



FEDERAZIONE SISVET
Società Italiana delle Scienze Veterinarie

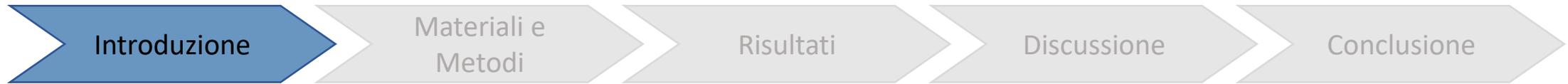


Endogenous symmetric dimethylarginine (SDMA) and asymmetrical dimethylarginine (ADMA) levels in healthy cows and cows affected by subclinical and clinical mastitis

Irene Ciabattini^{1,2}, Giulia Sala^{1,2}, Chiara Orsetti^{1,2}, Valentina Meucci², Lucia De Marchi², Micaela Sgorbini^{1,2}, Francesca Bonelli^{1,2}

¹Department of Veterinary Sciences, University of Pisa, via Livornese s.n.c., San Piero a Grado, 56122, Italy

²Centro di Ricerche Agro-ambientali "E. Avanzi", University of Pisa, San Piero a Grado (PI), 56122, Italy



ADMA

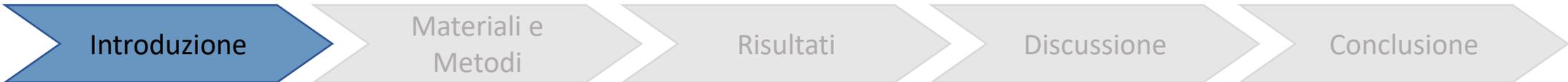
- Aminoacido endogeno con azione di inibizione diretta della sintesi dell'ossido nitrico (NO) (Teerlink 2009).

SDMA

- Isomero strutturale dell'ADMA, agisce in maniera indiretta inibendo NO (Teerlink 2009).

NO è un radicale libero gassoso che deriva dal catabolismo dell'L-arginina da parte dell'ossido nitrico sintasi (NOS). NO ha azione antimicrobica agendo sul metabolismo batterico e su strutture target per i batteri (Jones-Carson et al., 2008; Savidge et al., 2011).

L'inibizione di NO data da ADMA e SDMA contribuisce ad aumentare lo stress ossidativo e la risposta infiammatoria.



Introduzione

Materiali e
Metodi

Risultati

Discussione

Conclusione

Nell'uomo ADMA è stato correlato con disfunzioni cardiocircolatorie e rischio di morte (O'Dwyer et al., 2006; Davis et al., 2011; Aydemir et al., 2015); mentre SDMA con disfunzioni renali (Kielstein et al., 2006).

Nelle specie veterinarie ADMA e SDMA sono studiate in diverse patologie come l'endometrite in ratti (Xiao et al., 2018), rigurgito mitrale nel cane (Pedersen et al., 2005) e insufficienza renale nel cavallo (Van Galen et al., 2022).

Nel bovino non molti studi hanno messo in relazione i due biomarker con la mastite (Ametaj et al., 2018; Zwierzchowski et al., 2020; Haxhiaj, 2021; Zhang et al., 2022; Zwierzchowski et al., 2024) e la maggior parte di questi utilizza come fluido biologico di analisi le urine anziché il sangue.

Introduzione

Materiali e
Metodi

Risultati

Discussione

Conclusione

MASTITE

Inflammation della
ghiandola mammaria

Cause infettive o non infettive

Prevalenza della forma
subclinica

Costi
Benessere animale
Utilizzo di antibiotici

Introduzione

Materiali e
Metodi

Risultati

Discussione

Conclusione

Scopo dello studio

Valutare la concentrazione plasmatica di SDMA e ADMA in bovine sane (H) e affette da mastite subclinica (SCM) o clinica (CM)

Organismo Preposto al Benessere Animale dell' Università di Pisa (Protocollo N: 18/2023 del 19.04.2023)

Introduzione

Materiali e
Metodi

Risultati

Discussione

Conclusione

Incluse 196 bovine adulte di razza Frisona Italiana appartenenti al Centro di Ricerche Agro-Ambientali "E. Avanzi" dell'Università di Pisa, sottoposte a:



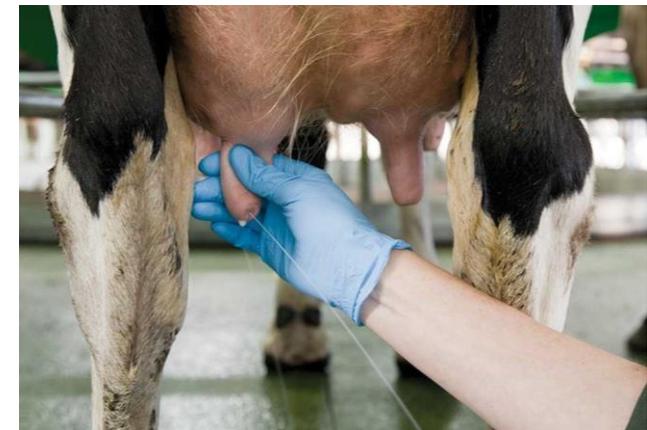
UNIVERSITÀ DI PISA
Centro di Ricerche
Agro-Ambientali
Enrico Avanzi

- California Mastitis Test (CMT)
- Conta cellule somatiche (SCC)
- Visita clinica

CMT>1 e SCC> 150 000 cell/mL primipare
o SCC> 250 000 cell/mL pluripare

→ Sane vs patologiche

→ Mastite subclinica vs clinica



Introduzione

Materiali e
Metodi

Risultati

Discussione

Conclusione

In base ai risultati di CMT, SCC e visita clinica gli animali sono stati suddivisi in:



96 gruppo sane (H)



58 gruppo mastite subclinica (SCM)



42 gruppo mastite clinica (CM)

Introduzione

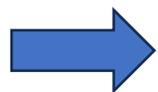
Materiali e
Metodi

Risultati

Discussione

Conclusione

- Prelievo ematico dalla vena coccigea in provette litio eparina
- Centrifugazione a 3000 rpm per 10 minuti
- Divisione in 2 aliquote per ogni campione
- Stoccaggio aliquote in congelatore -80°C fino a processazione
- Processazione campioni di plasma con metodo a cromatografia liquida ad alta performance (HPLC) (Teerlink, 2007) per quantificazione SDMA e ADMA presso Lab. Farmacologia e Tossicologia Veterinaria, DSV, Università di Pisa



**SDMA
ADMA**

Introduzione

Materiali e
Metodi

Risultati

Discussione

Conclusione



STATISTICA

- Test Shapiro-Wilk, ottenuti dati non normalmente distribuiti
- Test Kruskal-Wallis per le differenze tra gruppi e correzione post-hoc di Bonferroni
- Cut-off per ADMA calcolato con curva ROC e AUC
- Significatività $p\text{-value} < 0,05$

Software statistico: SPSS v. 29

Introduzione

Materiali e
Metodi

Risultati

Discussione

Conclusione

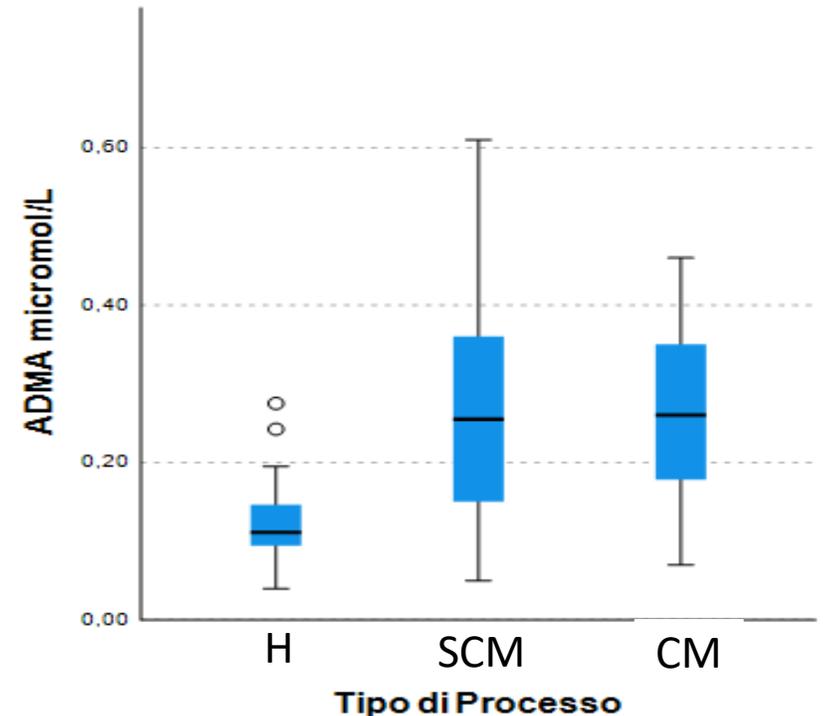
- Per ADMA plasmatico differenze statisticamente significative sono state riscontrate tra i gruppi H e SCM ($p < 0.001$) e tra i gruppi H e CM ($p < 0.001$).
- Non sono state individuate differenze per ADMA plasmatico tra i gruppi SCM e CM.

ADMA (mcmol/L)	Healthy	Subclinical mastitis	Clinical mastitis
25% Percentile	0.09	0.15	0.18
Median	0.11	0.26	0.26
75% Percentile	0.15	0.37	0.36

Tabella: risultati relativi alla concentrazione di ADMA espressa in micromol/L nei gruppi di soggetti sani (H), affetti da mastite subclinica (SCM) e da mastite clinica (CM).

Grafico: diagramma Box-Plot delle concentrazioni plasmatiche di ADMA (micromol/L). Legenda: H: sane; SCM: mastite subclinica; CM: mastite clinica; ○: outliers.

Test di Kruskal-Wallis a campioni indipendenti



Introduzione

Materiali e
Metodi

Risultati

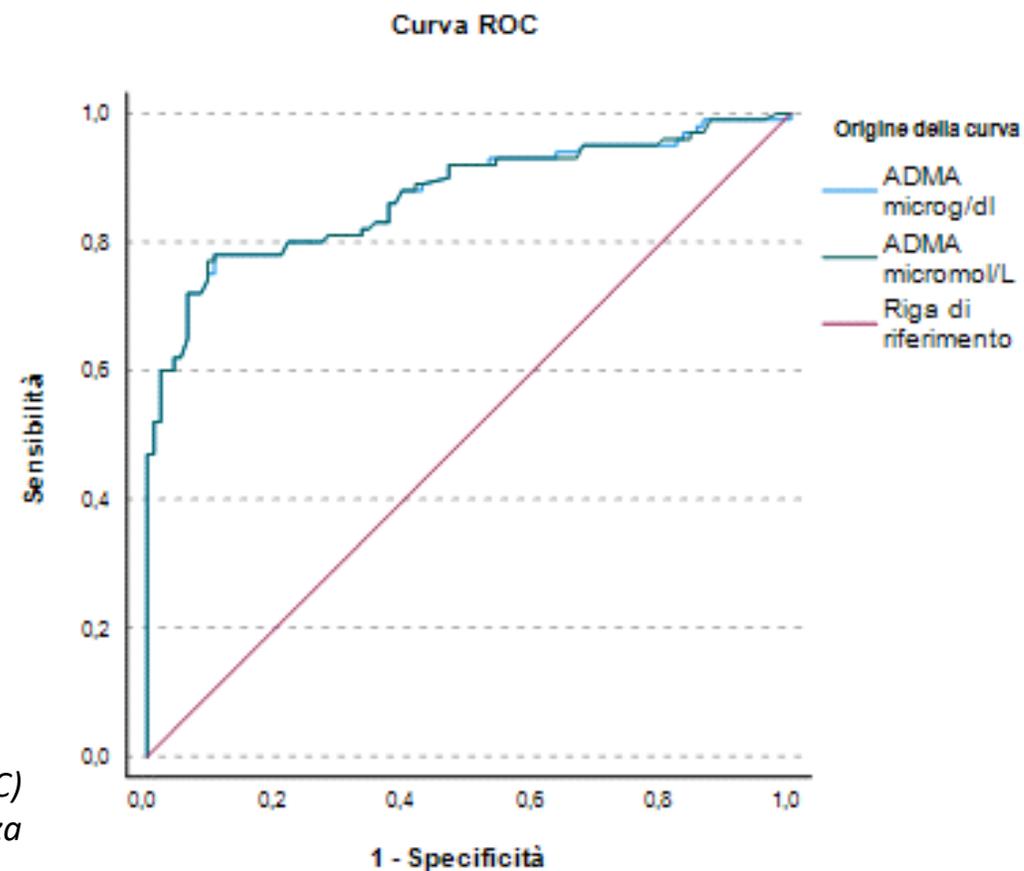
Discussione

Conclusione

ADMA (micromol/L):

- Cut-off $\rightarrow >0,164$ micromol/L
- AUC $\rightarrow 0,872$ (CI 0,821; 0,923)
- Se $\rightarrow 80,41\%$ (CI 71,11; 87,78%)
- Sp $\rightarrow 77,78\%$ (CI 68,31; 85,52%)

Grafico: Receiver Operating Characteristic (ROC) e area sotto la curva (AUC) per la soglia ottimale di ADMA al fine di discriminare la presenza o l'assenza di mastite.



Introduzione

Materiali e
Metodi

Risultati

Discussione

Conclusione

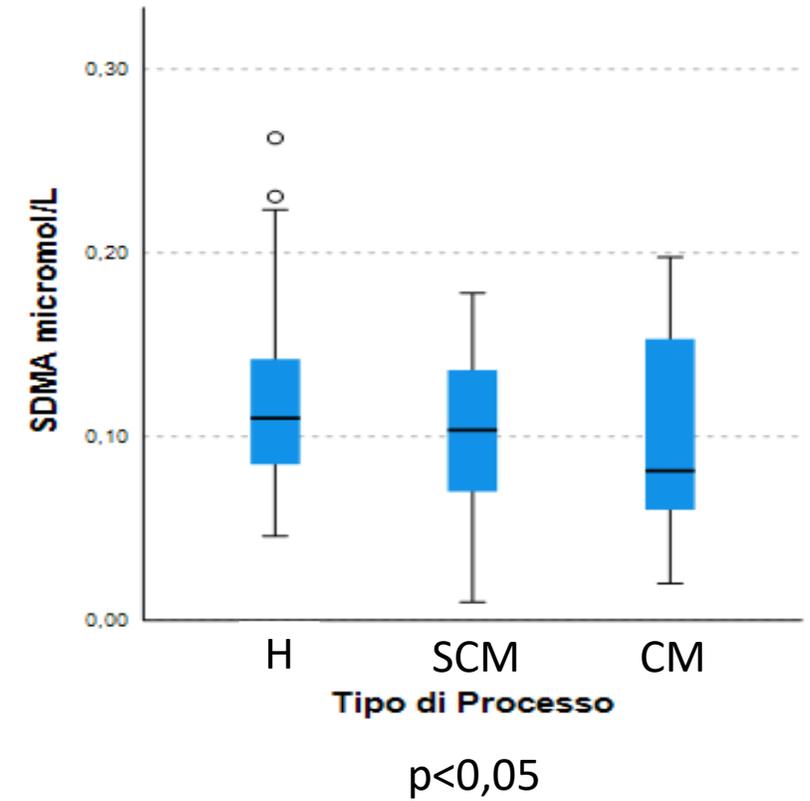
- Per SDMA plasmatico non sono state riscontrate differenze significative tra nessun gruppo di studio.

SDMA (mcmo/L)	Healthy	Subclinical mastitis	Clinical mastitis
25% Percentile	0.08	0.07	0.06
Median	0.11	0.10	0.08
75% Percentile	0.14	0.14	0.15

Tabella: Risultati relativi alla concentrazione di SDMA espressa in micromol/L nei gruppi di soggetti sani (H), affetti da mastite subclinica (SCM) e da mastite clinica (CM).

Grafico: diagramma Box-Plot delle concentrazioni plasmatiche di SDMA (micromol/L). Legenda: H: sane; SCM: mastite subclinica; CM: mastite clinica; ○: outliers.

Test di Kruskal-Wallis a campioni indipendenti



Introduzione

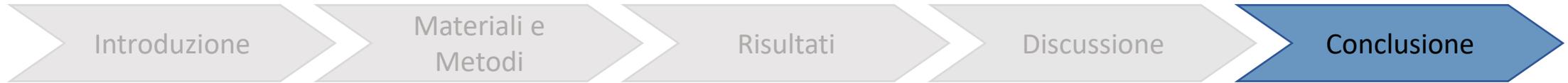
Materiali e
Metodi

Risultati

Discussione

Conclusione

- ADMA: Differenza statisticamente significativa tra animali sani e patologici (aumento nei gruppi SCM e CM)
- No cut-off in letteratura
- Differente matrici: Plasma vs. Urine (Ametaj et al., 2018; Zwierzchowski et al., 2020; Haxhiaj, 2021; Zwierzchowski et al., 2024)
- Differente metodo analitico: HPLC vs. metabolomica targeted (Zhang et al. 2022)



- ADMA plasmatico differisce tra animali sani e patologici. Se e Sp ottenute indicano buona accuratezza diagnostica.



Possibile utilizzo come biomarker di diagnosi

- Nessuna differenza tra gruppi per SDMA plasmatica



Necessari ulteriori studi





Dott.ssa Irene Ciabattini, DVM

*VTH "M. Modena", Department of Veterinary Sciences,
University of Pisa*

Via Livornese, 786, 56122, San Piero A Grado (PI), Italy

Email: irene.ciabattini@vet.unipi.it