

LO STRESS OSSIDATIVO NELLE PATOLOGIE CRONICHE DEL CANE E DEL GATTO

STATO DELL'ARTE, IMPLICAZIONI PRATICHE E SVILUPPI FUTURI

Nella ricerca scientifica veterinaria lo stress ossidativo e l'integrazione dietetica antiossidante stanno assumendo un ruolo sempre più di rilievo. L'obiettivo principale degli studi è quello di individuare e utilizzare composti di origine naturale che possano avere un effetto clinico mirato alla gestione di diverse patologie che interessano cane e gatto, con lo scopo di ridurre i dosaggi o potenziare gli effetti dei farmaci comunemente utilizzati per queste problematiche.

**A. Candellone*, P. Badino,
P. Gianella, F. Girolami,
V. Saettone, G. Meineri.**

Nel corso degli ultimi anni l'attenzione della comunità scientifica nei confronti del ruolo dell'integrazione dietetica antiossidante nell'alimentazione degli animali d'affezione è aumentata in modo esponenziale. Il numero dei trials *in vivo* volti a valutare gli effetti clinici e biochimici della somministrazione di nutraceutici ad azione antiossidante, assunti come singoli principi attivi o all'interno di una miscela, è cresciuto di conseguenza. L'interesse maturato attorno allo studio dello status ossidativo si è sviluppato a partire dal 1956 quando Harman postulò la cosiddetta "teoria dei radicali liberi", atta a spiegare i meccanismi alla base del processo di invecchiamento cellulare e di senescenza (Harman, 1956). Secondo Harman, le alterazioni cellulari e le modificazioni patologiche a carico dell'organismo in toto associate all'invecchiamento sarebbero da attribuirsi a un danno cumulativo, età dipendente, indotto dalle cosiddette "specie radicaliche". Le succitate specie radicaliche possono essere definite come "un gruppo eterogeneo di molecole, aventi almeno un elettrone spaiato nell'orbitale più esterno, capaci di sottrarre in determinate condizioni uno o più equivalenti riducenti (atomi di idrogeno o elettroni) ad altre specie chimiche" (Iorio, 2002). Il processo di perdita di un elettrone da parte di un composto viene definito comunemente come riduzione, mentre l'acquisizione dello stesso da parte di una seconda molecola viene definita ossidazione. Quando il processo di ossidazione e riduzione di due o più sostanze si verifica

nell'ambito della stessa reazione chimica si parla di reazione di ossido-riduzione o reazione redox. Le specie radicaliche maggiormente studiate sono le cosiddette ROS (*Reactive Oxygen Species* o Specie Radicaliche dell'Ossigeno), in cui l'elemento direttamente implicato nell'azione ossidante è l'ossigeno. La principale fonte di ROS nei mammiferi terrestri è rappresentata dai metaboliti derivanti dalla respirazione aerobica mitocondriale (Beckman, 1998), secondo il cosiddetto "paradosso dell'ossigeno" (Davies, 2006). Le specie radicaliche dell'ossigeno costituiscono pertanto normali prodotti del metabolismo cellulare e giocano un ruolo rilevante nell'economia generale dell'organismo (Gardes-Albert, 2006). Il radicale idrossile e l'anione superossido, per esempio, vengono comunemente utilizzati dai leucociti polimorfonucleati nella realizzazione del processo di fagocitosi batterica. Nel corso dell'evoluzione, gli animali si sono adattati a convivere con i ROS, difendendosi dal potenziale ruolo lesivo degli stessi mediante la realizzazione di un complesso sistema di difesa noto come "barriera plasmatica antiossidante". Tale meccanismo difensivo comprende sistemi enzimatici (es. enzima superossidodismutasi - SOD, catalasi - CAT, etc.) e non (bilirubina, glutatione), di provenienza endogena o esogena (es. vitamina C, polifenoli, etc.). In determinate condizioni, tuttavia, l'aumento incontrollato dei ROS a livello di alcuni tessuti o apparati e/o la diminuzione della capacità antiossidante dell'organismo possono indurre alterazioni a carico di molecole endogene (quali DNA, proteine, fosfolipidi di membrana) con generazione di una condizione di stress ossidativo e conseguente manifestazione clinica di malattia. Evidenze scientifiche crescenti dimostrano infatti come lo stress ossidativo (definibile come "uno squilibrio

tra meccanismi di difesa antiossidante e produzione di sostanze ad azione pro-ossidante") giochi un ruolo chiave nell'eziopatogenesi di numerose patologie infettive, infiammatorie, degenerative, neoplastiche e nel processo di senescenza (Zicker, 2006). Sebbene nel corso degli ultimi decenni la teoria dei radicali liberi poco sopra menzionata sia stata oggetto di rivisitazioni e critiche da parte di numerosi gruppi di ricerca dediti allo studio della relazione esistente tra stress ossidativo e longevità, una delle sue interpretazioni ancora in auge si basa sulla convinzione che i danni cellulari associati a malattie e senescenza possano essere mitigati attraverso la riduzione del numero di ROS prodotti (Zicker, 2006) e/o tramite l'incremento delle difese antiossidanti. Una strategia atta a perseguire tale scopo sarebbe pertanto quella di implementare l'assunzione dietetica di sostanze ad azione antiossidante.

Integrazione dietetica antiossidante: criticità, benefici e limiti

Sulla base delle sopraccitate considerazioni, il lettore potrebbe essere indotto a ritenere che l'aggiunta di sostanze ad azione antiossidante all'interno di un sistema biologico dovrebbe inequivocabilmente risultare in un rallentamento del processo di senescenza, in una maggiore longevità e in una riduzione dell'incidenza o della manifestazione clinica di malattia. I trials clinici volti a testare l'efficacia dell'integrazione dietetica antiossidante negli animali da affezione, tuttavia, risultano attualmente scarsi e forniscono, spesso, dati contrastanti o incompleti. Le spiegazioni a tale fenomeno possono essere molteplici e alcune verranno analizzate di seguito.

L'assorbimento e la biodisponibilità degli antiossidanti assunti per via orale, per esempio, rappresentano alcune variabili importanti



Nel corso degli ultimi anni l'attenzione della comunità scientifica nei confronti del ruolo dell'integrazione dietetica antiossidante nell'alimentazione degli animali d'affezione è aumentata in modo esponenziale.

nel determinare il risultato clinico di uno studio e non devono essere sovrastimate. Alcuni flavonoidi vegetali o altri composti fenolici sono caratterizzati da una solubilità e da un assorbimento limitato nel tratto gastroenterico, se paragonati ad altri nutraceutici dotati di maggiore lipo- o idrosolubilità (Carbonaro, 2005). Altri antiossidanti caratterizzati, comunemente, da elevato assorbimento ed elevata capacità distributiva possono tuttavia modificare la loro biodisponibilità in relazione a fattori esterni quali la composizione e il volume della dieta (Leonard, 2004). Lo studio di Leonard e coll., ha dimostrato, per esempio, come l'assorbimento della vitamina E somministrata in forma di capsule di gelatina fosse meno efficace quando il prodotto venisse assunto a digiuno. La somministrazione in concomitanza con il pasto e l'utilizzo di una base di cereali come veicolo risultavano invece in uno spiccato aumento della sua biodisponibilità.

Anche le trasformazioni metaboliche a carico degli antiossidanti assunti per os possono modificare notevolmente l'efficacia clinica dell'intervento di integrazione e tali trasformazioni posseggono, spesso, peculiarità specie-specifiche. Si consideri, come esempio, il gatto. La specie felina risulta infatti carente dell'enzima β -carotene 15,15'-diossigenasi atto a scindere il β -carotene (provitamina A) in due molecole retinaliche (vitamina A), biologicamente attive. Ne consegue come l'integrazione di vitamina A in tali animali debba essere effettuata partendo dalla forma attiva e non dal suo precursore. Sempre nel paziente felino è possibile riscontrare un rallentato metabolismo ed escrezione dell'acido lipoico, rispetto ad altre specie. Tale fenomeno è alla base dei fenomeni di epatotossicità del composto sopraccitato osservati nel gatto, quando somministrato a dosi superiori



Foto di R. Longo

Vitis vinifera. Dall'uva si ricava il resveratrolo

Ginkgo biloba



Foto di B. Agostinelli

i 30mg/kg, livelli invece normalmente tollerati nel cane e in altri animali (Hill, 2004).

Altri fattori capaci di interferire con il processo di assorbimento, distribuzione, metabolizzazione ed escrezione degli antiossidanti alimentari sono inoltre l'età, lo status fisiologico o patologico, la somministrazione contemporanea di altre molecole o principi attivi, etc. (Michels, 2003).

Un ulteriore limite che caratterizza gli studi relativi all'integrazione dietetica con antiossidanti è rappresentato dalla possibilità che il composto oggetto di studio possa essere caratterizzato da meccanismi d'azione più ampi rispetto a quelli tradizionalmente ritenuti validi. Il resveratrolo, per esempio, un composto polifenolico derivante dall'uva rossa, non solo possiede una spiccata attività antiossidante, ma sembra capace di interagire con il gene SIRT2, che codifica per l'enzima sirtuina-deacetilasi 2 NAD-dipendente, mimando gli effetti di una restrizione calorica e risultando in un prolungamento del ciclo cellulare (Howitz, 2003). Ne consegue che gli effetti biochimici e clinici secondari all'integrazione con nutraceutici possano essere maggiori, differenti o difficilmente prevedibili rispetto a quelli ipotizzati sulla base della sola attività antiossidante.

In ultimo, ma non per importanza, vanno menzionate le difficoltà nell'oggettivare, mediante misurazioni biochimiche, le variazioni dei parametri di stress ossidativo e capacità antiossidante nell'organismo. Al momento attuale, infatti, non esiste in medicina veterinaria un test univoco e universalmente accettato per la valutazione dello status ossidativo. Sebbene differenti markers siano stati proposti e utilizzati in ambito sperimentale (es dROMs, TBARS, AOPP, isoprostani, malondialdeide, etc.), (Abuelo, 2011; Castillo, 2012; Celi, 2015), i dati a nostra disposizione appaiono ancora limitati e

una definizione di precisi ranges di riferimento specie-specifici, età specifici o patologia-specifici appare ancora lontana.

Implicazioni pratiche nella gestione nutrizionale delle patologie del cane: facciamo il punto

Esposte le opportune considerazioni in merito ai limiti e alle difficoltà nell'interpretare i risultati dei trials clinici oggetto di pubblicazione, non resta che analizzare i possibili risvolti pratici relativi all'integrazione dietetica antiossidante negli animali da affezione, al fine di fornire al clinico alcune indicazioni utili alla gestione delle più comuni patologie. Si riporta, a titolo di esempio, i risultati di alcuni trials recenti riguardanti l'utilizzo di nutraceutici nella gestione dell'ipertiroidismo felino, della malattia renale cronica, dell'osteoartrite e della sindrome da disfunzione cognitiva del cane.

a) Ipertiroidismo felino e stress ossidativo. La valutazione dello squilibrio redox in corso di patologie metaboliche rappresenta il principale filone di ricerca dell'autore. Recenti trials clinici hanno dimostrato per la prima volta come lo stress ossidativo e la deplezione delle difese antiossidanti endogene siano presenti in corso di ipertiroidismo felino e come tale squilibrio sia maggiore se paragonato ad altre patologie croniche non tiroidee (Candellone *et al.*, 2019). L'integrazione dietetica di sostanze ad azione antiossidante (quercetina, curcumina, resveratrolo e vitamina E) durante la gestione terapeutica di gatti ipertiroidici trattati con metimazolo (trial clinico a doppio cieco con gruppo di controllo) si è inoltre dimostrata efficace nel ridurre gli effetti collaterali associati alla somministrazione del farmaco ad azione anti-tiroidea, a ridurre la dose media del farmaco utilizzata durante il trial, a ristabilire l'equilibrio redox e a svolger-

re azione epato e nefroprotettiva (Candellone *et al.*, 2019).

b) Una condizione di stress ossidativo è frequentemente associata allo sviluppo e alla progressione del danno renale acuto e cronico nel cane (Lee, 2006). Le linee guida IRIS per la gestione del paziente affetto da malattia renale cronica (CKD) suggeriscono come la somministrazione di una dieta "renale" in quei soggetti classificati come Stadio IRIS 3 e 4 rappresenti una raccomandazione supportata da forti evidenze scientifiche (IRIS Guidelines, 2015). Un recente studio condotto da Hall e coll., sembrerebbe inoltre identificare nell'integrazione dietetica antiossidante un fattore capace di prevenire il deterioramento della funzionalità renale in cani anziani non azotemici (Hall, 2016). Nello specifico, lo studio prospettico era volto a valutare la risposta biochimica a breve termine secondaria alla somministrazione di una dieta test, caratterizzata da proteine di elevato valore biologico, tenore limitato di sodio e integrata con lipidi funzionali (olio di pesce), antiossidanti (acido lipoico, vitamina C ed E), fitoderivati e L-carnitina, paragonata alla risposta ottenuta in cani alimentati con una dieta non controllata e scelta dal proprietario. I soggetti appartenenti ai due gruppi (dieta tests vs dieta non controllata) venivano monitorati dal punto di vista clinico e biochimico dopo 3 e 6 mesi dall'inizio del trial dietetico, mediante la misurazione di parametri quali creatinina sierica, BUN e SDMA. Solo i cani alimentati con la dieta test manifestavano una significativa riduzione dei valori di SDMA e creatinina nel corso del periodo di osservazione. I risultati della presente ricerca sembrerebbero pertanto suggerire come anche in soggetti non azotemici, ma con valori di SDMA elevati (indicativi di insufficienza renale in fase precoce; CKD Stadio IRIS 1 e 2)

la somministrazione di una dieta integrata con sostanze ad azione antiossidante possa svolgere un effetto reno-protettivo, rallentando la comparsa o la progressione della CKD.

c) L'osteoartrosi (OA) è una patologia infiammatoria cronica, degenerativa, lentamente progressiva che assume caratteristiche cliniche, eziologiche e istopatologiche simili in uomo e cane. Essa appare caratterizzata da fenomeni di rimaneggiamento della cartilagine articolare con produzione, da parte di sinoviociti e macrofagi sinoviali, di una vasta gamma di mediatori chimici dell'infiammazione e di ROS (Johnson, 1997). Uno studio condotto da Rhouma *et al.* su modello canino, con OA chirurgicamente indotta, eviden-

zia come l'integrazione dietetica con vitamina E a elevate dosi sia capace di ridurre i markers sinoviali di infiammazione (PGE2, NOx), la gravità delle alterazioni istologiche e il dolore associato alla progressione della malattia.

d) Anche i cani affetti da sindrome da disfunzione cognitiva sembrano poter beneficiare dell'arricchimento dietetico con sostanze neuroprotettive. Cani di razza beagle di età superiore ai 7 anni sono stati selezionati da Araujo e coll. (Araujo, 2008) per uno studio atto a valutare gli effetti dell'integrazione alimentare con *Ginkgo biloba*, resveratrolo, fosfatidilserina e vitamina E sulla memoria a breve termine. I soggetti sono stati tutti sottoposti al varDNMP (*variable delayed-non-matching-to-posi-*

tion), un test neuropsicologico standardizzato, che consente la valutazione oggettiva di eventuali deficit mnemonici, oggi considerati indicatori precoci di invecchiamento cerebrale. "I cani sono stati suddivisi in due gruppi tra loro equivalenti per capacità mnemoniche iniziali. Uno di questi (gruppo dei trattati) assumeva il nutraceutico neuroprotettore a base di fosfatidilserina (PS) per 70 giorni. Alternativamente, l'altro gruppo (gruppo di controllo) riceveva solo una polpetta di carne. Successivamente, i due gruppi venivano invertiti, e la seconda fase dello studio procedeva secondo modalità identiche alla prima, con la valutazione della performance mnemonica negli ultimi 10 giorni del trattamento." L'analisi dei risultati dimostrava come "la

PURA BONTÀ A ZERO GLUTINE!

Dal 1978, Probios il biologico etico tra storia, passione e cura della terra







Non soffermarti alle apparenze.
Fai una scelta consapevole,
 valuta con attenzione ciò che leggi sulla confezione.



WWW.PROBIOS.IT
 SEGUICI SU 

memoria a breve termine migliorava significativamente rispetto al basale solo nei soggetti trattati con l'integratore alimentare. Confrontando le due fasi dello studio, i soggetti trattati prima con l'integratore – e poi con il controllo – mantenevano il picco di performance raggiunto durante il trattamento. Viceversa, i cani trattati prima con il controllo – e poi con l'integratore – miglioravano significativamente solo nella seconda fase dello studio". Non bisogna dimenticare, tuttavia, come l'utilizzo di sostanze nutraceutiche non sia scevra da rischio.

In letteratura, infatti, molteplici sono i *case reports* riportanti effetti avversi o reazioni idiosincrasiche derivanti dalla somministrazione di composti fitoterapici nel cane e nel gatto. A titolo esemplificativo si riporta il caso di un Carlino, femmina, di 11 anni di età condotto a visita clinica per la comparsa di anoressia, letargia, vomito e poliuria/polidipsia. L'esame fisico e gli esami emato-biochimici apparivano suggestivi di una insufficienza epatica e l'anamnesi alimentare riportava la recente integrazione dietetica con un prodotto contenente un'alga verde-azzurra. Gli esami tossicologici condotti sul prodotto incriminato rivelavano la presenza di elevate concentrazioni di microcistina epatotossica (Bautista, 2015).

Conclusioni

La presente rassegna testimonia come, nel corso degli ultimi anni, lo stress ossidativo e l'integrazione dietetica antiossidante abbiano assunto un ruolo importante nell'ambito della ricerca scientifica veterinaria. Obiettivo di tale filone di ricerca è quello di identificare composti ad azione antiossidante capaci di avere effetto clinico mirato nella gestione delle principali patologie del cane e del gatto, al fine di ridurre i dosaggi o potenziare gli effetti dei farmaci

tradizionalmente utilizzati. Sebbene i dati qui riportati testimonino un effetto benefico correlato all'assunzione di sostanze antiossidanti, ulteriori studi risultano necessari al fine di rispondere ai numerosi interrogativi rimasti attualmente senza risposta inerenti, per esempio, i differenti meccanismi d'azione, le interazioni e i possibili effetti collaterali delle diverse sostanze ad azione antiossidante.

* **UNIVERSITÀ DI TORINO,**
Dipartimento di Scienze Veterinarie

Bibliografia

1. Anderson DK, Waters TR, Means ED. Pretreatment with alpha tocopherol enhances neurologic recovery after experimental spinal cord compression injury. *J Neurotrauma* 1988;5:61-7.
2. Association of the American Feed Control Officials (AAFCO) official publication. 2006
3. Beekman KB, Ames BN. The free radical theory of aging matures. *Physiol Rev* 1998;78: 547-81.
4. Candellone A, Gianella P, Ceccarelli L, et al. Redox imbalance in the hyperthyroid cat: a comparison with healthy and non-thyroidal diseased cats. *BMC Vet Res*. 2019;159(1):136.
5. Carbonaro M, Grant G. Absorption of quercetin and rutin in rat small intestine. *Ann Nutr Metab* 2005;49:178-82.
6. Combs GF, Vitamin A. In: The vitamins: fundamental aspects in nutrition and health. 2nd edition. San Diego (CA): Academic Press; 1998. p. 107-53.
7. Goldstein BJ, Mahadev K, Wu X, et al. Role of insulin-induced reactive oxygen species in the insulin signaling pathway. *Antioxid Redox Signal* 2005;7:1021-31.
8. Hacquebard M, Carpentier YA. Vitamin E: absorption, plasma transport and cell uptake. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2005;8:133-8.
9. Hall JA, Tooley KA, Gradin JL, et al. Effects of dietary n-6 and n-3 fatty acids and vitamin E on the immune response of healthy geriatric dogs. *Am J Vet Res* 2003;64:762-72.
10. Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol* 1956;11:298-300.
11. Harris PL, Embree ND. Quantitative consideration of the effect of polyunsaturated fatty acid content of the diet upon the requirements for vitamin E. *Am J Clin Nutr* 1963;13:385-92.
12. Hayek MG, Massimino SP, Burr JR, et al. Dietary vitamin E improves immune function in cats. In: Reinhart GA, Carey DP, editors. Recent advances in canine and feline nutrition, vol. III. Wilmington (OH): Orange Frazer Press; 2000. p. 555-63.
13. Hayes KC, Nielsen SW, Rousseau JE Jr. Vitamin E deficiency and fat stress in the dog. *J Nutr* 1969;99:196-209.
14. Hill AS, O'Neill S, Rogers QR, et al. Antioxidant prevention of Heinz body formation and oxidative injury in cats. *Am J Vet Res* 2001;62:370-4.
15. Hill AS, Werner JA, Rogers QR, et al. Lipoic acid is 10 times more toxic in cats than reported in humans, dogs or rats. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 2004;88:150-6.
16. Howitz KT, Bitterman KJ, Cohen HY, et al. Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan. *Nature* 2003;425:191-6.
17. Hughes G, Murphy MP, Ledgerwood EC. Mitochondrial reactive oxygen species regulate the temporal activation of nuclear factor kappaB to modulate tumour necrosis factor-induced apoptosis: evidence from mitochondria-targeted antioxidants. *Biochem J* 2005;389(Pt 1): 83-9.
18. Iorio. Le specie chimiche ossidanti. <https://osservatoriostressossidativo.com/le-specie-chimiche-ossidanti/>. Accessed on 01 Jan 2017.
19. Jewell DE, Yu S, Joshi DK. Effects of serum vitamin E levels on skin vitamin E levels in dogs and cats. *Vet Ther* 2002;3:235-43.
20. Leonard SW, Good CK, Gugger ET, et al. Vitamin E bioavailability from fortified breakfast cereal is greater than that from encapsulated supplements. *Am J Clin Nutr* 2004;79:86-92.
21. Meydani SN, Hayek M, Wu D, et al. Vitamin E and immune response in aged dogs. In: Reinhart RA, Carey DP, editors. Recent advances in canine and feline nutrition, vol. II. Wilmington (OH): Orange Frazer Press; 1998. p. 295-303.
22. Michels AJ, Joisher N, Hagen TM. Age-related decline of sodium-dependent ascorbic acid transport in isolated rat hepatocytes. *Arch Biochem Biophys* 2003;410:112-20.
23. National Research Council. Nutrient requirements of dogs and cats. Washington (DC): National Academy Press; 2006.
24. Piercy RJ, Hinchcliff KW, Morley PS, et al. Association between vitamin E and enhanced athletic performance in sled dogs. *Med Sci Sports Exerc* 2001;33:826-33.
25. Scott KC, Hill RC, Lewis DD, et al. Effect of alpha-tocopheryl acetate supplementation on vitamin E concentrations in Greyhounds before and after a race. *Am J Vet Res* 2001;62: 1118-20.