

OXIDATIVT STRESS OG INFLAMMATION HOS HØJPRODUKTIVE SØER OG PATTEGRISE

Fodringsseminar 23. April, 2024



OXIDATIVT STRESS – HVORFOR I FOKUS?

- Avl efter høj produktivitet (høj tilvækst/mange grise) giver øget risiko for oxidativt stress
- Sygdomstilstande, som ledsages af inflammation
- Øget stress generelt, f.eks. intensive produktionsmiljøer
- Varmestress samt andre påvirkninger fra miljøet
- Foderets kvalitet, herunder foderfedtet og dets sammensætning (f.eks. fiskeolie i forhold til oliven olie (Shen et al., Lipids (2015) 50:647–658, 2015)

Tidlig reproduktion
Fostertilvækst 2.-3.
trimester

Faring + transition
fra foster til nyfødt

Den diegvende so
Pattegrisen

Hvordan håndterer vi det med antioxidativ beskyttelse via foderet?

DEFINITION AF OXIDATIVT STRESS

'Helmuth Sies definerer (i 1985) oxidativt stress:

Enhver ubalance mellem dannelsen af reaktive oxygen stoffer (ROS) og deres neutralisering med antioxidanter.

Meget litteratur er udviklet i forhold til humane sygdomme, og måling af sygdomsrelateret oxidativt stress er vigtig - men vi ved ikke, om O.S. er årsag eller konsekvens!



Kilde: Angelo Azzi, 2022, *Antioxidants*. Figur mod. e. Godwin, T. and Christofidou-Solomidou, *Int. J. Mol. Sci.* 2018

DEFINITION AF OXIDATIVT STRESS

Ifølge Sies & Joes, **2020** (*Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 21) skelnes mellem:

- **Oxidativt ‘Eustress’**, som omfatter minimum mængden af oxidant produktion, som er essentiel for livsprocesser gennem redox signalering
- **Oxidativt ‘Distress’**, som omfatter overeksponering af oxidanter, som resulterer i ikke-specific oxidation af biomolekyler og ødelæggelse af redox signalering

Det er ikke et spørgsmål om enten/eller, idet der er variationer indenfor disse begreber

UDVIKLING AF OXIDATIVT STRESS I LEVENDE ORGANISMER

- Essentiel del af den metaboliske aktivitet (anabolisme og katabolisme), som finder sted i organismer
- Oxidationsprocesser giver energi, og hjælper også i cellernes forsvarsmekanismer
- **ROS** og **RNS** udvikles fra hhv. **reaktive oxygen stoffer** og **reaktive nitrogen stoffer** og er de mest hyppige grupper af frie radikaler i biologiske systemer

Hos mennesket omdannes >5% af den inhalerede molekylære oxygen til ROS, nemlig superoxid, hydrogenperoxid og hydroxyl radikaler

Alle celler og væv (dvs. inkl. tarm, muskler og fedtvæv) under aerobe betingelser er under konstant trussel for ROS overeksponering. Men heldigvis er væv og celler effektivt beskyttet mod ødelaeggelse fra frie radikaler ved det '**antioxidative forsvarssystem**'

INFLAMMATION

Er en uspecifik reaktion på skadelige stimuli

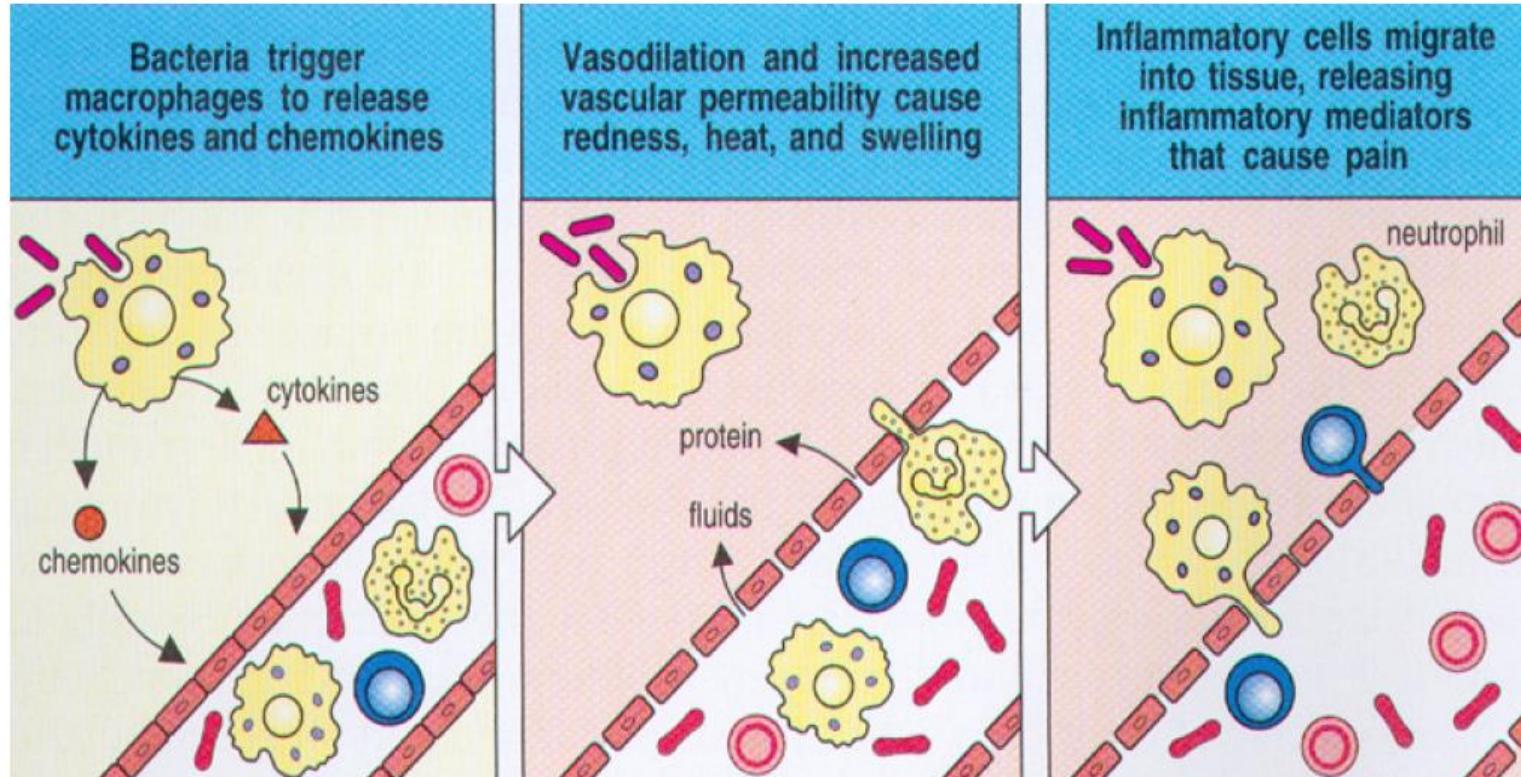
Rødmen, hævelse, smerte og varme på infektionsstedet

Molekylære mediatorer af inflammationen er proteiner der kaldes **chemokiner og cytokiner**

- En effektiv inflammation isolerer og begrænser vævsødelæggelse
- Inflammation kan resultere i betragtelig ødelæggelse af sundt væv

Aktivering af immunsystemet inducerer inflammation f.eks. under en infektion, eller ved lækage af den naturlige mikroflora; toxiner, men også næringsstoffer

INFEKTIONER UDLØSER INFLAMMATIONSRESPONS



1. Release of inflammatory mediators

2. Vasodilation and vascular permeability

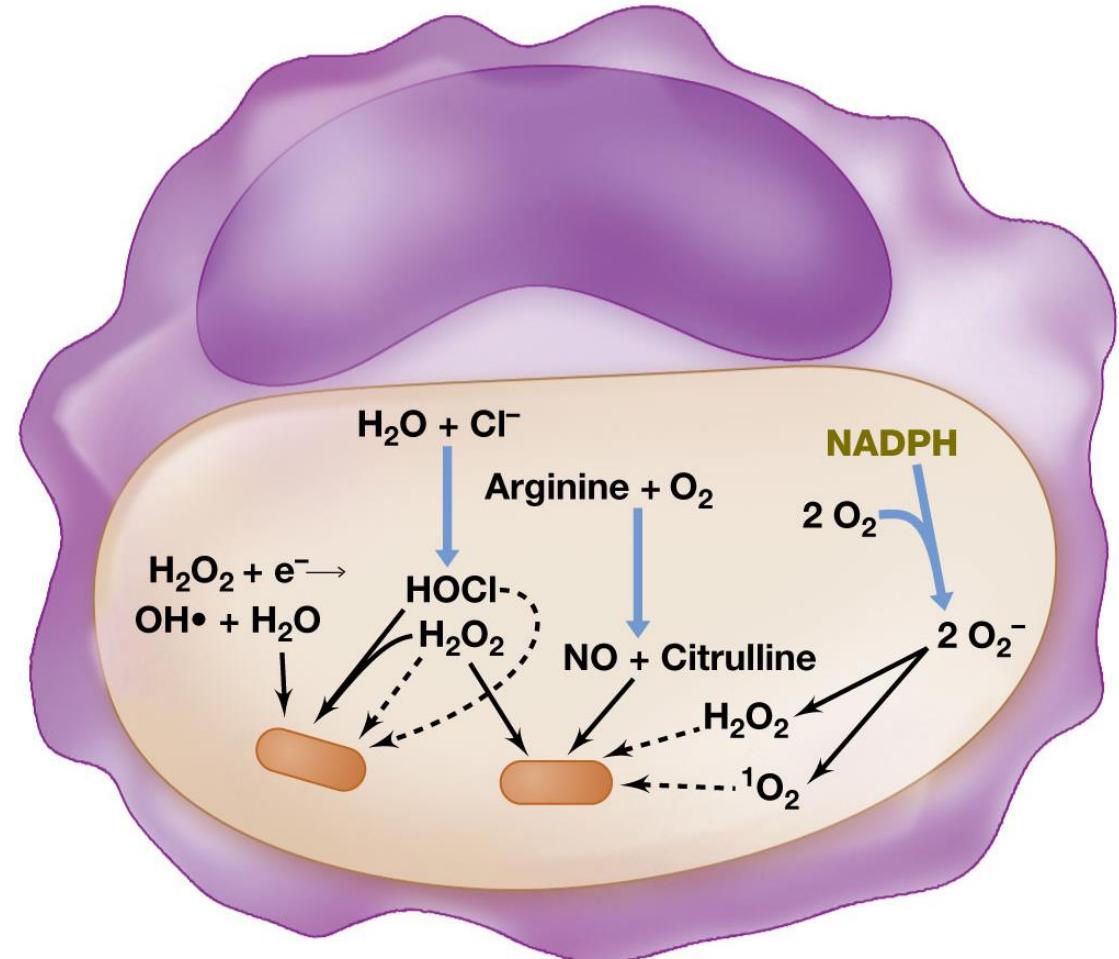
3. Influx of phagocytes



DET MEDFØDTE IMMUNRESPONS

Aktivering af særige gener i fagocytter fremmer deres fagocytotiske og patogen-dræbende evner

- Fagocytotiske celler bruger **giftigt oxygen** (= **ROS**) til at dræbe indtagne bakterielle celler ved at oxidere deres nøglecellulære dele
- Forekommer indeni fagocytotiske celler, som ikke ødelægges af de giftige oxygen produkter



INFLAMMATION OG OXIDATIVT STRESS

- Søer kan have systemisk og lokal inflammation:
 - Faring er en transition der i sig selv forårsager inflammation
 - Søer med PDS (postpartum dysgalactia syndrome) er en kompleks patogenese, og der er kun svagt klinisk respons
 - Søer med PDS har højere inflammation end øer uden (typiske indikatorer for inflammation: hvide blodceller (netrofile og lymfocyt tal), TNF-alpha, IL-6, haptoglobin)
- [kilde: *Kaiser et al. BMC Veterinary Research (2018) 14:83*]
- Review af Björkman, Kauffold og *Kaiser* [Mol. Reprod. Dev., 2022]. Der undersøges biomarkører for systemisk inflammation (TNF-alpha, IL-6) og oxidativt stress (chromogranin A)



PIG-PARADIGM: Vi har fokus på lokalt og systemisk inflammation og oxidativt stress i relation til tarmsundhed hos grise i fravænningsperioden

HVORDAN MÅLES OXIDATIVT STRESS?

Der findes mange teknikker til måling af oxidativt stress afhængig af prøve type (celler, væv, blod, urin, foder/føde)

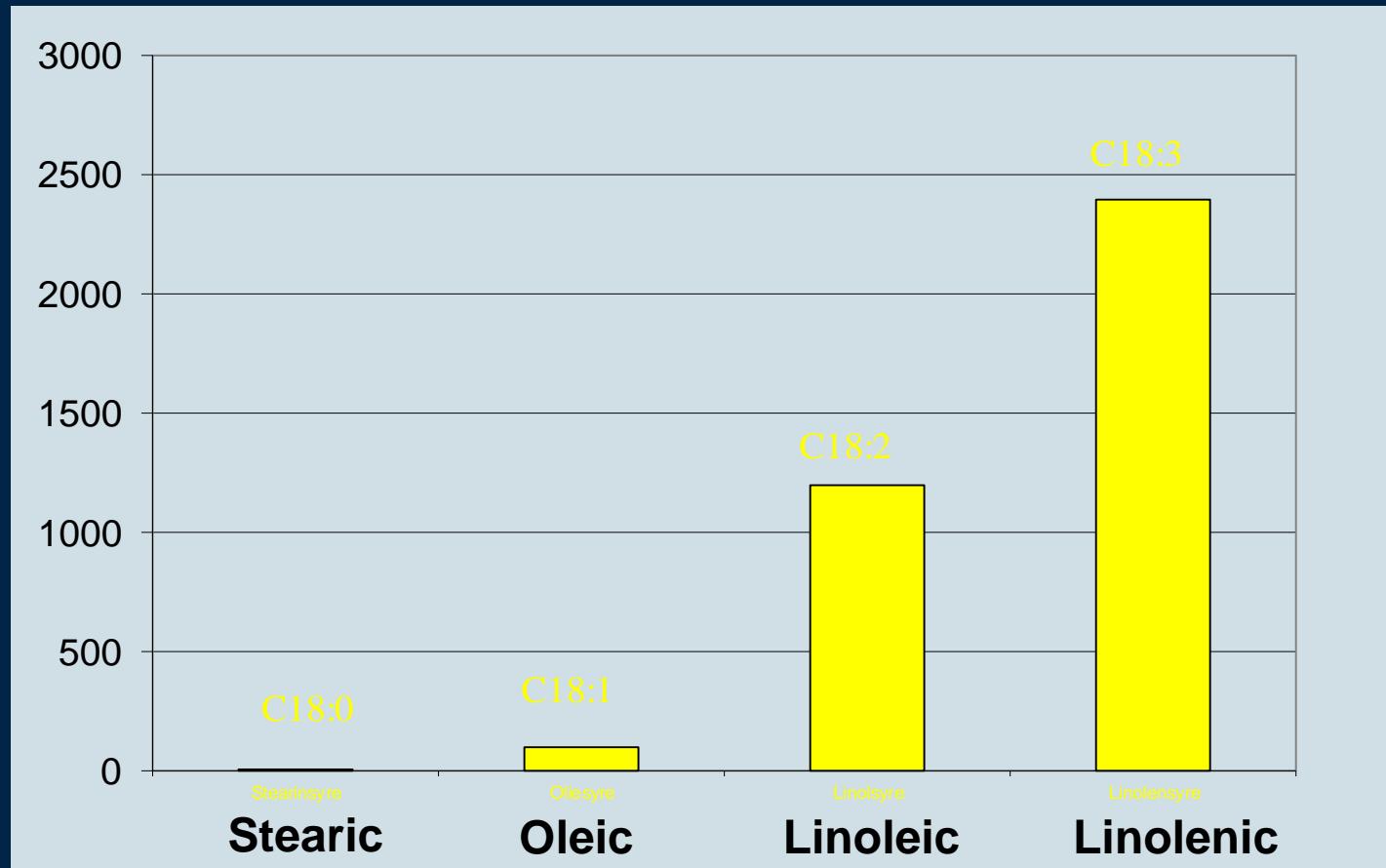
Mange af disse tests måler den ødelæggelse, som frie radikaler og overskydende oxidanter har forvoldt, f.eks.:

- DNA/RNA ødelæggelse
- Lipid peroxidation/lipid ødelæggelse
- Protein modificering

Bemærk at alle disse assays måler ødelæggelse skabt ved den oxidative tilstand, men mäter ikke hastigheden af ødelæggelse versus hastigheden af beskyttelse

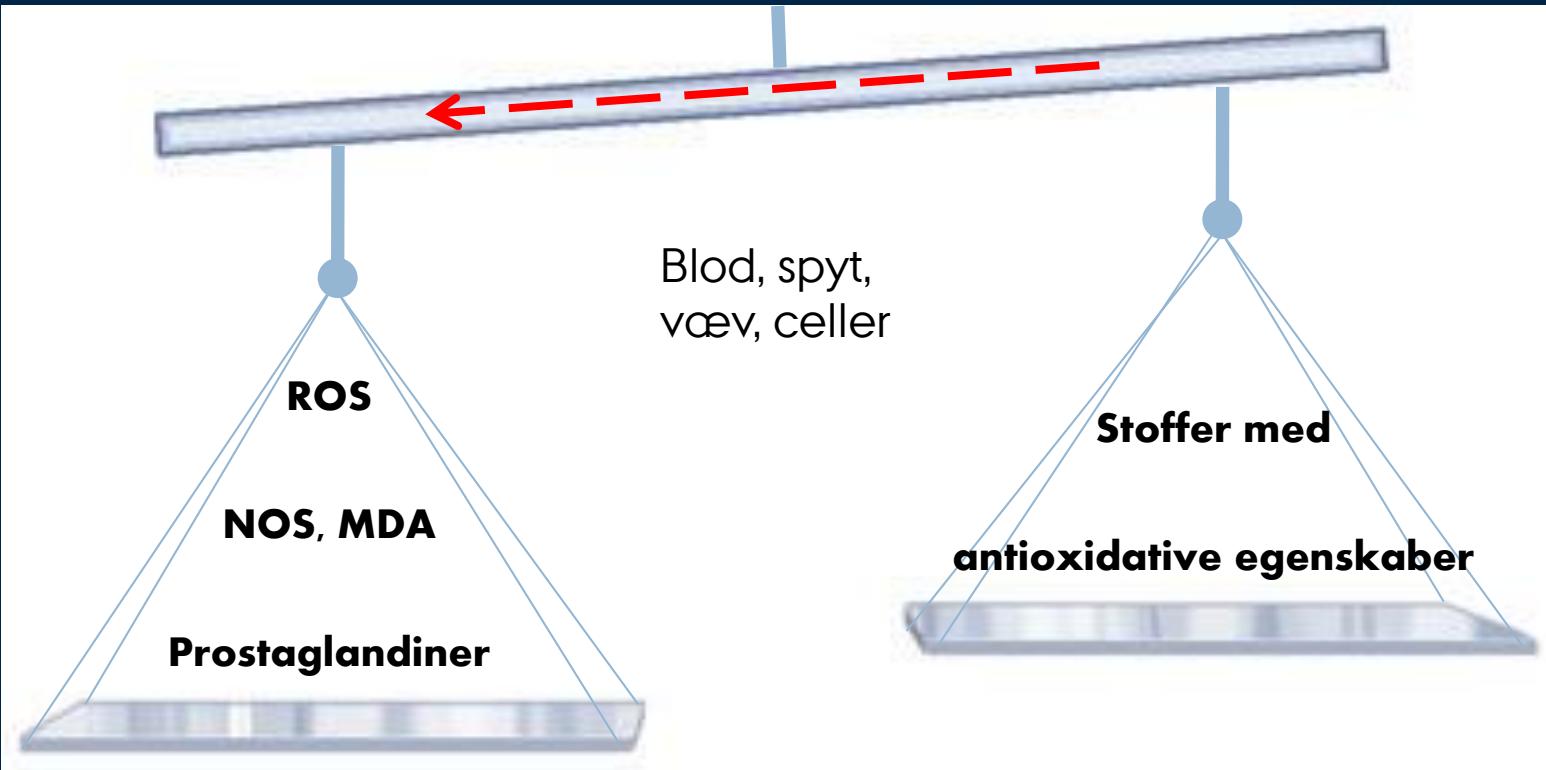
Se [oversigt over teknikker](#) (downloaded 6/4-2024)

OXIDATIONSHASTIGHEDEN AFHÆNGER AF ANTALLET AF DOBBELTBINDINGER – EKSEMPEL MED C18:0-C18:3



Dette gælder i foderfedt/olier – og i cellemembraner!

HVORDAN MÅLES OXIDATIVT STRESS?

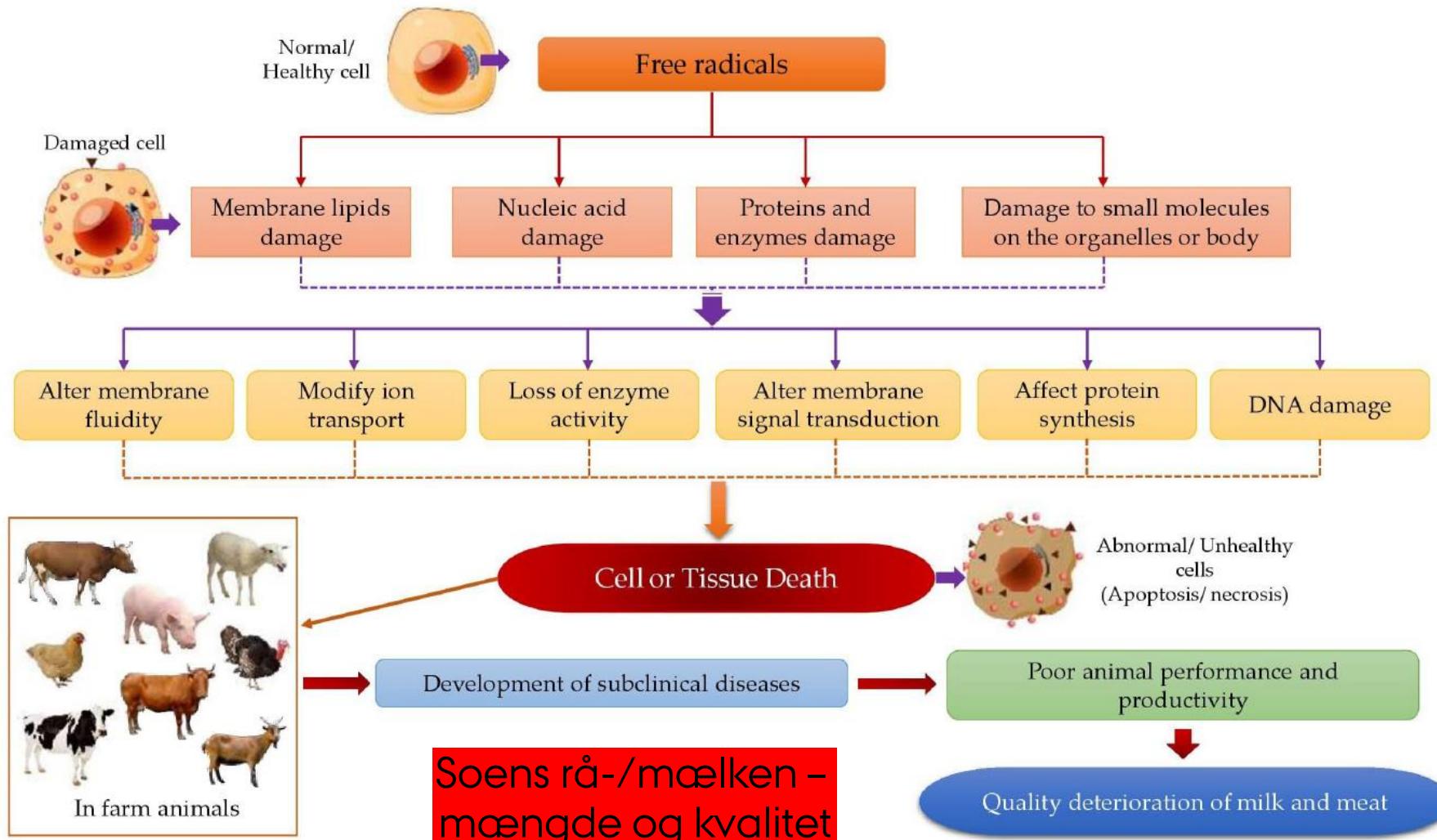


'Oxidative stress cannot be measured, being an imbalance; an imbalance in fact may cause damage, but has not yet caused damage, or may never cause damage'

[Azzi, A. 2022: *Antioxidants* 2022, 11, 1431.
<https://doi.org/10.3390/antiox11081431>]

Husk at de fleste teknikker er **statiske** teknikker og tager ikke højde for, at oxidativt stress er en dynamisk tilstand

BETYDNINGEN AF FRIE RADIKALER PÅ DYRENES CELLER OG VÆV. VED EKSTREME NIVEAUER OPSTÅR CELLE ELLER VÆVSNEKROSE, SOM UDVIKLER SUBKLINISKE SYGDOMME, DER LEDER TIL DÅRLIG YDEEVNE, PRODUKTIVITET OG KVALITETSFORRINGELSE AF MÆLK/KØD FRA DYRET [Kilde: Animals 2022, 12, 3279](#)



HVORFOR ER OXIDATIVT STRESS ET ISSUE HOS HØJTYDENDE SØER?

Kort svar: De energivende celle (= mitochondrierne) er på ‘overarbejde’ og det giver ‘oxidativt distress’:

Når omsætningen øges (som den gør for højtydende søger) så er der stort behov hos mitokondrierne til ‘ønsket output’ til at imødekomme energibehovet, og så dannes der ekstra store mængder af frie radikaler

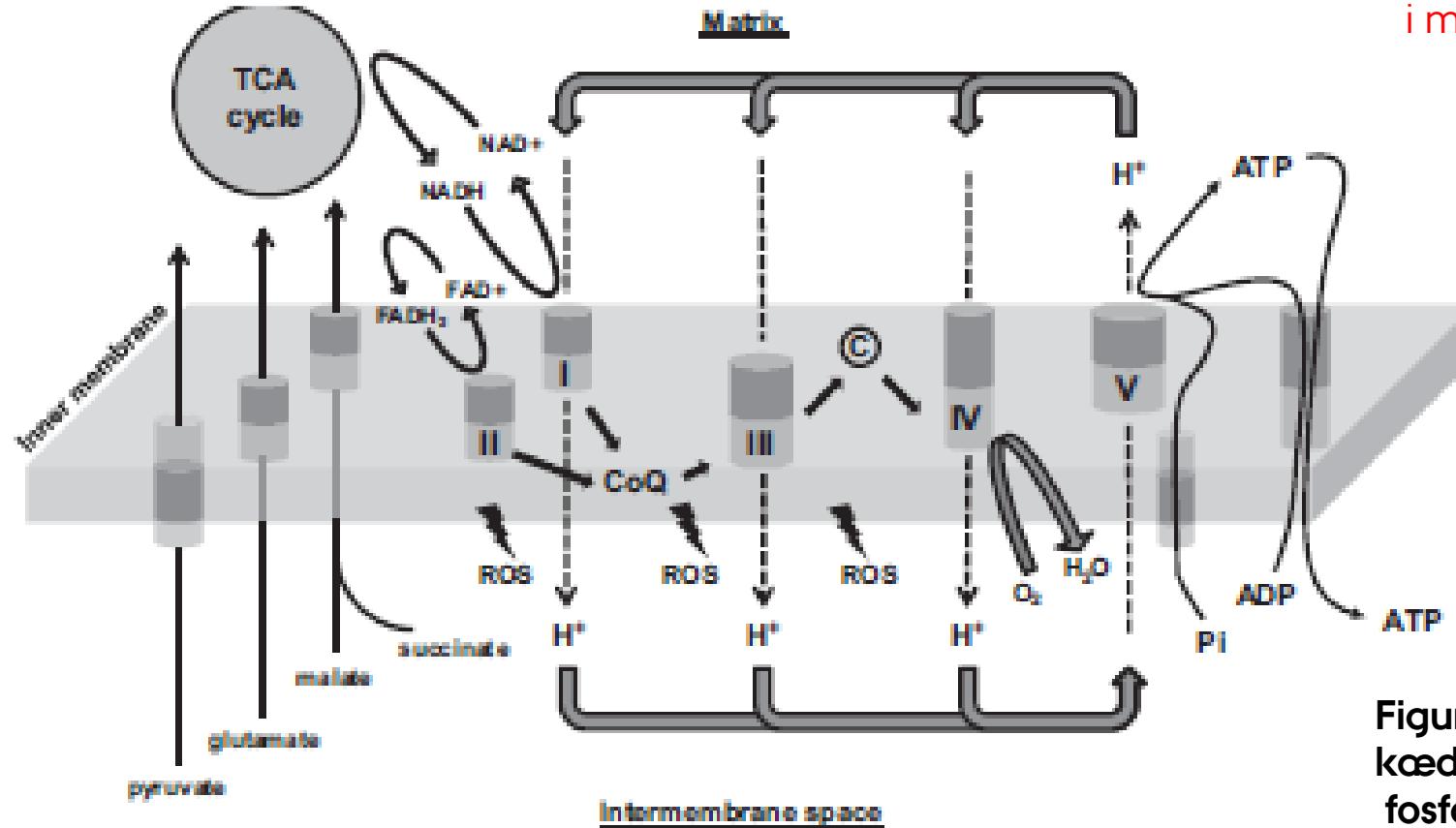
Hvordan påvirker oxidativt (di)stress soen? #305 vids. referencer i Web-of-Science ('oxidative stress & sow')

- Reproduktionsevne
- Modtagelighed overfor sygdomme
- Holdbarhed
- Grisens tilstand under/efter fødsel

<https://www.uclahealth.org/u-magazine/>

cells-mitochondria-work-much-like-tesla-battery-packs

MITOCHONDRIER ER ARNESTED FOR ROS



I eukaryotiske celler dannes over 90% af ROS i mitochondrierne (i den indre membran)

Mitochondrier er dynamiske organeller, der deltager i mange celleprocesser

Mitochondrier er tilstede i kontaktfladen mellem energitilførslen og energiforbruget for hver organ

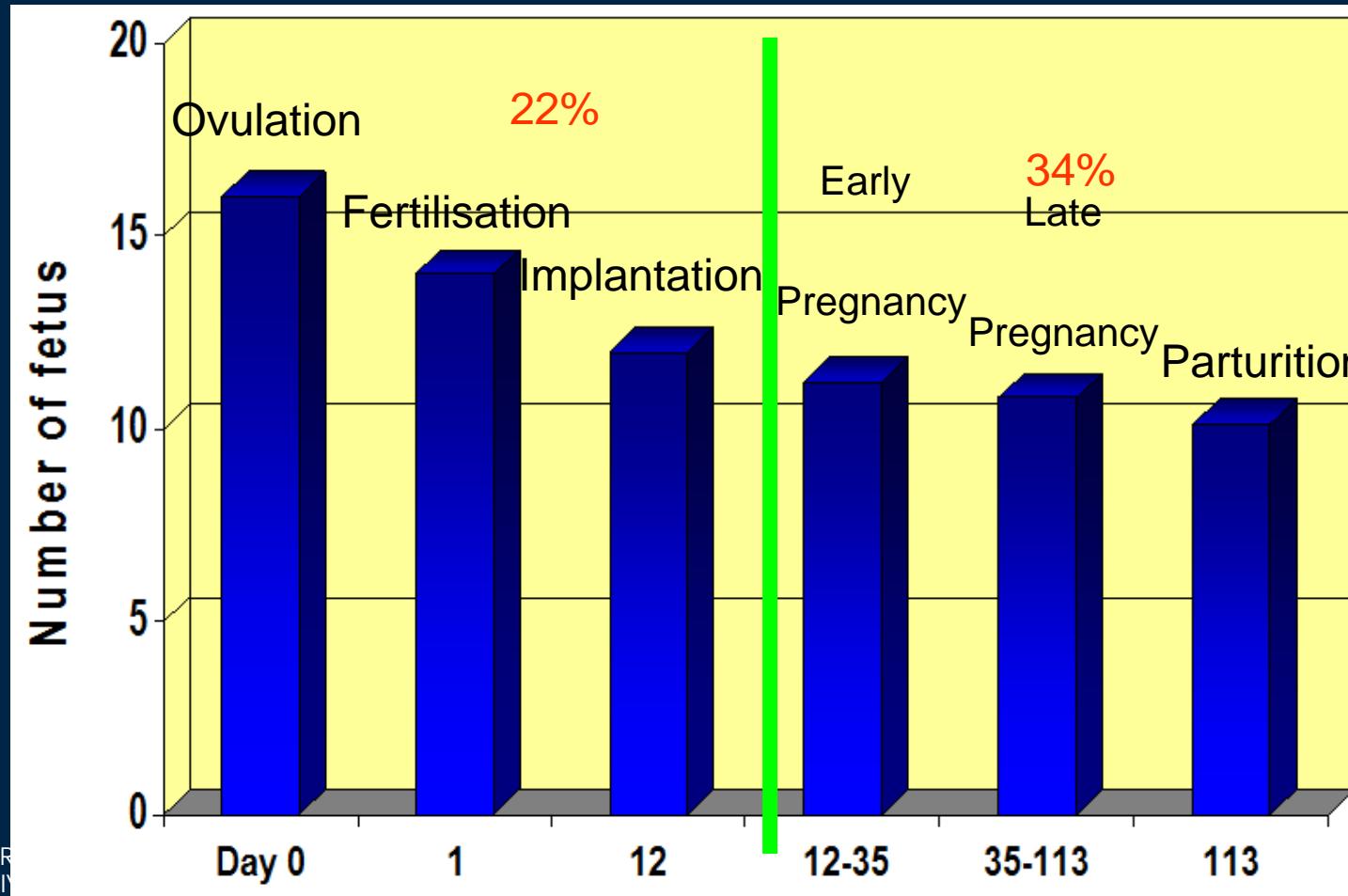
Figuren viser den mitokondrielle elektrotransport kæde og det oxidative fosforyleringssystem i energiproduktionen

Kilde: Lapointe, 2014, Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition

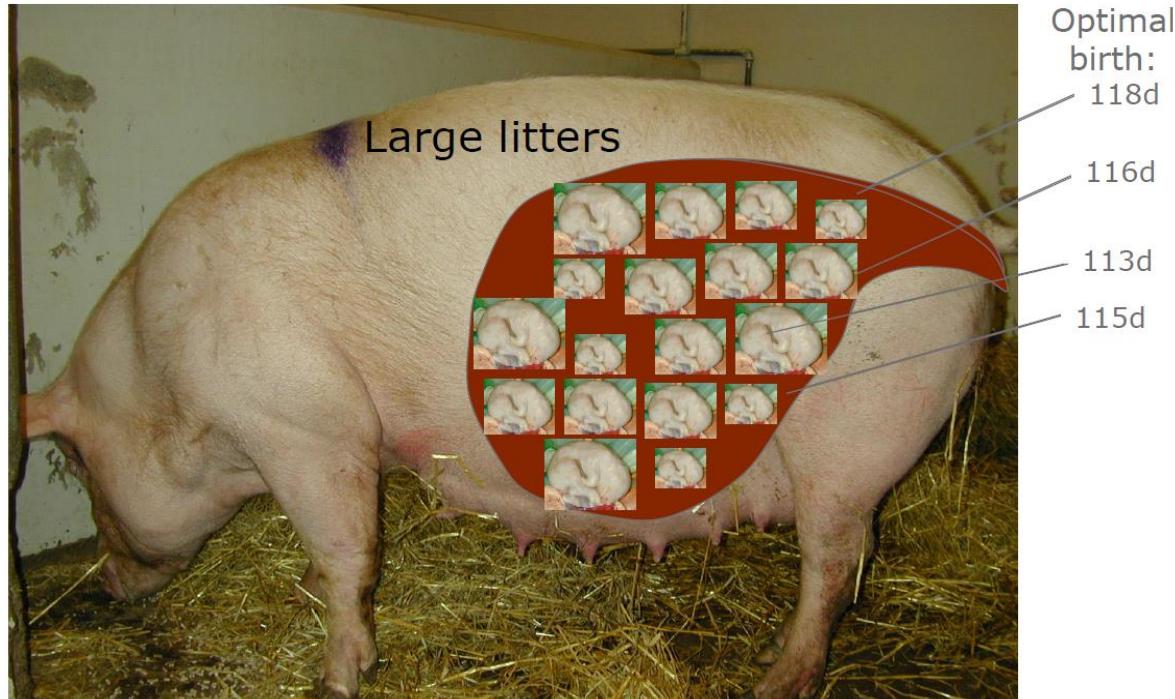


TAB AF ÆG/FOSTRE I SØERS REPRODUKTION

Normal implantering og placenta er kritisk for en succesfuld graviditet. ROS påvirker ægcellernes modning og fertilitet, og udviklingen af embryonet. Placentas funktion er at udveksle næringsstoffer og ilt mellem so og fostre. Ændringer/forstyrrelser (næringsstoftilførsel, ilttryk) kan føre til **hypoxi og oxidativt stress**



VARIATION I FØDSELSVÆGT – EFFEKT PÅ GRISES OXIDATIVE STRESS?



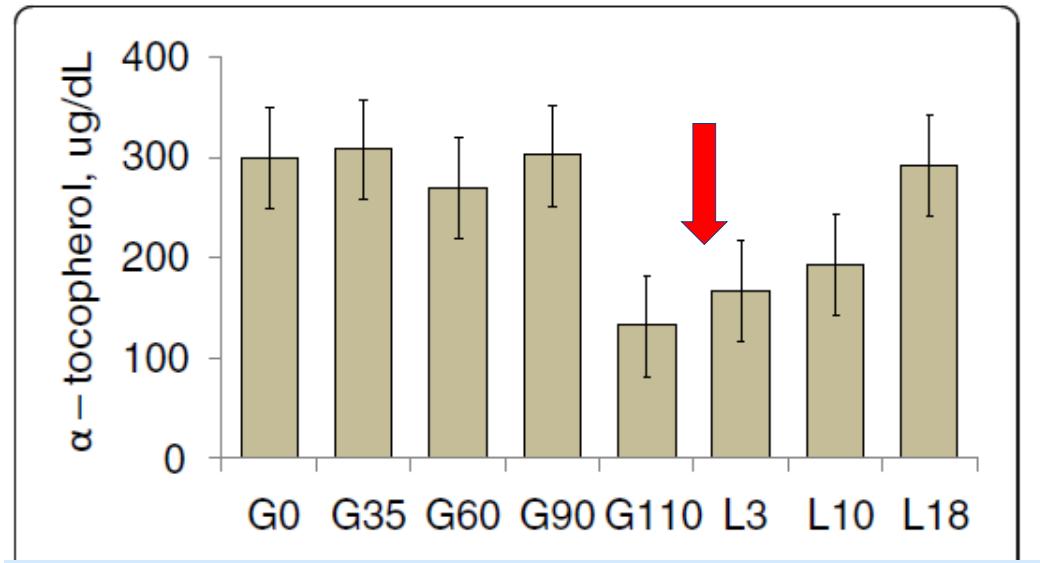
Modified after Prof. Thomas Thymann, Copenhagen University

Grise med lav fødselsvægt (1.2 kg) havde mitokondriel dysfunktion og oxidativt stress; reduceret antioxidativt forsvar og inflammations respons ved fravænning sammenlignet med fødselsvægt grise (1.73 kg)

Kilde: Novais et al, 2021, PLOS one

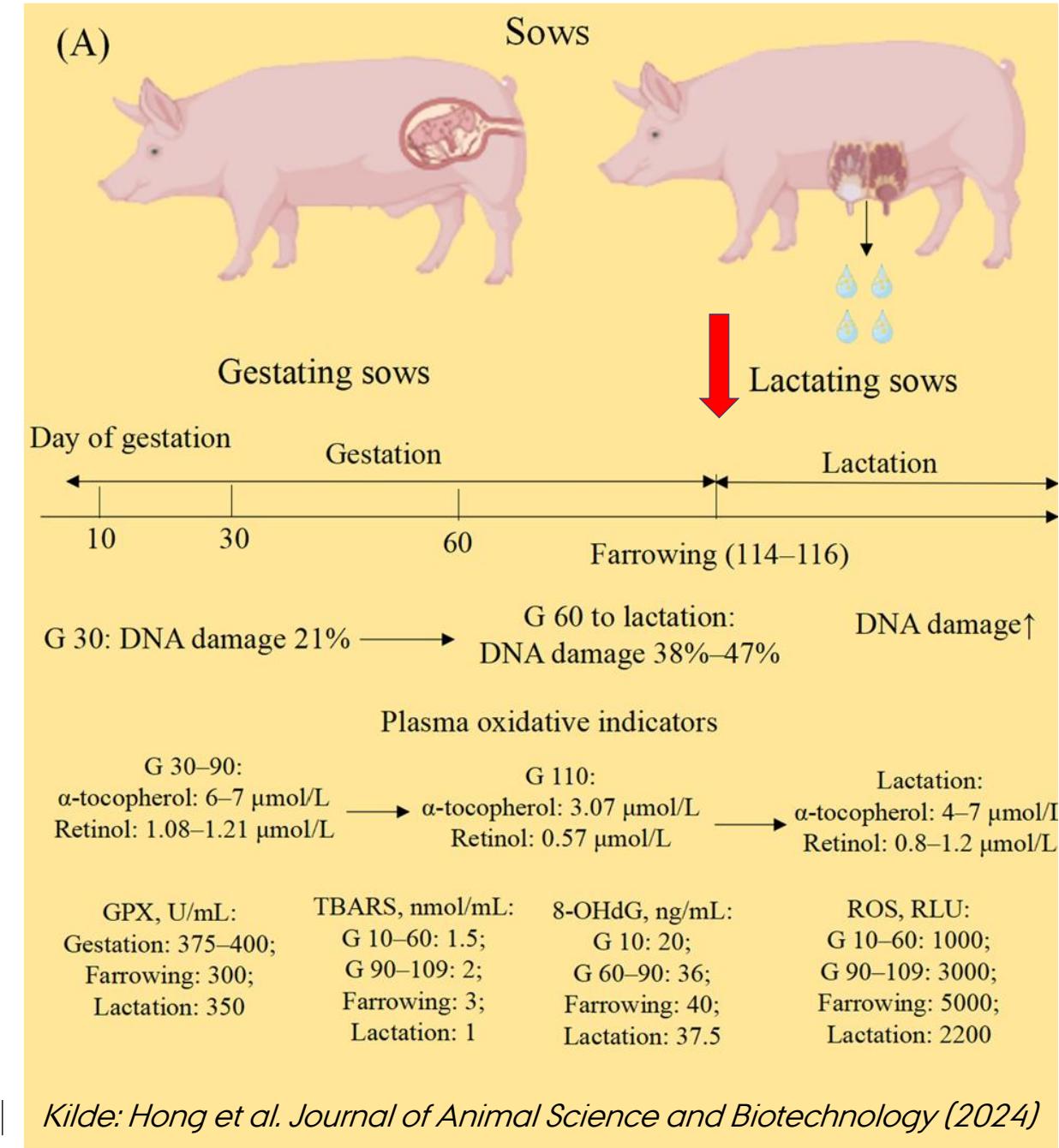
FOREKOMST AF OXIDATIVT STRESS HOS SØER UNDER DRÆGTIGHED OG DIEGIVNING

Oxidativ stress belastning er størst omkring faring!



Koncentrationen af E-vitamin i søger gennem drægtighed og diegivning

Kilde: Kim et al. J. Anim. Sci. Biotech. 2013, 4:26



Hvorfor?



Søer er katabolisk udfordret og
er i negativ energibalance

Katabolisme øger forekomst af
oxidativt stress:
Mitochondriernes (= De
energiproducerende cellers)
respiration øges

Behovet for antioxidanter øges

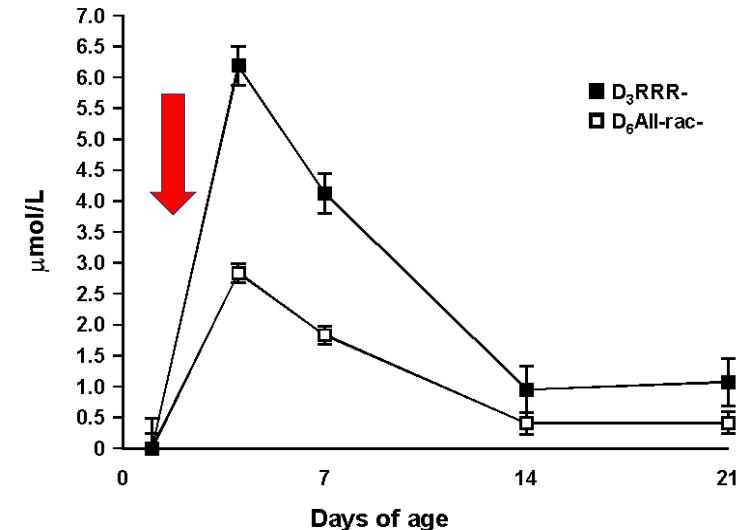
Figur: https://www.researchgate.net/figure/Model-of-catabolism-and-anabolism_fig2_342978753

OXIDATIVT STRESS HOS GRISE VED FØDSEL

- Fødslen: er en hurtig overgang fra soens medierede respiration i børen til den nyfødte gris' lungers autonome respiration udenfor børen:
- Så den nyfødte gris udsættes for et abrupt miljøskifte i form af øndret ilttryk (bør: 20 – 25 mmHg, lunger: $pO_2 = 100$ mmHg): **Hypoxi**
- Den nyfødte gris' celler danner store mængder ROS, som bevirker fødselsrelateret oxidativt stress

Denne oxidative stress kan håndteres med råmælk a' god kvalitet!

Pattegrises E-vitamin i plasma



ILT MANGEL UNDER FØDSEL

scientific reports

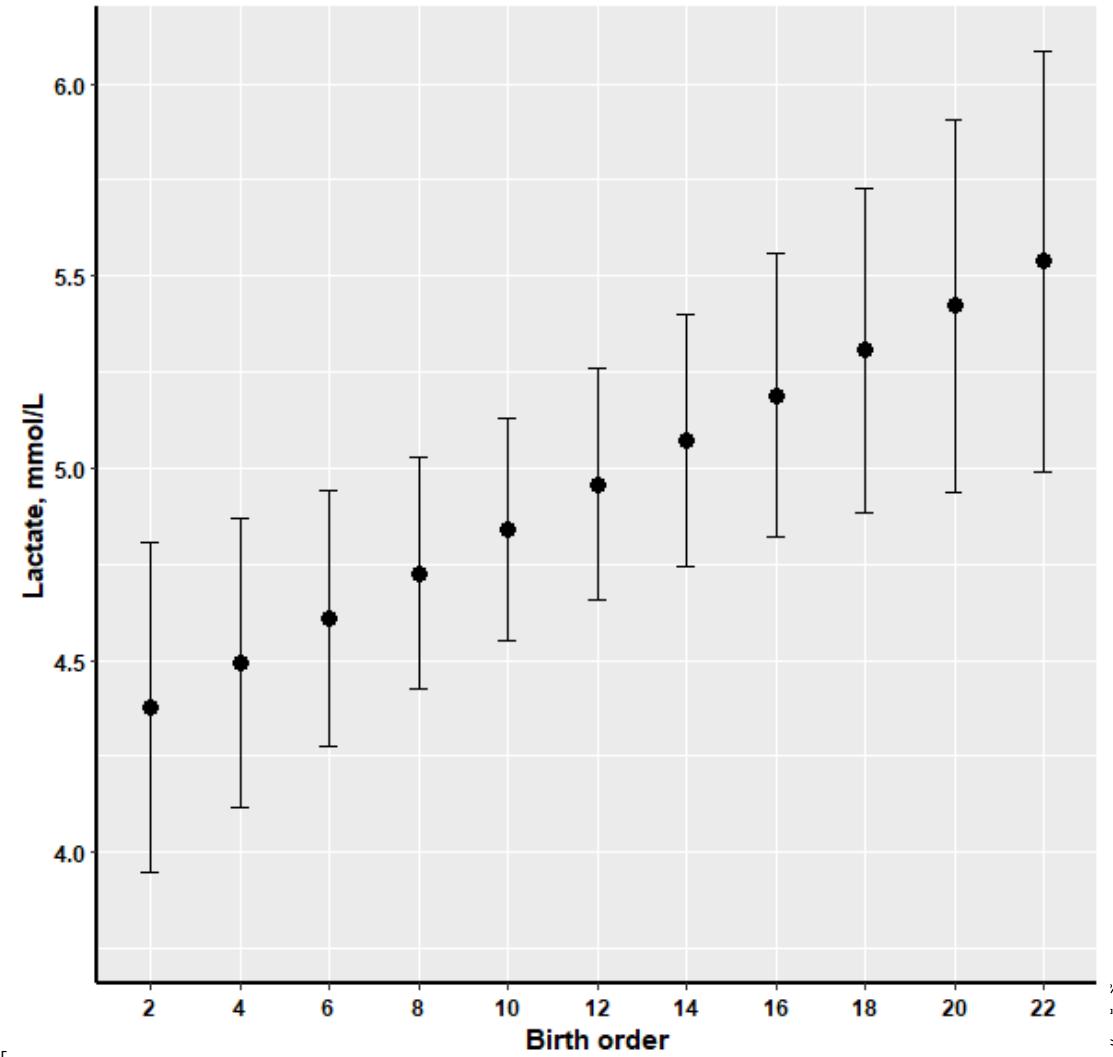
www.nature.com/scientificreports/

OPEN **The impact of birth weight, birth order, birth asphyxia, and colostrum intake per se on growth and immunity of the suckling piglets**

 Check for updates

D. Vodolazska , T. Feyera  & C. Lauridsen 

Kilde: *Vodolazska, Feyera, and Lauridsen, 2023*
Scientific Reports / (2023) 13:8057



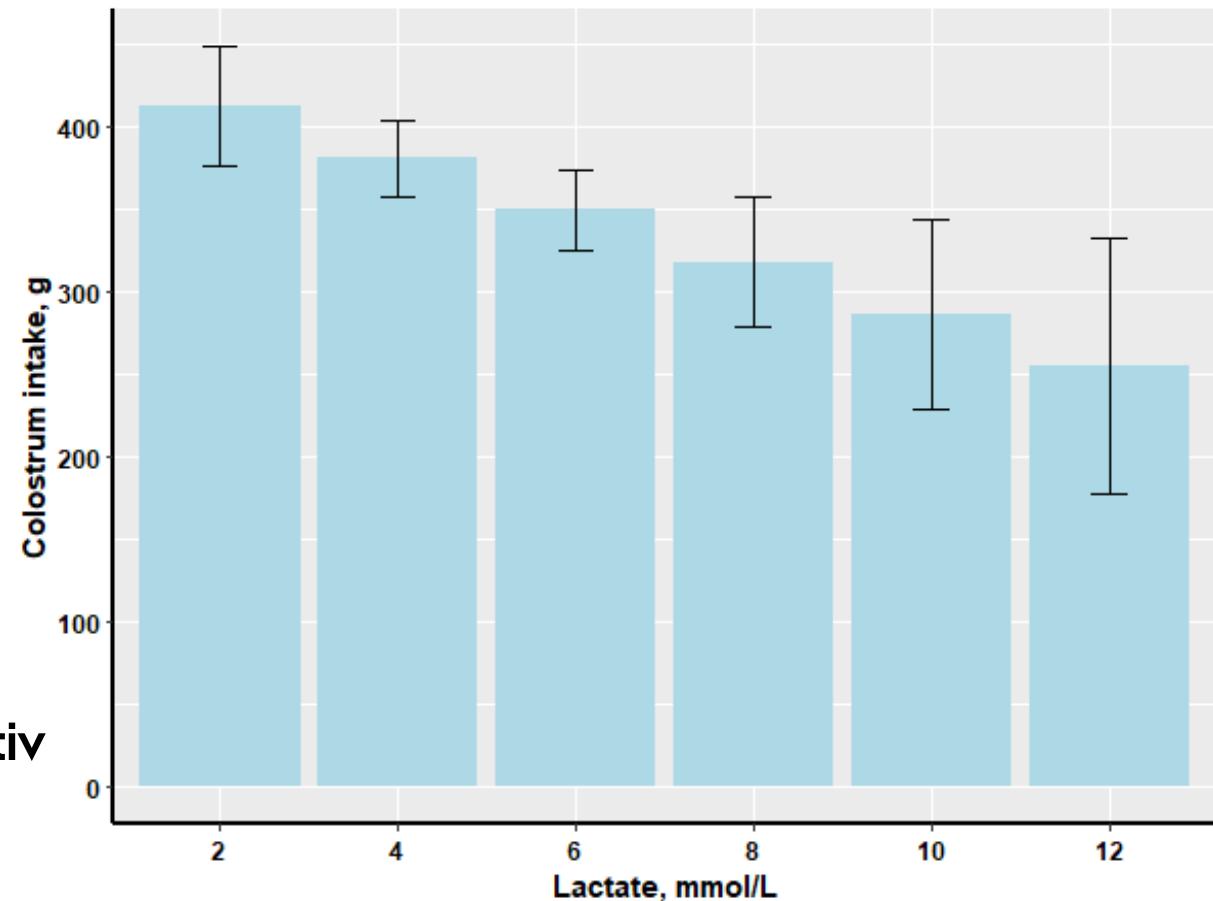
ASFYKSI KAN INDUCERE OXIDATIVT STRESS

- Grise, som var født med lav fødselsvægt og sent i fødselsrækkefølgen, havde et lavt iltniveau i blodet
- Iltmangel hos nyfødte ('neonatal asfyksi') havde en hæmmende effekt på pattegrisenes råmælk indtag

Behandling af babyer med asfyksi gives 100% ilt-tilførsel – grise?

- **Lavt indtag af råmælk giver lavt antioxidativ beskyttelse**

Kilde: *Vodolazska, Feyera, and Lauridsen*, 2023
Scientific Reports / (2023) 13:8057



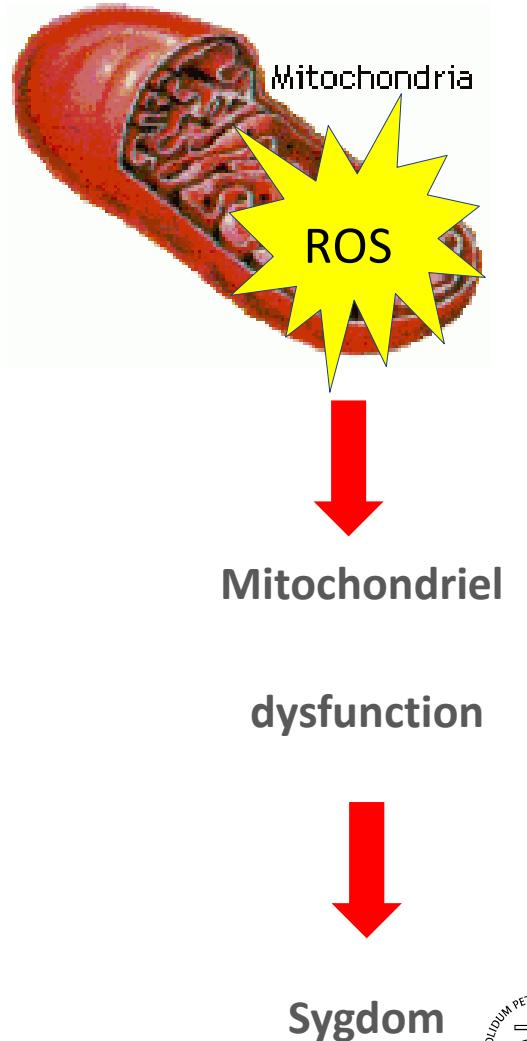
KONTROL AF OXIDATIVT STRESS

Kan oxidativt 'distress' forebygges?

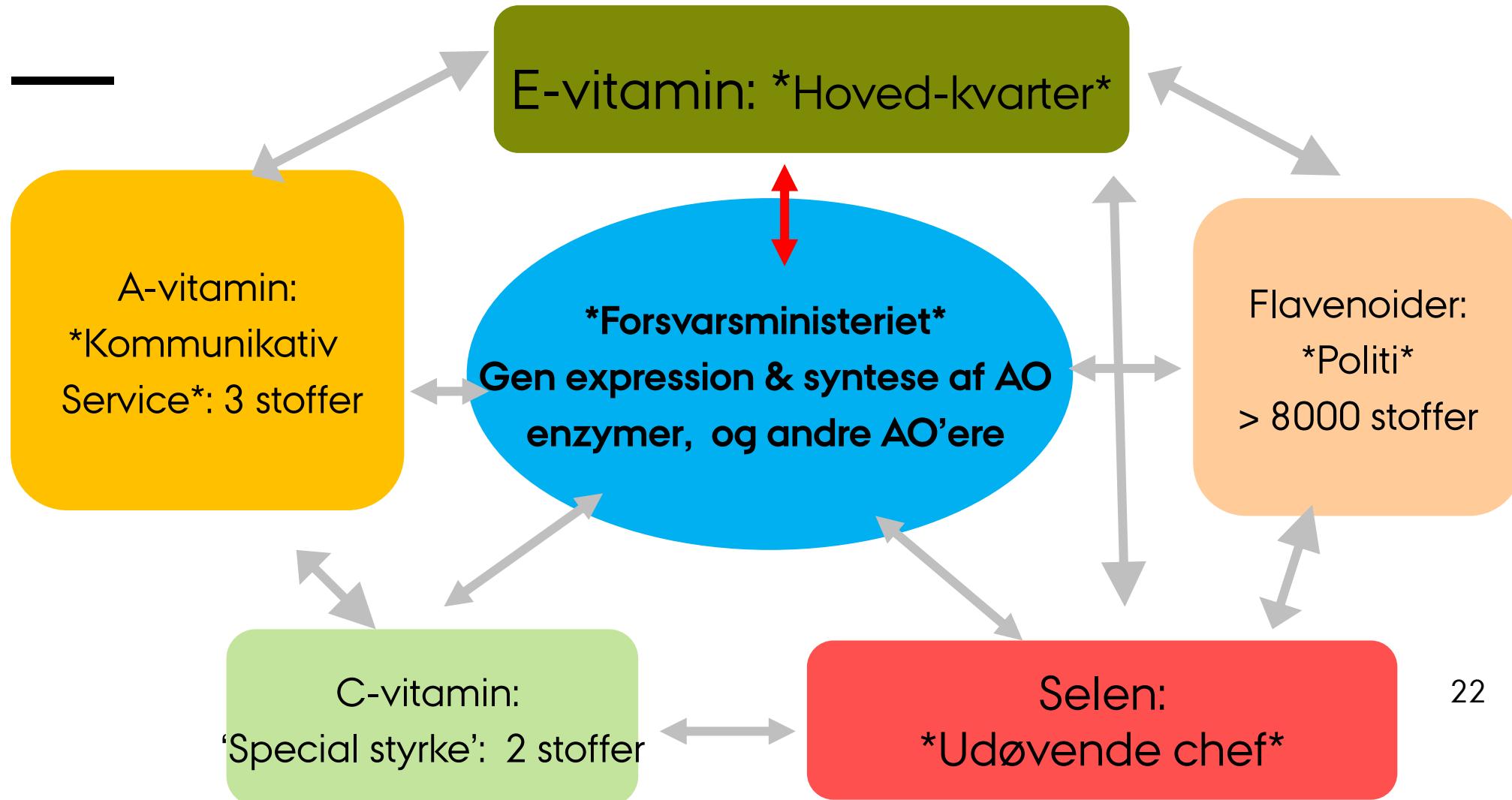
- ja, ved at til sætte antioxidanter og frie-radikal scavengers til foderet, samt at understøtte de endogene antioxidanter

Kan oxidativ ødelæggelse regenereres?

- nej, når først dysfunktionen indtræder, eller vævet/cellen er ødelagt, kan det være fatalt



Antioxidant systemer



22



FORSVARSMINISTERIET: DE ENDOGENE ANTIOXIDATIVE ENZYME HOVEDKVARTERET: E-VITAMIN

Super oxid dismutase (SOD):

Omdanner superoxid radikalerne til hydrogen peroxid (H_2O_2) i mitochondrierne membran eller cytosol

Glutathion peroxidase (GSH-Px) og catalase:

Kan nedbryde H_2O_2 til vand.

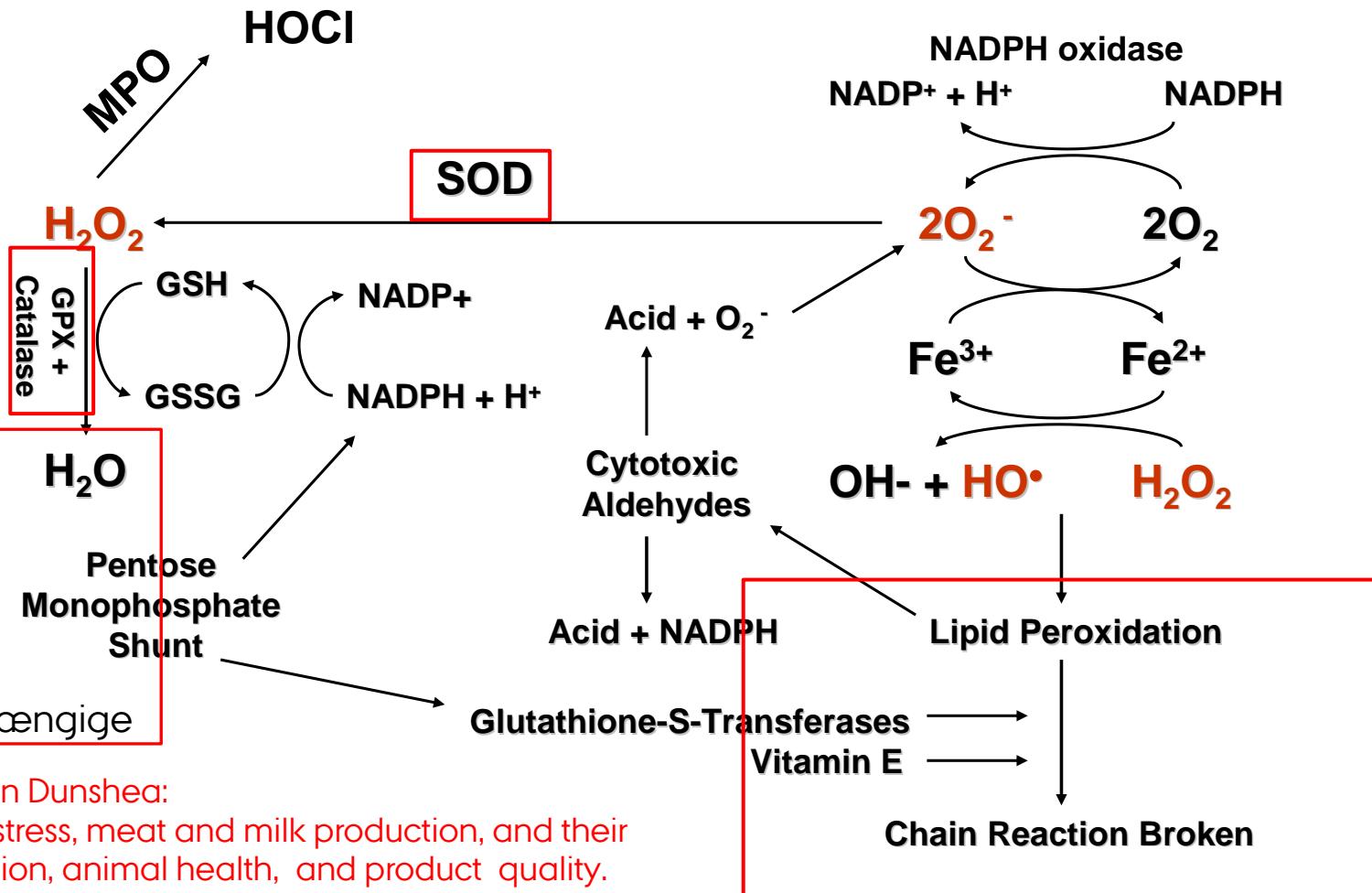
Ret effektivt, idet et molekyle catalase kan katalysere 6 mill. molekyler H_2O_2 /minut

GSH-Px: mange isoformer; selen og selen-uafhængige

Pnampalam, Kiani, Santhiravel, Holman, Lauridse, an Dunshea:

The importance of dietary antioxidants on oxidative stress, meat and milk production, and their preservative aspects in farm animals: Antioxidant action, animal health, and product quality.

Invited review. Kilde: *Animals* 2022, 12, 3279. <https://doi.org/10.3390/ani12233279>



MDA og endogent antioxidant forsvarssystem i grise fra fødsel (dag 1) til dag 21 efter fødsel. Bemærk dag 1 til dag 7.

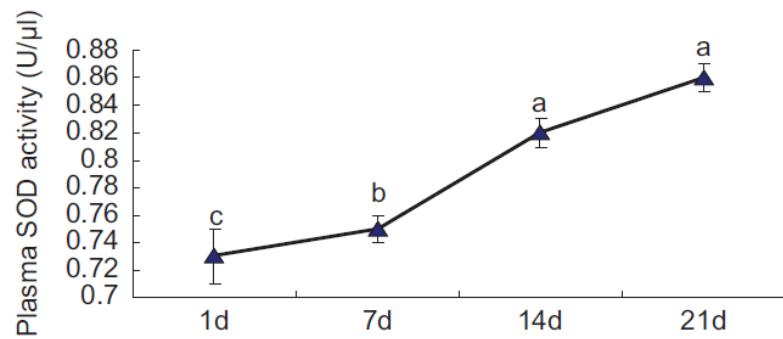
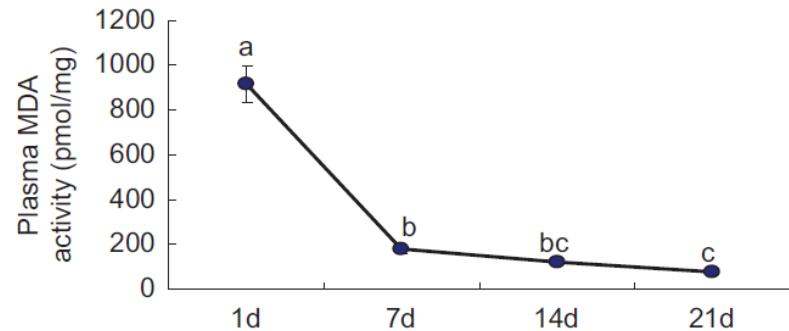


Figure 4. The fluctuation of plasma SOD activity in newborn piglets during 21 days. 1d, 7d, 14d, and 21d mean newborn piglets are slaughtered on Day 1, 7, 14, and 21 after birth ($n = 8$).

Kilde: Yin et al., 2013, Free Radical Research, 43

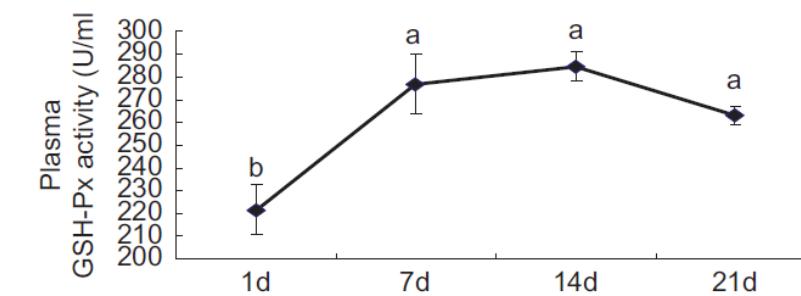
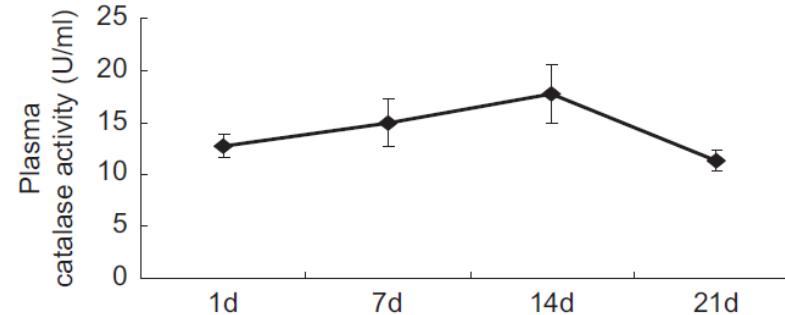
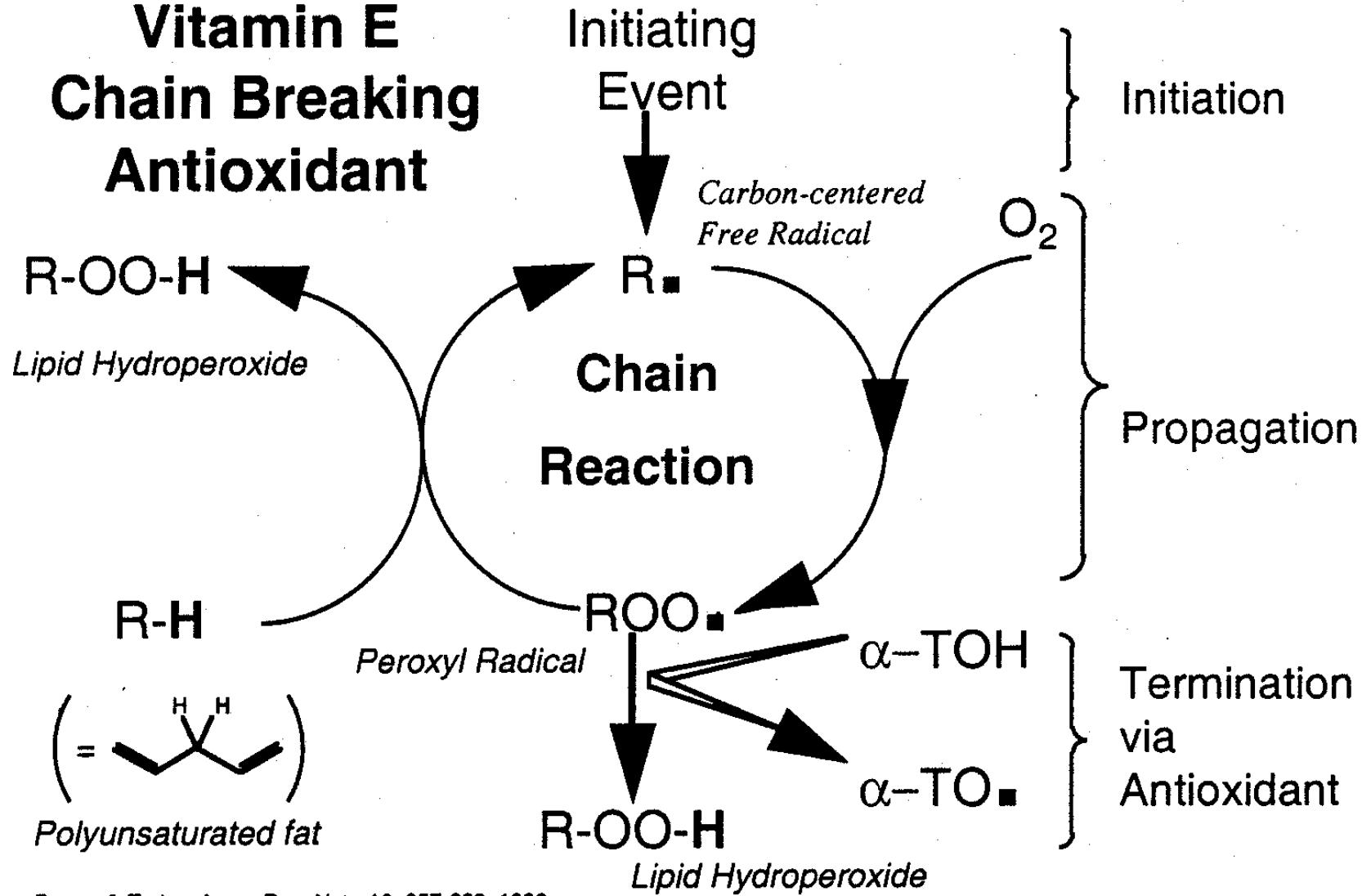


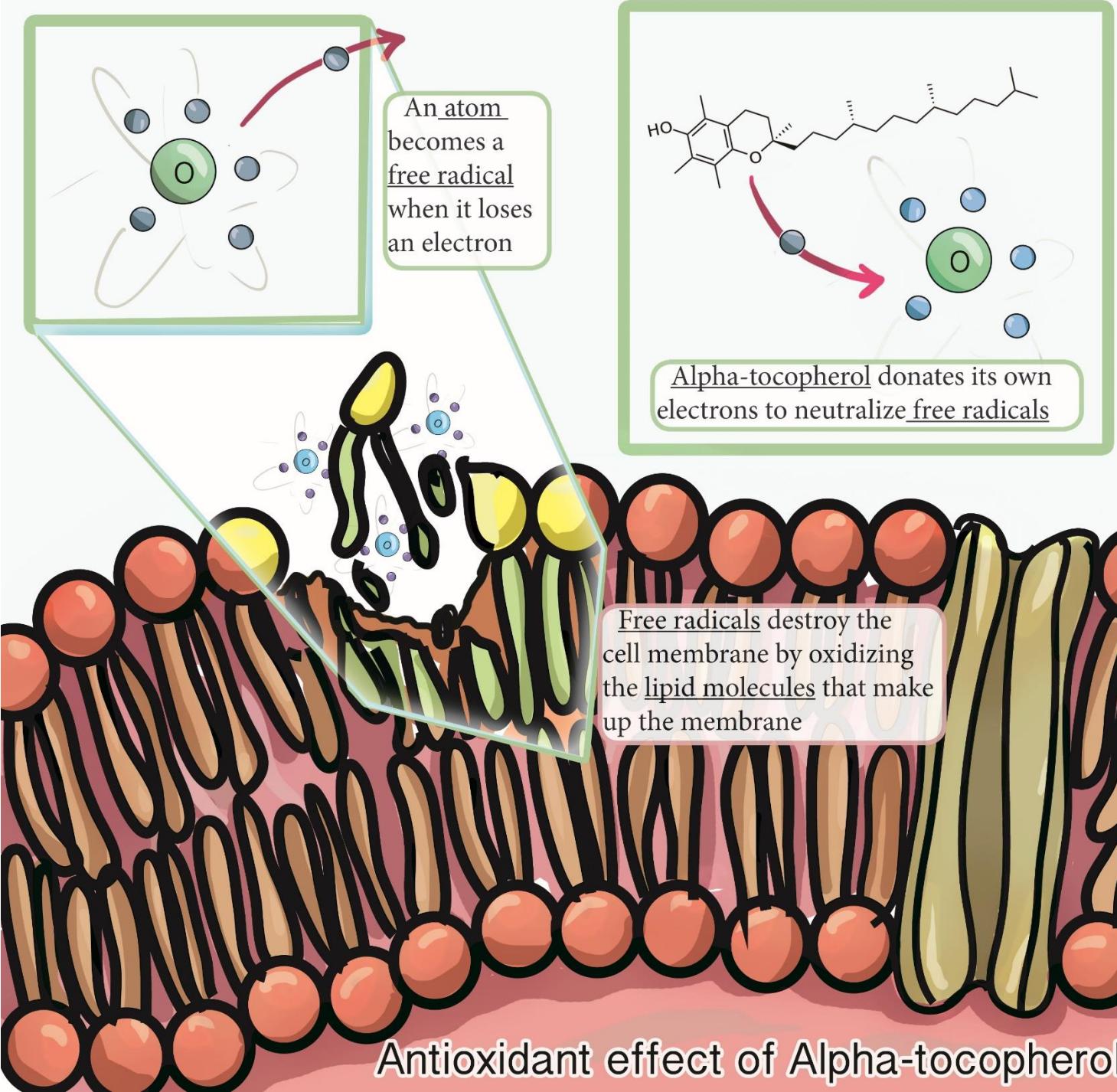
Figure 6. The fluctuation of plasma GSH-Px activity in newborn piglets during 21 days. 1d, 7d, 14d, and 21d mean newborn piglets are slaughtered on Day 1, 7, 14, and 21 after birth ($n = 8$).

Vitamin E Chain Breaking Antioxidant

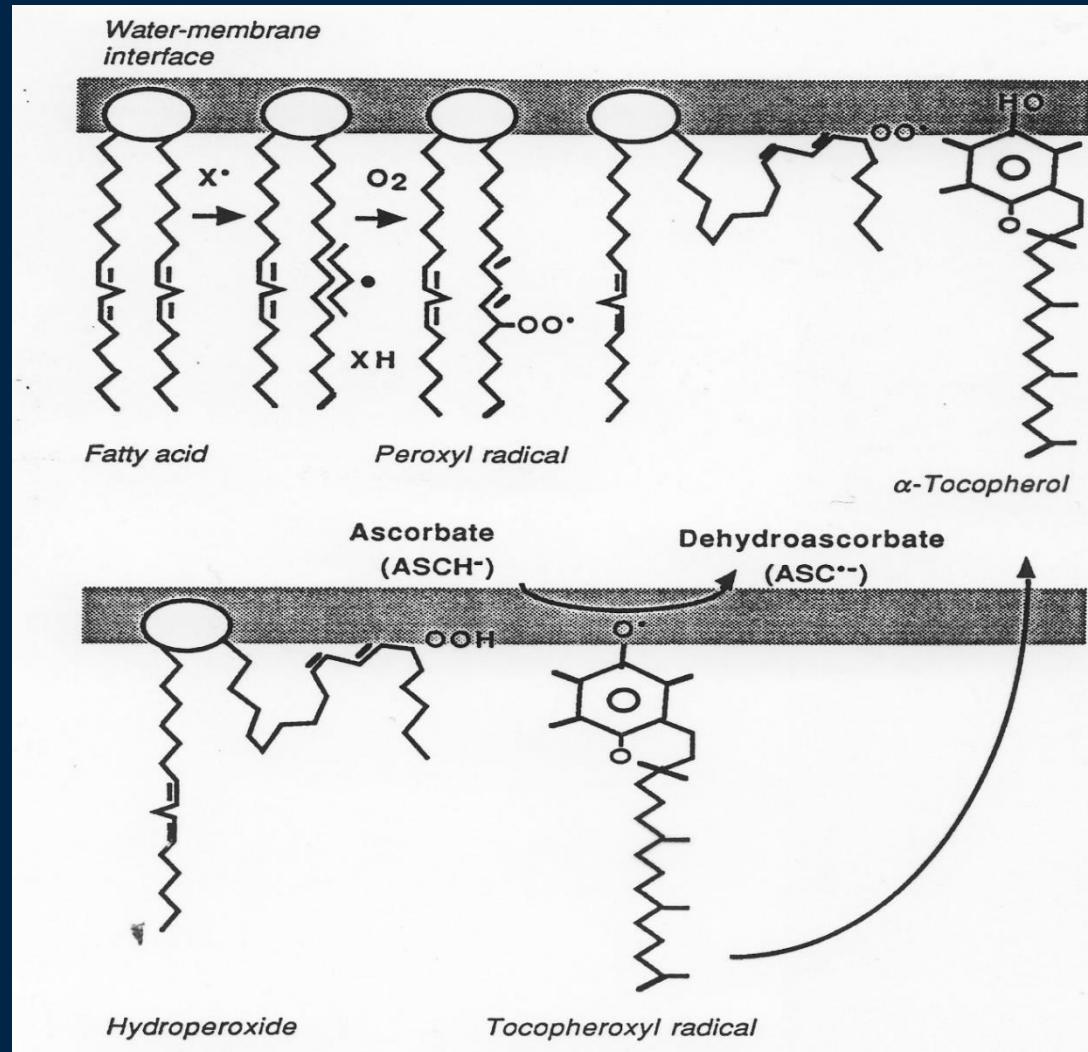


Burton & Traber Ann. Rev. Nutr. 10: 357-382; 1990

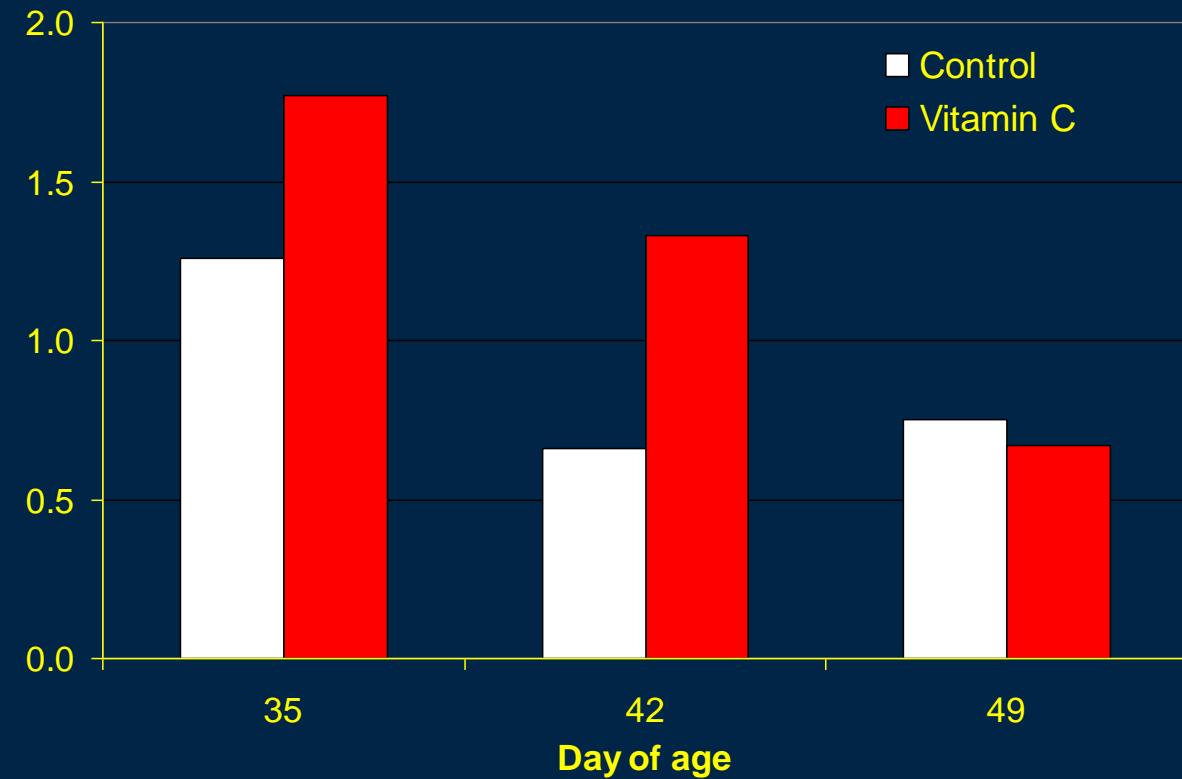




C-VITAMIN: KAN REGENERERER E-VITAMIN



Koncentration af E-vitamin i immunceller fra grise efter fravænning (lungemakrofager) efter C-vitamin tildeling



Kilde: Lauridsen and Jensen, Journal of Animal Science, 2005



C-VITAMIN

(Mahan *et al.*, 2007);

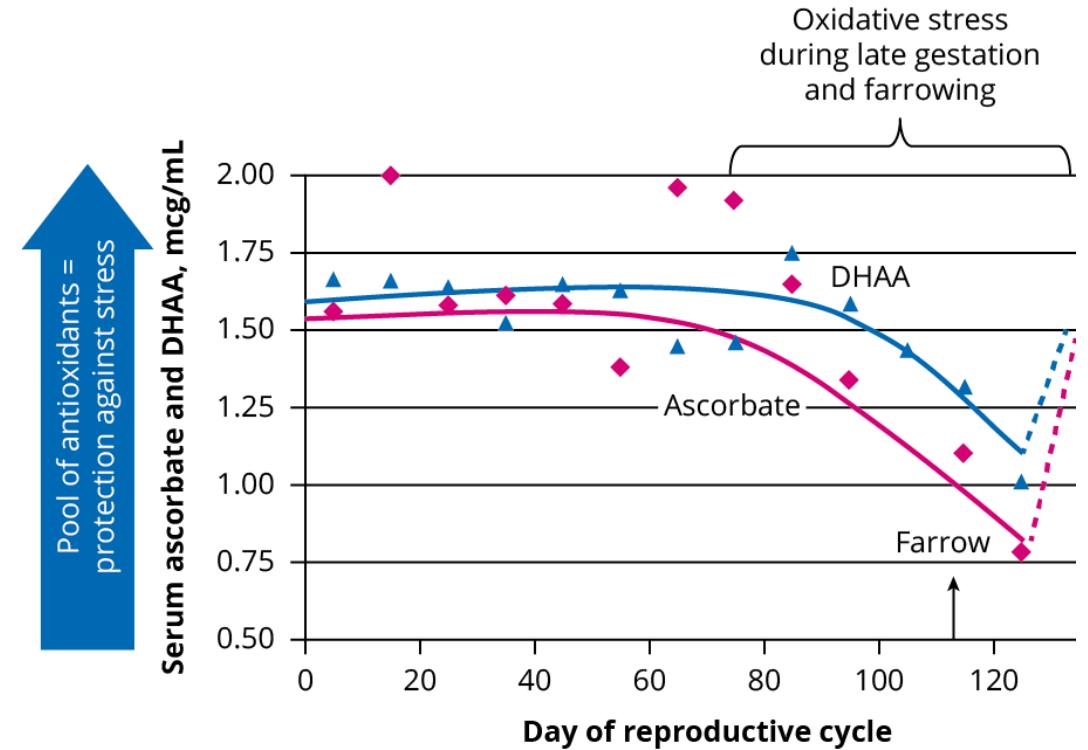
'Det er værd at bemærke at drægtige og diegivende sør er særligt modtagelig overfor oxidative ødelæggelse

Skyldes metaboliske ændringer gennem produktionsfaserne

Koncentrationen af C-vitamin i serum forbliver konstant indtil ca. 60-80 dag henne i drægtigheden og reduceres gradvist herefter og gennem diegivningen

'Our findings further emphasize the importance of incorporating at least vitamin C supplementation as part of the preparation for parturition (Mahan 2007).

Figur: Pig Progress 2027



Source: Cargill research, USA, 2016; adapted from Mahan, 2007.

A-VITAMIN - KOMMUNIKATIV SERVICE

- Tre former af A-vitamin: Retinol, retinal og retinoidsyre
- retenoidsyre: uhyre vigtig **kommunikativ** og regulerende funktion for immunsystemet i form af 'tilkaldelse' af immunceller ('homing' by retinoic acid)
- Antioxidativ aktivitet via radikal scavenging; er (ligesom E-vitamin) også en kædebrydende antioxidant, og i stand til at 'booste' antioxidative enzym systemer
- Den underliggende mekanisme hvormed A-vitamin udøver sin antioxidative aktivitet in vivo er stadig uklart, måske primært via all-trans retinoidsyre
- Under absorption: konkurrence mellem A- og E-vitamin om enzyme til at hydrolyser ester bindingen, således af alkohol formen kan absorberes
- all-trans-retinol kan regenerere α -tocopherol ved at reagere med tocopheroxyl radical

Review: Shastak et al 2023: The relationship between vitamin A status and oxidative stress in animal production. J. APPLIED ANIM. RESEARCH. 51, 546–553. <https://doi.org/10.1080/09712119.2023.2239319>

VITAMINTILFØRSEL VIA SOEN FØR- OG EFTER FØDSEL

Vitamin	Relative importance of in utero transfer	Relative importance of colostral-milk transfer
Retinol	--	++
Vitamin E	--	++++
Vitamin D	----	+
Vitamin C	+++	++++
Folates	-	+++
Vitamin B ₁₂	++++	++

Source: Matte & Lauridsen, 2013. Vitamins and vitamin utilization in swine. Chapter 6 in Chiba, Sustainable swine nutrition (Wiley-Blackwell).

Selen: 'Udøvende chef'

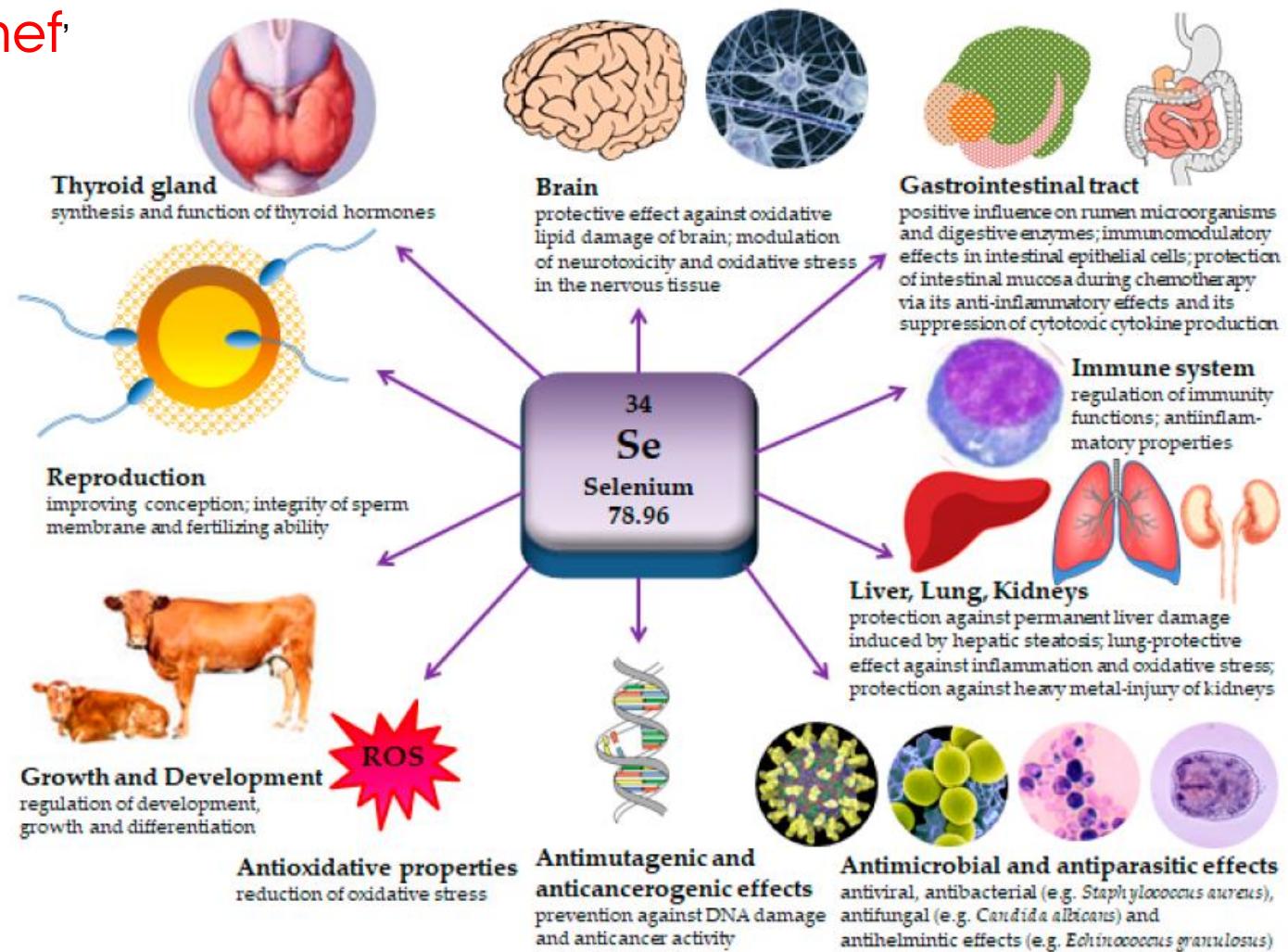


Figure 1. Physiological effects of selenium. Selenium is known for its antioxidant, antimutagenic and anticarcinogenic properties, it also acts against microbes as well as parasites and has antiinflammatory effects, engages in metabolism, growth and development, protects organs from oxidative stress, affects immune function and improves fertility [2,47–50,53,54,60,82,87,104,126–138].

SELEN - UDØVENDE CHEF. HVORDAN?

- Selen opbevares i grisenes muskler og væv bundet til cystein og methionin
- Selenoproteiner (der er beskrevet >25 mennesker) har en mangfoldighed af biologiske funktioner
- Selen kan regenerere andre antioxidanter, f.eks. C-vitamin
- Synergistisk sammenhæng mellem selen og E-vitamin, også i relation til klinisk mangel
- Stort fokus på organisk selen, som udnyttes bedre end uorganisk
- Cellens indhold af selen er tæt relateret til mitochondriernes antioxidative portentiale og beskytter mod mitocondriel dysfunktion
- B6-vitamin status har en kritisk rolle for GSH-Px-systemet

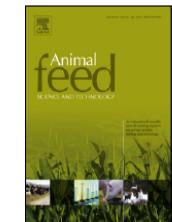
Animal Feed Science and Technology 211 (2016) 18–30



Contents lists available at ScienceDirect

Animal Feed Science and Technology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/anifeedsci



Review article

Selenium in sow nutrition

P.F. Surai^{a,b,c,d,*}, V.I. Fisinin^e





Article

Effect of Maternal Dietary Redox Levels on Antioxidative Status and Immunity of the Suckling Off-Spring

Charlotte Lauridsen ^{1,2,*} , Anna Amanda Schönherz ¹ and Søren Højsgaard ³

Conclusion: Increase in vitamin E and Se in suckling piglets via maternal provision improved robustness of off-springs via immunomodulatory mechanisms

¹ When data were analysed on a logarithmic scale, the visual analysis revealed an additive relationship between the content of α -tocopherol or IgG and the effect of treatment.

Table 2. Effect of maternal dietary antioxidant level on concentration of vitamin E (α -Toc.), selenium (Se) and immunoglobulins (Ig) A, G, and M in plasma of off-springs (LOW: $n = 26$ piglets; HIGH: $n = 27$ piglets; means and standard error of mean (SEM)).

Time after Birth	Day 4		Day 11		Day 25		p-Value	
	LOW	HIGH	LOW	HIGH	LOW	HIGH	Treatment	Time
α -Toc, mg/L	3.56 (0.41)	6.39 (0.62)	1.61 (0.12)	4.65 (0.28)	2.26 (0.14)	5.41 (0.31)	0.023	<0.001
Se, μ g/L	11.6 (1.10)	19.9 (2.73)	7.38 (0.98)	21.1 (1.17)	9.41 (0.75)	20.5 (1.13)	0.015	0.67
IgA, mg/L	2477 (226)	1256 (133)	202 (29.1)	146 (15.1)	113 (14.1)	127 (9.68)	0.045	<0.001
IgG, mg/L	18483 (1672)	15497 (1283)	12275 (1262)	9455 (756)	4981 (346)	4272 (380)	0.26	<0.001
IgM, mg/L	1332 (100)	1816 (138)	353 (33.0)	515 (32.3)	806 (59.2)	898 (78.9)	0.16	<0.001

POLYPHENOLER

En mangfoldig klasse af sekundære plantemetabolitter, der udviser antioxidativ kapacitet

Kemisk struktur er karakteriseret ved tilstedevarelsen af phenyl ringe og to eller flere hydroxyl-substituenter, som gør polyfenoler til perfekte radikal scavengers

Web-of Science: #96,487 vids. Artikler (inkl. abstrakts, proceedings) om 'polyphenols'
- men kun 8 (!) af dem omtaler 'bioavailability'.

Naturlige antioxidanter, egnet til drægtige og ldiegivende sør – men det er fejfortolkning at det kan 'erstatte E-vitamin' (som sagt i artikel Lipenski et al., 2019, It. J. Anim. Sci):

Lav optagelse af disse stoffer I forhold til mængden af celle-generede oxidanter, og selv om der forbruges stof til at opnøse ROS, så sker der ikke en øget optagelse af polyphenol. Det er et problem ift. til udfordringen 'den højydende so og oxidativt stress omkring faring'



Contents lists available at ScienceDirect

Animal Nutrition

journal homepage: <http://www.keaipublishing.com/en/journals/aninu/>

KeAi
CHINESE ROOTS
GLOBAL IMPACT

Review Article

Nutritional strategies to alleviate oxidative stress in sows

Qihui Li ^a, Siwang Yang ^a, Fang Chen ^{a,b,c}^a Guangdong Province Key Laboratory of Animal Nutrition Control, College of Animal Science and Technology, South China Agricultural University, Guangzhou, China^b College of Animal Science and National Engineering Research Center for Animal Nutrition, South China Agricultural University, Guangzhou, China^c Guangdong Laboratory for Lingnan Modern Agriculture, South China Agricultural University, Guangzhou, China

Replicate number: 45 sows/group
Experimental condition: Sows in the control group were housed at control rooms with temperature $27.12 \pm 0.18^\circ\text{C}$ and temperature-humidity index (THI) 70.90 ± 0.80 .



Animal Nutrition 12 (2023) 96–107

Contents lists available at ScienceDirect

Animal Nutrition

journal homepage: <http://www.keaipublishing.com/en/journals/aninu/>

KeAi
CHINESE ROOTS
GLOBAL IMPACT

Review Article

Plant-derived polyphenols in sow nutrition: An update

Jun Chen ^{a,b}, Zhouyin Huang ^a, Xuehai Cao ^a, Tiande Zou ^a, Jinming You ^{a,*}, Wutai Guan ^{b,*}^a Jiangxi Province Key Laboratory of Animal Nutrition, College of Animal Science and Technology, Jiangxi Agricultural University, Nanchang, 330045, China^b Guangdong Provincial Key Laboratory of Animal Nutrition Control, College of Animal Science, South China Agricultural University, Guangzhou, 510642, China

SUMMERING OG KONKLUSION

- Højtydende søger har øget oxidativt stress - og især i sen-drægtighed og diegivning
- Det er mitochondriernes aktivitet, der er central for dannelsen af ROS
- Øget oxidativt stress kan også påvirke reproduktion – idet drægtighed i sig selv er en proces, hvor der sker øget oxidativt stress i børen
- Nyfødte grise – og især grise født under lange faringer – har risiko for oxidativt stress
- Det er vigtigt af have fokus på råmælken, for den indeholder også antioxidativ beskyttelse

Oxidativt stress hos højproduktive søger og grise kan forebygges ved

at til sætte foderet antioxidanter eller stoffer, der understøtter endogene antioxidative enzymer. Dog mangler klinisk evidens.

Hvilke antioxidanter er bedst? Sandsynligvis en cocktail.

- Aarhus Universitet
- Faculty of Science & Technology
- AU-Viborg – Forskningscenter Foulum
- Department of Animal and Veterinary Sciences





AARHUS
UNIVERSITY