14,30	14,30	0,17	ns	ns	ns
CK									
0d	UI/L	26,37	26,09	26,34	26,42	0,630			
20d	"	26,19	26,94	26,09	26,27	0,528			
40d	"	26,12	26,20	26,83	26,40	0,341			
Intera prova (0-40d)	"	26,23	26,41	26,42	26,36	0,299	ns	ns	ns

Sulla stessa riga medie seguite da numeri diversi differiscono per P<0,05 (t²)

Sulla stessa colonna medie seguite da lettere diverse differiscono per P<0,05 (a,b,c)

Tabella 4. Parametri emocromocitometrici in agnelli di razza Lacaune

Parametri	GruppoT (controllo)	Gruppi sperimentali			ES	Effetto, P		
		I verbascoside somministrato: agnelli (0,90 mg/Kg p.v. ^{0,75} /giorno)	II verbascoside somministrato: alle madri (0,49mg/Kg p.v. ^{0,75} /giorno)	III verbascoside somministrato: alle madri (0,49mg/Kg p.v. ^{0,75} /giorno) agnelli (0,90 mg/Kg p.v. ^{0,75} /giorno)		G	T	GxT
<i>soggetti</i>	<i>n.</i>	<i>10</i>	<i>10</i>	<i>10</i>	<i>10</i>			
RBC:								
0d	x10 ⁶ /UI	7,90	7,95	7,94	7,90	0,226		
20d	"	8,41	8,43	8,10	8,13	0,216		
40d	"	8,41	8,52	8,84	8,76	0,244		
<i>Intera prova (0-40d)</i>	"	<i>8,24</i>	<i>8,30</i>	<i>8,29</i>	<i>8,26</i>	<i>0,193</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
WBC:								
0d	x10 ³ /UI	7,32	7,12	7,17	7,24	0,258		
20d	"	7,43	7,86	7,97	8,03	0,220		
40d	"	8,56	8,81	8,82	8,84	0,259		
<i>Intera prova (0-40d)</i>	"	<i>7,77</i>	<i>7,93</i>	<i>7,99</i>	<i>8,04</i>	<i>0,174</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
HGB:								
0d	g/dl	10,94	10,64	10,81	10,88	0,257		
20d	"	11,20	11,10	11,11	11,23	0,282		
40d	"	11,33	11,06	11,41	11,85	0,241		
<i>Intera prova (0-40d)</i>	"	<i>11,16</i>	<i>10,93</i>	<i>11,11</i>	<i>11,32</i>	<i>0,188</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
HCT:								
0d	%	29,86	30,19	31,17	30,26	0,773		
20d	"	30,25	30,28	28,99	29,05	0,783		
40d	"	29,84	30,05	29,92	29,96	0,700		
<i>Intera prova (0-40d)</i>	"	<i>29,98</i>	<i>30,17</i>	<i>30,03</i>	<i>29,76</i>	<i>0,530</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
MCV:								
0d	µ	33,00	33,20	33,80	32,80	0,816		
20d	"	31,90	30,90	30,10	32,70	0,650		
40d	"	30,60	30,70	30,50	29,10	0,721		
<i>Intera prova (0-40d)</i>	"	<i>31,83</i>	<i>31,60</i>	<i>31,47</i>	<i>31,53</i>	<i>0,556</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
MCH:								
0d	pg	11,88	11,76	11,49	11,65	0,304		
28d	"	10,86	10,70	11,90	11,04	0,362		
56d	"	11,75	11,49	11,91	11,77	0,271		
<i>Intera prova (0-56d)</i>	"	<i>11,50</i>	<i>11,32</i>	<i>11,77</i>	<i>11,49</i>	<i>0,220</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
MCHC:								
0d	g/dl	39,20	39,03	38,77	39,26	38,310		
20d	"	38,64	38,30	39,14	38,24	37,190		
40d	"	38,86	38,10	38,49	38,56	37,160		
<i>Intera prova (0-40d)</i>	"	<i>38,90</i>	<i>38,48</i>	<i>38,80</i>	<i>38,69</i>	<i>37,860</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
PLT:								
0d	x10 ³ /UI	324,50	334,70	322,30	306,40	18,487		
20d	"	327,90	347,30	337,10	362,10	19,101		
40d	"	364,40	353,70	383,70	381,70	15,144		
<i>Intera prova (0-40d)</i>	"	<i>338,93</i>	<i>345,23</i>	<i>347,70</i>	<i>350,07</i>	<i>11,746</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>

Tabella 5. Alcuni parametri dello stato ossidativo plasmatico in agnelli di razza Lacaune

Parametri	Gruppo T (controllo)	Gruppi sperimentali			ES	Effetto, P		
		I verbascoside somministrato: agnelli (0,90 mg/Kg p.v. ^{0,75} /giorno)	II verbascoside somministrato: alle madri (0,49mg/Kg p.v. ^{0,75} /giorno)	III verbascoside somministrato: alle madri (0,49mg/Kg p.v. ^{0,75} /giorno) agnelli (0,90 mg/Kg p.v. ^{0,75} /giorno)		G	T	GxT
<i>soggetti</i>	<i>n.</i>	<i>10</i>	<i>10</i>	<i>10</i>	<i>10</i>			
ROMs:								
0d	U/Carr	209,95	205,38 ^a	207,1 ^a	210,62 ^a	9,392		
20d	"	236,16 ¹	174,51 ^{2a}	197,77 ^{1,2a}	168,41 ^{2b}	9,551		
40d	"	240,51 ¹	133,75 ^{234b}	150,21 ^{3b}	110,78 ^{4c}	9,203		
<i>Intera prova (0-40d)</i>	"	<i>228,87¹</i>	<i>171,21²</i>	<i>185,03²</i>	<i>163,27²</i>	<i>8,347</i>	**	**
TBARS:								
0d	µmol/l	0,171 ^a	0,174 ^a	0,176 ^a	0,173 ^a	0,009		
20d	"	0,193 ¹	0,138 ^{2b}	0,158 ¹	0,130 ^{2b}	0,010		
40d	"	0,260 ^{1b}	0,093 ^{2c}	0,143 ^{2b}	0,095 ^{2c}	0,017		
<i>Intera prova (0-40d)</i>	"	<i>0,208¹</i>	<i>0,135²</i>	<i>0,159²</i>	<i>0,133²</i>	<i>0,010</i>	**	**
Vit E:								
0d	µg/ml	0,118	0,119 ^a	0,121 ^a	0,120 ^a	0,005		
20d	"	0,124 ¹	0,182 ^{2b}	0,150 ^{1a}	0,194 ^{2b}	0,007		
40d	"	0,118 ¹	0,276 ^{2c}	0,221 ^{3b}	0,279 ^{24c}	0,011		
<i>Intera prova (0-40d)</i>	"	<i>0,120¹</i>	<i>0,192²</i>	<i>0,164³</i>	<i>0,198^{2,4}</i>	<i>0,006</i>	**	**
Vit A:								
0d	µg/ml	0,152	0,154 ^a	0,157 ^a	0,155 ^a	0,004		
20d	"	0,148 ¹	0,221 ^{2b}	0,241 ^{2b}	0,228 ^{2b}	0,010		
40d	"	0,162 ¹	0,300 ^{2c}	0,315 ^{2,3c}	0,371 ^{3c}	0,015		
<i>Intera prova (0-40d)</i>	"	<i>0,154¹</i>	<i>0,225²</i>	<i>0,238²</i>	<i>0,252²</i>	<i>0,008</i>	**	*

Sulla stessa riga medie seguite da numeri diversi differiscono per P<0,05 (1,2,3)

Sulla stessa colonna medie seguite da lettere diverse differiscono per P<0,05 (a,b,c)

BIBLIOGRAFIA

Arcila-Lozano C.C., Loarca-Pina G., Lecona-Urbe S., Gonzales de Mejia E. (2004). Oregano: Properties, composition and biological activity. Arch Latinoam Nutr., 54, 100-111

Bampidis V.A., Christodoulou V., Florou-Paneri P., Christaki E., Spais A.B., Chatzopoulou P.S. (2005). Effect of dietary dried oregano leaves supplementation on performance and carcass characteristics of growing lambs. Animal Feed Science and Technology, 121, 285-295.

Basilico M.Z., Basilico J.C. (1999). Inhibitory effect of some spice essential oils on *Aspergillus ochraceus* NRRL3174 growth and ochratoxin A production. Lrtt. Appl. Microbio., 29, 238-241

Basu T.K., Dickerson J.W.T, 1996. Vitamin A . In: CAB International (Ed.), Vitamins in Human Health and Disease. Biddles Ltd, Guildford, UK, pp. 148-177

Bernabucci U., Ronchi, B., Lacetera N., Nardone A. (2005). Influence of body condition score on relationships between metabolic status and oxidative stress in periparturient dairy cows. J. Dairy Sci., 88, 2017-2026.

Bornez R., Linares M.B., Vergara H. 2008. Haematological, hormonal and biochemical blood parameters in lamb: effect of age and blood sampling time. Livestock Science, in press.

Botsoglou N., Taitzoglou I., Botsoglou E., Zervos I., Kokoli A., Christaki E., Nikolaidis E., 2009 Effect of long-term dietary administration of oregano and rosemary on the antioxidant status of rat serum, liver, kidney and heart after carbon tetrachloride-induced oxidative stress

Bozin B., Mimica-Dukic N., Simin N., Anackov G. 2006. Characterization of the volatile composition of essential oils of some lamiaceae spices and the antimicrobial and activities of the entire oils. *J. Agric. Food Chem.*, 8, 54, 1822-1828

Blomhoff R., 1994. Overview of vitamin A metabolism and function. In : Blomhoff, R. (Ed.), *Vitamin A in Health and Disease*. Marcel Dekker, New York, pp. 1-35

Capper J.L., Wilkinson R. G., Kasapidou E., Pattinson S. E., Mackenzie A.M., Sinclair L.A., 2005. The effect of dietary vitamin E and fatty acid supplementation of pregnant and lactating ewes on placental and mammary transfer of vitamin E to the lamb. *British Journal of Nutrition*, 93, 549-557

Casamassima D., Palazzo M., Presutti T., Colella G.E. 2009. Productive performances, plasmatic oxidative status and some blood parameters in suckling lambs supplemented with verbascoside. *Proc. A.S.P.A. XVIIIth Congress, Palermo June 9-12*, 668.

Casamassima D., Sevi A., Petazzi F., Rubino G. 1997. Quadro ematico di ovini di razze diverse allevati sulla Murgia Baraese. *Archivio Veterinario Italiano*, 48, 2/3 ottobre 1997.

Cesarone M.R., Belcaro G., Caratelli M., 1999. A simple test to monitor oxidative stress. *Int. Angiol.* 18, 127-130

Chen R., Su J., Yang S., Li J., Wang T., Zhou H., 2002. Effect of isoverbascoside, a phenylpropanoid glycoside antioxidant, on proliferation and differentiation of human gastric cancer cell. *Acta Pharmacol Sin* 23 (11), 997-1001

Choi EM, Hwang JK., 2005. Effect of some medicinal plants on plasma antioxidant system and lipid levels in rats. *Phytotherapy Research* 19, 382-386.

Chung et al., 1992. *J. Anim. Sci.*, 70, 2485-2490

Corino C., Rossi R., Musella M., Cannata S., Pastorelli G., 2007. Growth performance and oxidative status in piglets supplemented with verbascoside and teupolioside. *Ital. J. Anim. Sci.*, vol. 6 (Suppl. 1), 292-294

Cuzzocrea S., Riley D. P, Caputi A. P., Salvemini D., (2001). *Antioxidant therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation and ischemia/reperfusion injury*. *Pharmacol Rev* , 53, 135-159

Daels-Rakotoarison, D.A., Seidel V., Gressier B., Brunet C., Tillequin F., Bailleul F., Luyckx M., Dine T., Cazin M., Cazin J.C., 2000. Neurosedative and antioxidant activities of phenylpropanoids from *ballota nigra*. *Arzneimittelforschung* 50(1),16-23

Deepak M., Handa S.S., 2000. Antiinflammatory activity and chemical composition of extracts of *Verbena officinalis*. *Phytotherapy Research* 14 (6), 463-465

Dorman H.J., Surai P., Deans S.G. 2000. *In vitro* antioxidant activity of a number of plant essential oils and phytoconstituents. *J. essent. Oil res.*, 12, 241-248

Drackley J. K.. 1999. Biology of Dairy Cows During the Transition Period: the Final Frontier? *J Dairy Sci.* 82, 2259–2273.

Esterbauer H., Zollner H., 1989. Methods for determination of aldehydic lipid peroxidation products. *Free radical Biology and Medicine* 7, 197-203

Fidan A. F., Dundar Y. 2008. The effects of *Yucca schidigera* e *Quillaja saponaria* on DNA damage, protein oxidation, lipid peroxidation, and some biochemical parameters in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. of Diabetes and its Complications* 22, 348-356

Gao J.J, Igalashi K., Nukina M., 1999. Radical scavenging activity of phenylpropanoid glycosides in *Caryopteris incana*. *Bioscience Biotechnology & Biochemistry* 63 (6), 983-988.

Giannenas I., Florou-Paneri P., Christaki M.E., Botsoglou N.A., Spais A.B. 2003. Effect of dietary supplementation with oregano essential oil on performance of broilers after experimental infection with *Eimeria tenella*. *Arch Tierernahr*, 57, 99-106.

Goff J. 2003 – Managing the Transition Cow – Consideration for optimising energy and protein balance, and immune function. *Cattle Practice*. 11(2), 51-63

Goff J., Horst R. L., 1997. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorder. *J. Dairy Sci.* 80, 1260-1268

Grummer R.R. 1993. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 76, 3882-3896

Halliwell B. 1997. Antioxidants and human diseases: a general introduction. *Nutr. Rev.* 55, S44-52

Halliwell B., Gutteridge Jhon M. (1990). Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview *Methods in Enzymology* , 186, 1-85

Hatfield P.G., Robinson B.L., Minikhiem D.L., Kott R.W., Roth N.I., Daniels J.T., Swenson C.K., 2002. Serum α -tocopherol and immune function in yearling ewes supplemented with zinc and vitamin E. *J. Anim. Sci.* 2002, 80, 1329-1334

Hong-Yu Zhang, Da.Peng Yang, guang-Yan Tang (2006). *Multipotent antioxidants: from screening to design* *Drug Discovery Today*, 11, 749-754

Ji Li Li (1999). *Antioxidant and Oxidative Stress in Exercise* *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 222, 283-290

Kamiloglu N.N., Beytut E., Aksakal M. 2006. Alteration in antioxidant status and lipid peroxidation of sheep previously treated with Vitamin A and b-Carotene during breeding and periparturient period. *Bull Vet Inst Pulawy* 50, 171-177

Katiyar S.K. 2002. Treatment of silymarin, a plant flavonoid, prevents ultraviolet light-induced immune suppression and oxidative stress in mouse skin. *Int J Oncol.* 21, 1213-1222.

Kehrer J.P. (2000). *The Haber-Weiss reaction and mechanisms of toxicity* *Toxicology*, 149, 43-50

Kunvari M., Paska C., Laszlo M., Orfi L., Kovesdi I., Eros D., Bokonyi G., Keri G., Gyurjan I., 1999. Biological activity and structure of antitumor

compounds from *Plantago media* L. *Acta Pharmaceutica Hungarica* 69 (5), 232-239.

Lee K.W., Everts H., Kappert H.J., Yeom K.H., Beynen A.C. 2003. Dietary carvacrol lower body weight gain but improves feed conversion in female broiler chickens. *J. Appl. Poult. Res.*, 12, 394-399.

Li J.X., Xin D., Li H., Lu J.F., Tong C.W., Gao J.N., Chan K.M., 1999. Effect of verbascoside on decreasing concentration of oxygen free radicals and lipid peroxidation in skeletal muscle. *Chung-Kuo Yao Li Hsueh Pao- Acta Pharmacologica Sinica* 20 (2), 126-130.

Liu M., Li J., Guo H., Lee K., Qin L., Chan K., 2003. The effects of verbascoside on plasma lipid peroxidation level and erythrocyte membrane fluidity during immobilization in rabbits: a time course study. *Life Sciences* 73, 883-892

Manfredini S., Braccioli E., Buzzoni V., Virtuani S., 2003. Capacità antiossidante di prodotti derivanti dal frutto del Baobab (*Adansonia digitata*) in comparazione con altri frutti ed estratti vegetali. *Erboristeria Domani*, 52-59

Morrissey P.A. et al., 1994. *Proc. Nutr. Soc.*, 53, 289-295

Napoli J.L., 1999. Interactions of retinoid binding proteins and enzymes in retinoid metabolism. *Biochim. Biophys. Acta* 1440, 139-162

Neil Hogg, B. Kalyanaraman (1999). *Nitric oxide and lipid peroxidation. Review. Biochimica et Biophysica Acta* , 1411, 378-384

Nijveldt R.J., van Nood E., van Hoorn D.E., Boelens P.G., van Norren K., van Leewen P.A. 2001. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications *Am. J. Clin. Nutr.* 74:418-25

Olson J.A., 1984. Vitamin A. In: The Nutrition Foundation (Ed.), *Nutrition Review's Present Knowledge in Nutrition*, Washington DC, pp.177-191

Oravcova M., Margetin M., Peskovicova D., Dano J., Milerski M., Hetenyi L., Polak P. 2007. Factors affecting ewe's milk fat and protein content and relationships between milk yield and milk components. *Czech J. Anim. Sci.*, 52, (7): 189-198

Padayatti S., Katz A., Wang Y., Eck P., Kwon O., Lee J., Chen S., Corpe C., Dutta A., Dutta S., Levine M., 2003. Vitamin C as an antioxidant: Evaluation of its role in Disease Prevention . *Journal of the American College of Nutrition*, Vol. 22, No. 1, 18-35.

Pastorelli G., Salvatori G., Giorgi P., Oriani G., Pizzuti G., Corino C., 1995. Effetti dell'integrazione con livelli crescenti di vitamina E nel suino pesante in fase finale d'ingrasso. *Atti della Società Italiana delle Scienze Veterinarie*, 27-30 settembre, Volume XLIX, 849-850

Podsdek Anna, 2007. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT* 40, 1-11

Radwan N.L. 2003. Effect of using some medicinal plants on performance and immunity of broiler chicks. Ph.D. Thesis, Poult. Nutr. Dept. Fac. Agr. Cairo University

Radwan N., L., Hassan R.A., Qota E.M. and Fayek H.M., 2008. Effect of natural antioxidant on oxidative stability of eggs and productive and reproductive performance of laying hens. *International Journal of Poultry Science*, 7 (2): 134-150

Reynolds, P.C., Aikman, B., Lupoli, D.J., Humphries, D.E. Beever. 2003. Splanchnic metabolism of dairy cows during the transition from late gestation through early lactation. *J. Dairy Sci* 86, 1201-1217

Rico A.G., Braun J.P., Bénard P. 1976. Blood reference values in the lamb (Na, K, Ca, Mg, Cu, Zn, Cl, Urea, Total proteins, Creatinine, Uric acid, Alkaline Phosphatase, ALT, Cholesterol and Hemoglobin). *Ann. Rech. Veter.*, 7, (3), 241-252.

Riondel J., Wong H.K., Glise D., Ducros V., Favier A. 2002. The effect of a water-dispersible beta-carotene formulation on the prevention of age-related lymphoid neoplasms in mice. *Anticancer Res.* 22, 883-888.

Salvatori G., Maiorano G., Oriani G., Manchisi A., Pizzuti G., 1995. Effetti di somministrazioni in di DL- α -tocoferil acetato sull'assetto lipidico sierico e sui processi di lipoperossidazione nell'agnello. *Atti della Società Italiana delle Scienze Veterinarie*, volume XLIX, 27-30 settembre 1995

Savoini G., Agazzi A. (2003). Transition Cow: Nutritional Prophylaxis. *Veterinary Research CoGrummer RR.* (1993) Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76:3882–3896. *Communications.* 27 (Suppl. 1), 153–156

Sies H. 1991. *Oxidative stress.* Academic Press Ltd., Orlando, FL.

Simitzis P.E., Deligeorgis S.G., Bizelis J.A., Dardamani A., Theodosiou I., Fegeros K. 2008. Effect of dietary oregano oil supplementation on lamb meat characteristics. *Meat Sci.*, 79, 217-223.

Slatter D.A., Bolton C.H., Bailey A.J., 2000. The importance of lipid-derived malondialdehyde in diabetes mellitus. *Diabetologia* 43, 550-557.

SPSS (2009). SPSS for Window, vers. 10.0.7. SPSS Inc., Chicago, IL (USA).

Susca F., Sangalli L., Sgoifo Rossi C.A., Biondi P.A., Dell'Orto V. 2005. Determinazione della Malonaldeide nel plasma di bovini in fase di adattamento ed effetti della somministrazione con la dieta di fitoderivati. LIX Convegno Nazionale SiSVet, 21-24 Settembre 2005, Viareggio – Italia, 471-472

Toyokuni S., Tanaka T., Kawaguchi W., Fang NR., Ozeki M., Akatsuka S., Hiai H., Aruoma OI., Bahorun T., 2003. Effects of the phenolic contents of Mauritian endemic plant extracts on promoter activities of antioxidants enzymes. *Free. Rad. Res.*, 37, 1215-24

Urso M.L., Clarkson P.M. (2003). *Oxidative stress, exercise and antioxidant supplementation* Toxicology, 189, 41-54

Yousef M.I., Salem M.H., Kamel K.I., HassanG.A., El-Nouty. 2003. Influence of Ascorbic Acid Supplementation on the haematological and clinical biochemistry parameters of male rabbits exposed to Aflatoxin B₁. *J. of Environmental Science and Health, Part B*, 38 (2), 193-209

Wang Y., Douglas G.B., Waghorn G.C., Barry T.N., Foote A.G. 1996. Effect of condensed tannins in *Lotus corniculatus* upon lactation performance in ewes. *J. of Agricultural Science*, 126, 353-362.

Wang M., Grange L., Tao J., Reyes E. 1996. Hepatoprotective properties of *Silybum marianum* herbal preparation on ethanol-induced liver damage. *Fitoterapia*, 67:166-171

Zannoni M., Annibaldi S. (1981). Standardization of the renneting ability of milk by Formagraph. *Sci. Tec. Lattiero Casearia*, 32, 79-94.

Zhao B., Tham S., Lu J., Hoon Lai M., Lee L., Moochhala S. (2004). Simultaneous determination of vitamins C, E and β carotene in human plasma by high-performance liquid chromatography with photodiode-array detection. *J Pharm Pharmaceut Sci* , 7 (2): 200-204