功能性氨基酸调控猪氧化应激的研究进展

尹杰^{1,2}, 韩慧^{1,2}, 刘泽民^{1,2}, 何兴国³, 李铁军^{1*}, 印遇龙^{1*}

1. 动物营养生理与代谢过程湖南省重点实验室, 亚热带农业生态过程重点实验室, 中国科学院亚热带农业生态研究所, 长沙 410125;

2. 中国科学院大学, 北京 100049;

3. 长沙绿叶生物科技有限公司, 长沙 410125

* 联系人, E-mail: tjli@isa.ac.cn; yinyulong@isa.ac.cn

收稿日期: 2018-08-05; 接受日期: 2018-10-26; 网络版发表日期: 2019-01-09

国家自然科学基金(批准号: 31272463)、国家重点基础研究发展计划(批准号: 2012CB124704)和国家自然科学基金重大国际合作研究项目(批准号: 31110103909)资助

摘要 氧化应激是指人和动物机体自由基产生急剧增多或清除自由基能力下降, 从而打破了抗氧化-氧化平衡. 在猪生产上, 多种因素均能诱导产生氧化应激, 其中包括出生应激、断奶应激、饲料霉菌毒素污染以及饲养环境和社会因素等. 猪氧化应激发生往往伴随着其他病理因素, 对猪生产性能和健康生长具有重要影响. 目前, 多种功能性氨基酸被报道具有抗氧化能力, 包括含硫氨基酸、谷氨酸、精氨酸以及色氨酸等. 因此, 通过营养干预方法在饲料中补充或添加功能性氨基酸对猪氧化应激具有缓解效应. 本文主要就猪出生、断奶、霉菌毒素以及饲养环境造成的氧化应激以及功能性氨基酸营养调控进行了探讨, 以期对猪营养研究及功能性氨基酸科学应用提供参考.

关键词 猪, 氧化应激, 氨基酸, 营养调控

人和动物机体内的抗氧化系统均由不同抗氧化物酶类和抗氧化物质共同组成, 从而能够有效地清除机体产生的自由基, 维持抗氧化系统和氧化系统的动态平衡. 当机体受到内源或外源刺激时, 体内自由基产生急剧增多, 从而打破了机体抗氧化-氧化的动态平衡, 倾向于氧化状态, 造成氧化应激反应^[1]. 自由基能够攻击多种生物活性大分子, 包括蛋白质、核酸以及脂质, 从而进一步对生命体造成损伤^[2]. 近年来, 大量研究证实, 氧化应激与多种代谢性疾病密不可分, 包括癌症、肥胖、糖尿病、衰老以及一些炎症性疾病等, 可见氧化应激对动物和人类健康具有重要的影响^[3-5]. 在集约化养猪生产过程中, 多种因素均能诱发生氧化

化应激, 尤其是仔猪阶段. 氧化应激在猪生产上往往伴随着其他病理因素, 对猪生产性能和健康状况具有直接的负面影响. 因此, 研究氧化应激在动物的影响机理和人为干预方案, 对动物和人类健康具有重要的意义. 本文主要总结了本研究团队和其他国内外实验室最新功能性氨基酸营养调控猪氧化应激的研究成果, 以期对生猪生产实践提供可选择的预防和降低仔猪氧化损伤的营养干预方案.

1 猪氧化应激

在猪生产上, 多种因素能够诱发机体产生大量自

引用格式: 尹杰, 韩慧, 刘泽民, 等. 功能性氨基酸调控猪氧化应激的研究进展. 中国科学: 生命科学, 2019, 49: 193-201

Yin J, Han H, Liu Z M, et al. Regulation of functional amino acids on oxidative stress in pigs (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2019, 49: 193-201, doi: 10.1360/N052018-00159

由基, 从而造成猪(尤其是仔猪阶段)氧化损伤。猪肠道是自由基攻击的一个主要靶器官, 造成肠道结构破坏、微生物紊乱以及营养吸收障碍, 最终导致猪采食量下降、增重减缓或负增重, 对生猪养殖经济效益具有严重影响。目前, 国内外研究证实, 猪生产过程中主要有5种因子诱发产生氧化应激, 影响生猪健康生长, 其中包括仔猪出生过程、仔猪断奶应激、饲料中霉菌毒素污染以及饲养环境和社会因素等。

1.1 出生氧化应激

仔猪出生过程是猪一生中第一个大事件。母猪分娩过程主要变化因素是胎儿在母猪子宫低氧环境下通过母体胎盘体介导的被动呼吸到分娩后子宫外高氧环境的自主性呼吸。同时, 分娩过程还涉及环境、温度、湿度、光照以及噪音等变化, 这些因素的骤变可能会造成新生仔猪机体线粒体呼吸系统以及其他生理代谢系统产生大量的氧自由基。而新生仔猪机体抗氧化系统非常薄弱, 不能及时清除过量的自由基, 从而造成新生仔猪氧化应激反应^[6,7]。中国科学院亚热带农业生态研究所印遇龙院士团队通过对新生仔猪出生后21天内血液氧化指标和抗氧化指标的变化规律进行了研究^[8], 发现在仔猪出生当天, 血液脂质氧化产物丙二醛含量高达900 pmol/mg, 而在出生后第7天, 血液丙二醛下降到200 pmol/mg左右。同时, 蛋白质和核酸氧化产物也在仔猪出生当天呈现出峰值, 在第7天后显著下降。不仅如此, 仔猪出生后机体抗氧化酶包括谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-PX)和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性较低, 而在第7天后活性显著升高。由此进一步证实, 仔猪出生过程产生了大量自由基, 而薄弱的抗氧化系统不能及时清理出生应激诱导产生的自由基, 从而造成仔猪出生氧化应激反应。

有研究报道, 母猪妊娠阶段添加蛋氨酸能够显著提高仔猪出生后血液和肝脏抗氧化物酶的表达和酶活性^[9]。由此提示, 在母猪妊娠或泌乳阶段通过营养干预可增强仔猪抗氧化能力, 并可改善其生产性能, 其潜在的作用机制是通过母猪胎盘或乳汁方式将抗氧化物质等传递给仔猪, 促进其健康生长。

1.2 断奶氧化应激

仔猪早期断奶是现代集约化养猪业的关键技术之

一, 从传统28~35日龄断奶已经提前到21~23日龄。早期断奶可以有效提高母猪年生产力、饲料利用效率以及规模化猪场分娩舍和设备的利用率, 同时还有利于仔猪生长发育。但是由于断奶过程仔猪从母乳到饲料、转栏以及混群等因素都能诱导仔猪产生系统性应激, 即断奶应激。早期研究发现, 断奶后饲喂的固体饲料能直接造成仔猪肠道损伤, 增加肠道上皮结构通透性^[10], 从而进一步引发仔猪肠道病原菌感染、腹泻、食欲不振、采食量和增重下降等断奶综合征。我们前期研究发现, 仔猪断奶应激与氧化应激密不可分, 血液丙二醛在断奶后第3天显著上升, 蛋白质氧化损伤标志物蛋白羧基在断奶后第1天显著上升, 提示断奶诱导了仔猪氧化应激反应, 且脂质和蛋白质在断奶氧化损伤过程中敏感度不一, 蛋白质更容易受到断奶氧化应激的影响^[11]。Luo等人^[12]进一步证实仔猪断奶后肝脏氧自由基过氧化氢(hydrogen peroxide, H_2O_2)含量显著增加, 而GSH-PX和SOD等抗氧化物酶活性受到明显抑制。断奶氧化应激受多种因素影响, 其机制是一个多因素、多水平的复杂过程。目前研究证实多种信号机制参与断奶氧化应激反应, 其中包括NF-E2相关因子2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, NRF2)^[11,13]和丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)^[12]等信号通路。同时, 自噬、核kB因子(nuclear factor kappa B, NF- κ B)以及肠道微生物均被报道参与仔猪断奶应激^[14~16], 但是其在断奶诱导的氧化损伤过程中的作用及其机理仍需进一步研究。目前生产上已经广泛采用在教槽料中添加功能性物质或者饲喂湿料, 促进仔猪机体免疫等系统的发育, 从而缓解断奶应激^[17]。例如, Wang等人^[18]研究发现断奶显著影响了仔猪肠道抗氧化系统发育, 而日粮添加1%的谷氨酰胺增加了机体抗氧化功能, 并显著缓解了断奶应激反应。

1.3 霉菌毒素引起的氧化应激

霉菌毒素是由真菌或霉菌产生的次级代谢产物, 主要包括呕吐毒素(deoxynivalenol, DON)、玉米赤霉烯酮(zearalenone, ZON)以及黄曲霉毒素B1(aflatoxin B1, AFB1)等。本研究组于2013~2015年期间抽检了全国570份饲料原料以及全价料样品, 结果发现AFB1, ZON以及DON的检出率分别高达80.8%, 92.3%和93.9%^[19]。由此可见, 霉菌毒素对我国饲料行业污染相

当严重, 对生猪健康、肉质残留以及人类健康均具有潜在的威胁. 大量研究表明, 猪摄入含有霉菌毒素污染的饲料能够诱发系统性或组织氧化应激^[20~22]. 以 DON 为例, 处理猪肠道上皮细胞能够直接诱导细胞产生氧自由基, 而自噬可能是其中潜在的机制. 本研究组利用 CRISPR-Cas9 基因编辑技术敲出自噬关键基因, 结果发现缺乏自噬影响了细胞应激相关基因的表达^[23]. 通过建立仔猪 H₂O₂ 诱导的氧化应激急性模型进一步发现, 氧化应激能够诱发自噬反应, 并与核kB因子抑制剂激酶(the inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase, IKK)等信号通路联系, 介导机体抗氧化基因(SOD和GSH-PX等)的表达^[24]. 饲料霉菌毒素污染在猪生产上主要表现在厌食、生产性能下降、脏器损伤以及免疫功能紊乱等, 而氧化应激均对这些毒性现象具有促进作用. 因此, 提高抗氧化能力对缓解猪霉菌毒素中毒可能具有一定的预防和治疗意义.

目前国内外研究学者针对营养缓解(功能性氨基酸)仔猪霉菌毒素中毒做了大量研究, DON 是谷物饲料中最为常见的一种, 饲喂 DON 污染饲料诱导了仔猪机体氧化应激, 并造成了营养代谢紊乱, 而添加功能性氨基酸(如谷氨酸和精氨酸)促进了机体抗氧化能力, 缓解了氧化应激损伤^[25~27]. 采用自然发酵霉变方法研究混合霉菌毒素(主要包括 AFB₁, DON, 赭曲霉毒素和伏马毒素)对仔猪影响, 结果发现混合霉菌毒素显著降低了仔猪生产性能以及血液 SOD 活性, 而添加精氨酸显著促进了血液谷胱甘肽(glutathione, GSH)含量, GSH 是机体最为丰富和活性最强的抗氧化物质, 对霉菌毒素毒性作用具有显著缓解作用^[28]. 霉菌毒素污染往往包括多种毒素而不是单一某种毒素污染, 因此研究混合霉菌毒素仔猪毒理试验更具有现实和生产意义.

1.4 环境和社会因素引发的氧化应激

猪生产过程许多环境和社会因素也能够诱发猪产生氧化应激, 其中包括饲养密度、打架、猪舍卫生、冷热应激、运输应激以及大肠杆菌感染等.

在实际生产过程中, 为了节约饲养空间, 猪饲养密度往往大于猪舍建设标准, 而高密度养殖往往会诱发一系列不利健康因素, 包括: 活动空间不足、猪舍温度升高、通风效果减弱、有害气体蓄积、细菌大量繁殖、食物和饮水紧张、打架撕咬行为过多等. 研究表

明, 高密度饲养能够显著诱导不同阶段猪机体自由基的产生, 从而破坏抗氧化-氧化平衡, 造成氧化损伤^[29]. 通过比较血液氧化损伤标志物发现, 高密度饲养猪血液蛋白羟基明显升高, 提示高密度饲养环境能够造成猪氧化应激反应及其氧化损伤^[30]. 但是, 目前并没有证据表明高密度饲养直接造成了猪氧化应激反应, 而高密度饲养诱发的猪舍温度升高、有害气体蓄积、细菌感染以及打架等均可以直接造成猪机体自由基的大量产生, 导致氧化应激损伤.

猪对热应激十分敏感, 因此, 高温也是猪生产上最为常见的应激源. 短期热应激试验(2天)发现生长猪直肠温度、呼吸代谢率以及肠道通透性显著增加, 同时伴随着氧化应激反应^[31]. 长期热应激试验(3周)鉴定出 37 个肝脏差异性蛋白, 其中 10 个蛋白参与猪机体氧化应激反应^[32]. 猪细胞培养试验进一步证实热应激诱导了猪肌肉细胞氧化应激, 但是对炎症信号没有改变^[33]. Ganesan 等人^[34]发现热应激能够诱导猪肌肉细胞炎症反应, 造成结果差异的因素可能与热应激温度和处理时间相关, 但是仍需进一步研究证实.

此外, 冷应激、运输应激以及感染均能够诱发猪产生强烈的应激反应, 影响机体代谢, 但是目前关于这些应激源对机体氧化系统的影响研究较少, 因此仍需要进一步研究其对机体自由基的产生以及抗氧化系统的影响, 同时探讨潜在的营养调控方式.

1.5 猪氧化应激模型

目前, 研究猪氧化应激模型主要包括敌草快模型、双氧水模型、脂多糖模型、呕吐毒素模型等, 不同模型机理各不相同, 但是均能诱导猪产生大量自由基, 从而破坏机体抗氧化-氧化平衡, 造成氧化应激.

目前建立猪氧化应激的主要方式是敌草快模型, 通过腹腔注射一定剂量的敌草快(8~15 mg/kg), 其不仅能够自身分解超氧阴离子自由基, 同时还能够作用于细胞呼吸周期刺激自由基的生成, 使机体内环境抗氧化-氧化平衡紊乱, 诱导动物产生氧化应激反应^[35,36]. 徐静等人^[37]评估了生长猪注射敌草快后氧化应激效应, 结果发现敌草快注射 7 天后显著诱导了猪系统氧化应激反应, 且应激效应可持续 28 天. 目前, 敌草快模型被广泛应用于研究猪氧化应激反应时营养干预效果.

通过胃插管手术, 本研究组建立了仔猪 H₂O₂ 氧化应激急性模型^[24], 注射 5%~10% 的 H₂O₂ 在 2 天内显著诱

导了仔猪系统性氧化应激反应, 同时通过破坏肠道通透性和肠道绒毛结构, 导致肠道损伤^[24]。此模型虽然采用H₂O₂直接诱导, 由于需要提前对猪进行手术, 同时H₂O₂容易造成猪胃溃疡, 因此在运用上具有很大的局限性。但是在细胞试验上, H₂O₂是最主要和最直接的氧化应激诱导剂, 对细胞模型氧化应激机理研究具有重要的意义^[38]。机理分析发现, H₂O₂处理仔猪或猪肠道上皮细胞模型, 均能够诱发自噬反应、细胞线粒体紊乱以及凋亡反应, 同时NF- κ B和NRF2等信号通路参与H₂O₂诱导的氧化应激^[24,39]。

脂多糖模型在仔猪研究过程中广泛作为炎症反应模型^[40-42], 但是炎症反应与氧化应激密不可分, 炎症反应过程中也会激发自由基的产生, 从而伴随氧化应激反应, 同时氧化应激反应也会参与到炎症反应过程中^[43,44]。此外, 大量体内和体外试验发现DON除了具有霉菌毒素作用, 还能够诱导产生自由基, 因此也有研究采用DON诱导氧化应激反应^[23,45]。

2 功能性氨基酸营养调控

功能性氨基酸的概念在十年前被提出后得到了国内外研究学者的广泛认可, 与传统氨基酸比较, 功能性氨基酸不仅能够作为蛋白合成前体, 还对生命活动起到诸多生理调控作用^[46,47], 其中包括抗氧化功能。目前, 苏氨酸、色氨酸、亮氨酸、精氨酸、胱氨酸、谷氨酸、脯氨酸以及甘氨酸氨基酸都被归纳为功能性氨基酸^[48,49], 而这些功能性氨基酸中绝大多数都具有抗氧化功能。

半胱氨酸(胱氨酸还原形式)、谷氨酸以及甘氨酸是合成机体GSH的前体物质, 因此三者对机体抗氧化系统具有直接影响。在小鼠模型下, 我们发现添加半胱氨酸和谷氨酸能够显著促进肝脏GSH的合成^[50]。不仅如此, 细胞内半胱氨酸还能够自身氧化成半胱胺, 或者通过酶促反应合成牛磺酸和硫化氢(H₂S)信号分子, 二者对机体抗氧化系统都具有潜在的促进作用^[50]。仔猪模型上, 添加半胱氨酸显著增加了肠道GSH含量和抗氧化酶SOD, GSH-PX以及过氧化氢酶的活性, 并进一步缓解了脂多糖诱导的炎症反应和肠道损伤^[51]。发育迟缓仔猪补充1.2 g/kg半胱氨酸前体(乙酰半胱氨酸)后上调了肝脏GSH合成相关基因的表达, 并增加了GSH含量, 对其生长发育具有明显的改善作

用^[52]。不仅如此, 在脂多糖模型上, 日粮添加乙酰半胱氨酸还具有明显的抗炎作用, 对脂多糖诱导的仔猪炎症氧化应激起到积极调控作用^[53,54]。

谷氨酸属于酸性氨基酸。通过腹腔注射敌草快建立仔猪氧化应激模型, 本研究组前期试验发现饲料中添加谷氨酸能显著增加血液中谷氨酸含量, 并对机体氧化应激起到明显的缓解作用^[55]。此外, 断奶仔猪饲喂谷氨酰胺(谷氨酸合成前体)也能够对肠道抗氧化能力具有一定促进作用^[56]。其主要作用机理可能是与半胱氨酸一起合成GSH参与抗氧化反应。

除了半胱氨酸, 蛋氨酸是另外一种含硫氨基酸, 其抗氧化作用在机体具有“双刃剑”特性。首先, 蛋氨酸在细胞内能够直接与自由基反应从而达到清除自由基的目的。其次, 蛋氨酸能够合成半胱氨酸, 对机体抗氧化系统起到间接调节作用^[57,58]。然而, 研究发现动物模型添加过量的蛋氨酸能够显著增加同型半胱氨酸含量和DNA甲基化紊乱几率, 并进一步直接诱导线粒体产生自由基, 造成氧化应激^[57,59]。同时, 蛋氨酸限饲能够作用于线粒体呼吸系统, 降低氧自由基的产生。此外, 研究显示蛋氨酸限饲能够调控NRF2信号和线粒体解偶联蛋白表达, 进一步影响机体氧自由基的产生和抗氧化基因的表达^[57]。目前, 蛋氨酸在猪上的研究并未取得一致结果, 有文章^[60]报道饲料中添加蛋氨酸能够增加断奶仔猪血液和组织含硫氨基酸、谷氨酸以及GSH含量, 并对肠道黏膜屏障具有积极作用。而Zeit等^[61]发现11 kg仔猪日粮额外添加0.40%~0.48%的蛋氨酸对肝脏和肠道总抗氧化能力、GSH以及抗氧化基因表达并没有明显影响。此外, 也有研究显示蛋氨酸限饲对猪抗氧化系统以及线粒体自由基的产生均具有积极的调节作用, 例如蛋氨酸限饲增加了生长猪机体抗氧化酶SOD, CAT以及GSH-PX的活性, 但是肝脏GSH含量显著下降^[62]。总之, 蛋氨酸在动物机体内具有抗氧化和促氧化的双重作用, 但是蛋氨酸也是猪生产上的限制性氨基酸, 因此确定其抗氧化和促氧化的平衡剂量仍需进一步研究。

精氨酸在机体内能够通过多种途径对抗氧化系统起到间接调节作用。仔猪氧化应激模型上, 精氨酸显著提高了抗氧化酶GSH-PX和SOD活性, 并缓解了敌草快诱导的氧化损伤^[63]。在脂多糖等模型中, 日粮添加1%的精氨酸显著改善了肠道屏障功能以及肠道免疫^[64,65]。育肥猪试验显示, 精氨酸改善了肌肉抗氧化能

力和猪肉肉质指标, 而肌肉抗氧化水平与猪肉品质密切相关^[66]. 其作用机理可能是通过促进一氧化氮(nitric oxide, NO)产生, 并进一步调节抗氧化系统. 研究显示, 母猪机体NO水平与精氨酸饲喂量成正相关^[67], 而NO是一条广泛存在的抗氧化信号通路, 对机体氧化应激状态具有重要的调节作用^[68].

色氨酸及其代谢产物也被报道具有抗氧化特性^[69]. 研究显示敌草快诱导的仔猪氧化应激显著降低了血液色氨酸含量^[70], 而哺乳仔猪饲喂色氨酸抑制了应激激素的分泌, 并提高了生产性能^[71]. 体外试验发现色氨酸能够激活仔猪肠道上皮细胞哺乳动物雷帕霉素靶点(the mammalian target of rapamycin, mTOR)信号通路, 并上调氨基酸转运载体和紧密连接蛋白的表达, 对肠道功能具有积极作用^[72]. 但是添加高剂量色氨酸对仔猪肠道形态结果具有一定程度的毒性作用^[73]. 因此, 色氨酸在猪生产上使用需要注意其剂量效应. 褪黑素是色氨酸主要代谢产物之一, 现在大量研究证实了其抗氧化能力^[74,75]. 在PM_{2.5}诱导的动物氧化应激模型上, 添加褪黑素能够显著缓解脑部和肺脏氧化应激损伤, 同时对炎症也具有一定的治疗效果^[76]. 体外试验进一步发现褪黑素缓解了H₂O₂诱导的猪氧化应激损伤, 同时促进猪胚胎发育^[77].

3 总结与展望

出生、断奶、饲料霉菌毒素污染以及饲养环境和社会因素是诱导猪产生氧化应激的重要因素, 对猪的健康生长具有重要的影响(图1). 猪生产上, 氧化应激往往伴随着厌食、生产性能下降以及炎症等反应, 而普遍治疗方式是采用抗生素处理. 目前, 在全国禁抗大环境下, 采用营养干预手段预防或治疗仔猪氧化应激及其他病理反应具有重要的意义. 大量功能性氨基酸除了合成蛋白质外, 对机体抗氧化系统也具有积极影响, 其中主要包括含硫氨基酸、谷氨酸、精氨酸以及色氨酸等. 通过优化饲料配方中功能性氨基酸含量, 不仅能够满足猪日常氨基酸需要, 同时对机体多种生

图1 猪生产中氧化应激诱导因素以及功能性氨基酸缓解机理(网络版彩图)

Figure 1 Oxidative stress inducers in pig industry and the alleviating mechanism of functional amino acids (color online).

理功能起到积极影响(图1)^[78-80].

尽管如此, 目前关于猪氧化应激和营养调控领域仍存在许多亟待研究的课题: (i) 猪断奶是一个综合性过程, 断奶氧化应激的具体机制以及其在断奶应激过程中的伴随或主导作用仍需进一步研究; (ii) 氧化应激与人类多种代谢疾病密切相关, 而猪作为人类疾病研究最为理想的模式动物^[81], 猪氧化应激及其相关人类疾病研究仍较少; (iii) 目前国内外缺乏较为成熟、稳定的猪氧化应激模型, 直接制约了猪氧化应激的研究. 蛋氨酸过量可以诱发氧化应激, 因此在猪模型上, 是否可以通过增加日粮中蛋氨酸含量来诱导猪氧化应激? (iv) 目前国内外关于猪氧化应激的研究主要集中在仔猪阶段, 猪生长不同阶段对氧化应激反应情况并未进行系统性比较, 且不同氧化应激模型对猪氧化损伤靶向器官各不相同, 阻碍了对猪氧化应激机理进行系统研究; (v) 许多功能性氨基酸被证实具有抗氧化功能, 但是目前仍未有研究对其抗氧化能力及其效价进行评估. 同时, 目前关于功能性氨基酸在猪氧化应激模型上的添加量存在较大差异, 有些研究采用《猪营养需要(2012)》标准推荐量进行配平, 但也有许多试验直接在饲料中额外添加0.5%~2%的功能性氨基酸, 因此, 目前亟需在猪不同氧化应激模型下确定功能性氨基酸最佳需要量, 从而指导和完善抗氧化富集饲料综合配制.

致谢 感谢印遇龙院士课题组成员以及国内外相关猪营养研究团队前期关于猪氧化应激以及营养调控开展的一系列试验.

参考文献

- 1 Yin J, Ren W K, Wu X S, et al. Oxidative stress-mediated signaling pathways: A review. *J Food Agric Environ*, 2013, 11: 132–139
- 2 Piskounova E, Agathocleous M, Murphy M M, et al. Oxidative stress inhibits distant metastasis by human melanoma cells. *Nature*, 2015, 527: 186–191
- 3 Kregel U, Törnroth-Horsefield S. Coping with oxidative stress. *Science*, 2015, 347: 125–126
- 4 Stockwell B R, Angeli J P, Bayir H, et al. Ferroptosis: A regulated cell death nexus linking metabolism, redox biology, and disease. *Cell*, 2017, 171: 273–285
- 5 Cline II C J, Faul U H, David E C, et al. Redox-influenced seismic properties of upper-mantle olivine. *Nature*, 2018, 555: 355–358
- 6 Li T J, Yin J, Duan J L, et al. Birth oxidative stress and the development of antioxidant system in newborns (in Chinese). *Sci Technol Rev*, 2014, 32: 79–83 [李铁军, 尹杰, 段杰林, 等. 出生氧化应激及其对抗氧化系统的影响. *科技导报*, 2014, 32: 79–83]
- 7 Jain L. Stress at birth and its inextricable link to the neonatal transition. *Obstet Gynecol*, 2016, 128: 685–687
- 8 Yin J, Ren W, Liu G, et al. Birth oxidative stress and the development of an antioxidant system in newborn piglets. *Free Radical Res*, 2013, 47: 1027–1035
- 9 Mou D, Wang J, Liu H, et al. Maternal methyl donor supplementation during gestation counteracts bisphenol A-induced oxidative stress in sows and offspring. *Nutrition*, 2018, 45: 76–84
- 10 Hu C H, Xiao K, Luan Z S, et al. Early weaning increases intestinal permeability, alters expression of cytokine and tight junction proteins, and activates mitogen-activated protein kinases in pigs. *J Animal Sci*, 2013, 91: 1094–1101
- 11 Yin J, Wu M M, Xiao H, et al. Development of an antioxidant system after early weaning in piglets. *J Animal Sci*, 2014, 92: 612–619
- 12 Luo Z, Zhu W, Guo Q, et al. Weaning induced hepatic oxidative stress, apoptosis, and aminotransferases through MAPK signaling pathways in piglets. *Oxidative Med Cellular Longevity*, 2016, 2016: 1–10
- 13 Meng Q, Guo T, Li G, et al. Dietary resveratrol improves antioxidant status of sows and piglets and regulates antioxidant gene expression in placenta by Keap1-Nrf2 pathway and Sirt1. *J Animal Sci Biotechnol*, 2018, 9: 34
- 14 Yi H, Jiang D, Zhang L, et al. Developmental expression of STATs, nuclear factor- κ B and inflammatory genes in the jejunum of piglets during weaning. *Int Immunopharm*, 2016, 36: 199–204
- 15 Zhang S, Li X, Li L, et al. Autophagy up-regulation by early weaning in the liver, spleen and skeletal muscle of piglets. *Br J Nutr*, 2011, 106: 213–217
- 16 Bomba L, Minuti A, Moisés S J, et al. Gut response induced by weaning in piglet features marked changes in immune and inflammatory response. *Funct Integr Genomics*, 2014, 14: 657–671
- 17 Buchet A, Belloc C, Leblanc-Maridor M, et al. Effects of age and weaning conditions on blood indicators of oxidative status in pigs. *PLoS ONE*, 2017, 12: e0178487
- 18 Wang J, Chen L, Li P, et al. Gene expression is altered in piglet small intestine by weaning and dietary glutamine supplementation. *J Nutr*, 2008, 138: 1025–1032
- 19 Wu L, Li J, Li Y, et al. Aflatoxin B1, zearalenone and deoxynivalenol in feed ingredients and complete feed from different Province in China. *J Animal Sci Biotechnol*, 2016, 7: 63
- 20 Shin K T, Guo J, Niu Y J, et al. The toxic effect of aflatoxin B1 on early porcine embryonic development. *Theriogenology*, 2018, 118: 157–163
- 21 Enciso J M, de Cerain A L, Pastor L, et al. Is oxidative stress involved in the sex-dependent response to ochratoxin A renal toxicity? *Food Chem Toxicol*, 2018, 116: 379–387
- 22 Marin D E, Pistol G C, Gras M A, et al. Comparative effect of ochratoxin A on inflammation and oxidative stress parameters in gut and kidney of piglets. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2017, 89: 224–231
- 23 Tang Y, Li J, Li F, et al. Autophagy protects intestinal epithelial cells against deoxynivalenol toxicity by alleviating oxidative stress via IKK signaling pathway. *Free Radical Biol Med*, 2015, 89: 944–951
- 24 Yin J, Duan J, Cui Z, et al. Hydrogen peroxide-induced oxidative stress activates NF- κ B and Nrf2/Keap1 signals and triggers autophagy in piglets. *RSC Adv*, 2015, 5: 15479–15486
- 25 Wu M, Xiao H, Ren W, et al. Therapeutic effects of glutamic acid in piglets challenged with deoxynivalenol. *PLoS ONE*, 2014, 9: e100591

- 26 Wu L, Liao P, He L, et al. Dietary *L*-arginine supplementation protects weanling pigs from deoxynivalenol-induced toxicity. *Toxins*, 2015, 7: 1341–1354
- 27 Wu M, Xiao H, Ren W, et al. An NMR-based metabolomic approach to investigate the effects of supplementation with glutamic acid in piglets challenged with deoxynivalenol. *PLoS ONE*, 2014, 9: e113687
- 28 Yin J, Ren W, Duan J, et al. Dietary arginine supplementation enhances intestinal expression of SLC7A7 and SLC7A1 and ameliorates growth depression in mycotoxin-challenged pigs. *Amino Acids*, 2014, 46: 883–892
- 29 Wolter B F, Ellis M, Corrigan B P, et al. Impact of early postweaning growth rate as affected by diet complexity and space allocation on subsequent growth performance of pigs in a wean-to-finish production system1. *J Animal Sci*, 2003, 81: 353–359
- 30 Wolter B F, Ellis M, DeDecker J M, et al. Effects of double stocking and weighing frequency on pig performance in wean-to-finish production systems1. *J Animal Sci*, 2002, 80: 1442–1450
- 31 Liu F, Cottrell J J, Furness J B, et al. Selenium and vitamin E together improve intestinal epithelial barrier function and alleviate oxidative stress in heat-stressed pigs. *Exp Physiol*, 2016, 101: 801–810
- 32 Cui Y, Hao Y, Li J, et al. Chronic heat stress induces immune response, oxidative stress response, and apoptosis of finishing pig liver: A proteomic approach. *Int J Mol Sci*, 2016, 17: 393
- 33 Montilla S I R, Johnson T P, Pearce S C, et al. Heat stress causes oxidative stress but not inflammatory signaling in porcine skeletal muscle. *Temperature*, 2014, 1: 42–50
- 34 Ganesan S, Reynolds C, Hollinger K, et al. Twelve hours of heat stress induces inflammatory signaling in porcine skeletal muscle. *Am J Physiol-Reg I*, 2016, 310: R1288–R1296
- 35 Wang B. Construction and evaluation of agricultural animal models for oxidative stress (in Chinese). *Feed Res*, 2013, 3: 73–76 [王彬. 氧化应激农业动物模型的构建与评价. 饲料研究, 2013, 3: 73–76]
- 36 Zhao Y B, Sa R L, Na·Ba G N, et al. Methods of animal oxidation and immune stress models (in Chinese). *Chin J Anim Sci*, 2018, 54: 20–25 [赵亚波, 萨茹丽, 那·巴根那, 等. 动物氧化和免疫应激模型的建立方法. 中国畜牧杂志, 2018, 54: 20–25]
- 37 Xu J, Yu B, Chen D W. Duration and indicators of oxidation stress induced by diquat in growing pigs (in Chinese). *Sci Agricul Sin*, 2008, 41: 4359–4364 [徐静, 余冰, 陈代文. Diquat诱导的生长猪氧化应激持续时间及适宜的应激标识. 中国农业科学, 2008, 41: 4359–4364]
- 38 Hurst J, Kuehn S, Jashari A, et al. A novel porcine *ex vivo* retina culture model for oxidative stress induced by H₂O₂. *Alterna Lab Ani*, 2017, 45: 11–25
- 39 Yin J, Wu M, Li Y, et al. Toxicity assessment of hydrogen peroxide on Toll-like receptor system, apoptosis, and mitochondrial respiration in piglets and IPEC-J2 cells. *Oncotarget*, 2017, 8: 3124–3131
- 40 Sun L H, Pi D A, Zhao L, et al. Response of selenium and selenogenome in immune tissues to LPS-induced inflammatory reactions in pigs. *Biol Trace Elem Res*, 2017, 177: 90–96
- 41 Zhang J, Fu S L, Liu Y, et al. Analysis of microRNA expression profiles in weaned pig skeletal muscle after lipopolysaccharide challenge. *Int J Mol Sci*, 2015, 16: 22438–22455
- 42 Liu Y L, Shi J X, Lu J, et al. Up-regulated expression of peroxisome proliferator-activated receptor γ in the hypothalamic-pituitary-adrenal axis of weaned pigs after *Escherichia coli* lipopolysaccharide challenge. *Vet J*, 2010, 184: 230–235
- 43 Lugin J, Rosenblatt-Velin N, Parapanov R, et al. The role of oxidative stress during inflammatory processes. *Biol Chem*, 2014, 395: 203–230
- 44 Dandekar A, Mendez R, Zhang K. Cross talk between ER stress, oxidative stress, and inflammation in health and disease. In: Osowski C, ed. *Stress Responses. Methods in Molecular Biology*, vol 1292. New York: Humana Press, 2015
- 45 Modra H, Blahova J, Marsalek P, et al. The effects of mycotoxin deoxynivalenol (DON) on haematological and biochemical parameters and selected parameters of oxidative stress in piglets. *Neuro Endocrinol Lett*, 2013, 34(Suppl.2): 84–89
- 46 Kong X F, Yin Y L, Wu G Y. Research advances in functional amino acid nutrition of pigs (in Chinese). *Chin J Anim Nutr*, 2009, 21: 1–7 [孔祥峰, 印遇龙, 伍国耀. 猪功能性氨基酸营养研究进展. 动物营养学报, 2009, 21: 1–7]
- 47 Gao C Q, Li X G, Fan H B, et al. Latest advances on amino acid nutrition in pigs (in Chinese). *Feed Ind*, 2016, 37: 38–42 [高春起, 黎相广, 范宏博, 等. 猪氨基酸营养最新研究进展. 饲料工业, 2016, 37: 38–42]
- 48 Wu G. Functional amino acids in growth, reproduction, and health. *Adv Nutr*, 2010, 1: 31–37
- 49 Wu G. Functional amino acids in nutrition and health. *Amino Acids*, 2013, 45: 407–411
- 50 Yin J, Ren W, Yang G, et al. *L*-cysteine metabolism and its nutritional implications. *Mol Nutr Food Res*, 2016, 60: 134–146

- 51 Song Z, Tong G, Xiao K, et al. *L*-cysteine protects intestinal integrity, attenuates intestinal inflammation and oxidant stress, and modulates NF- κ B and Nrf2 pathways in weaned piglets after LPS challenge. *Innate Immun*, 2016, 22: 152–161
- 52 Zhang H, Su W, Ying Z, et al. *N*-acetylcysteine attenuates intrauterine growth retardation-induced hepatic damage in suckling piglets by improving glutathione synthesis and cellular homeostasis. *Eur J Nutr*, 2018, 57: 327–338
- 53 Hou Y, Wang L, Zhang W, et al. Protective effects of *N*-acetylcysteine on intestinal functions of piglets challenged with lipopolysaccharide. *Amino Acids*, 2012, 43: 1233–1242
- 54 Yi D, Hou Y, Wang L, et al. Dietary *N*-acetylcysteine supplementation alleviates liver injury in lipopolysaccharide-challenged piglets. *Br J Nutr*, 2014, 111: 46–54
- 55 Yin J, Liu M, Ren W, et al. Effects of dietary supplementation with glutamate and aspartate on diquat-induced oxidative stress in piglets. *PLoS ONE*, 2015, 10: e0122893
- 56 Lv D, Xiong X, Yang H, et al. Effect of dietary soy oil, glucose, and glutamine on growth performance, amino acid profile, blood profile, immunity, and antioxidant capacity in weaned piglets. *Sci China Life Sci*, 2018, 61: 1233–1242
- 57 Yin J, Ren W, Chen S, et al. Metabolic regulation of methionine restriction in diabetes. *Mol Nutr Food Res*, 2018, 62: 1700951
- 58 Martínez Y, Li X, Liu G, et al. The role of methionine on metabolism, oxidative stress, and diseases. *Amino Acids*, 2017, 49: 2091–2098
- 59 Selhub J, Troen A M. Sulfur amino acids and atherosclerosis: A role for excess dietary methionine. *Ann NY Acad Sci*, 2016, 1363: 18–25
- 60 Chen Y, Li D, Dai Z, et al. *L*-methionine supplementation maintains the integrity and barrier function of the small-intestinal mucosa in post-weaning piglets. *Amino Acids*, 2014, 46: 1131–1142
- 61 Zeitz J O, Kaltenböck S, Most E, et al. Antioxidant status and expression of inflammatory genes in gut and liver of piglets fed different dietary methionine concentrations. *J Anim Physiol Anim Nutr*, 2017, 101: 1166–1174
- 62 Castellano R, Perruchot M H, Conde-Aguilera J A, et al. A methionine deficient diet enhances adipose tissue lipid metabolism and alters anti-oxidant pathways in young growing pigs. *PLoS ONE*, 2015, 10: e0130514
- 63 Zheng P, Yu B, He J, et al. Protective effects of dietary arginine supplementation against oxidative stress in weaned piglets. *Br J Nutr*, 2013, 109: 2253–2260
- 64 Zhu H L, Liu Y L, Xie X L, et al. Effect of *L*-arginine on intestinal mucosal immune barrier function in weaned pigs after *Escherichia coli* LPS challenge. *Innate Immun*, 2013, 19: 242–252
- 65 Han J, Liu Y L, Fan W, et al. Dietary *L*-arginine supplementation alleviates immunosuppression induced by cyclophosphamide in weaned pigs. *Amino Acids*, 2009, 37: 643–651
- 66 Ma X, Lin Y, Jiang Z, et al. Dietary arginine supplementation enhances antioxidative capacity and improves meat quality of finishing pigs. *Amino Acids*, 2010, 38: 95–102
- 67 Li J, Xia H, Yao W, et al. Effects of arginine supplementation during early gestation (day 1 to 30) on litter size and plasma metabolites in gilts and sows1. *J Animal Sci*, 2015, 93: 5291–5303
- 68 Correa-Aragunde N, Foresi N, Lamattina L. Nitric oxide is a ubiquitous signal for maintaining redox balance in plant cells: Regulation of ascorbate peroxidase as a case study. *J Exp Bot*, 2015, 66: 2913–2921
- 69 Xu K, Liu H, Bai M, et al. Redox properties of tryptophan metabolism and the concept of tryptophan use in pregnancy. *Int J Mol Sci*, 2017, 18: 1595
- 70 Lv M, Yu B, Mao X B, et al. Responses of growth performance and tryptophan metabolism to oxidative stress induced by diquat in weaned pigs. *Animal*, 2012, 6: 928–934
- 71 Shen Y B, Voilqué G, Odle J, et al. Dietary *L*-tryptophan supplementation with reduced large neutral amino acids enhances feed efficiency and decreases stress hormone secretion in nursery pigs under social-mixing stress. *J Nutrition*, 2012, 142: 1540–1546
- 72 Wang H, Ji Y, Wu G, et al. *L*-tryptophan activates mammalian target of rapamycin and enhances expression of tight junction proteins in intestinal porcine epithelial cells. *J Nutrition*, 2015, 145: 1156–1162
- 73 Tossou M C B, Liu H, Bai M, et al. Effect of high dietary tryptophan on intestinal morphology and tight junction protein of weaned pig. *Biomed Res Int*, 2016, 2016: 1–6
- 74 Galano A, Reiter R J. Melatonin and its metabolites vs oxidative stress: From individual actions to collective protection. *J Pineal Res*, 2018, 65: e12514
- 75 Bisquert R, Muñoz-Calvo S, Guillaumon J M. Protective role of intracellular melatonin against oxidative stress and UV radiation in *saccharomyces*

- cerevisiae. *Front Microbiol*, 2018, 9: 318
- 76 Ji Z J, Wang Z, Chen Z, et al. Melatonin attenuates chronic cough mediated by oxidative stress via transient receptor potential melastatin-2 in guinea pigs exposed to particulate matter 2.5. *Physiol Res*, 2018, 67: 293–305
- 77 Jang H Y, Kim Y H, Kim B W, et al. Ameliorative effects of melatonin against hydrogen peroxide-induced oxidative stress on boar sperm characteristics and subsequent *in vitro* embryo development. *Reproduction Domestic Animals*, 2010, 45: 943–950
- 78 Liu Y, Wang X, Hou Y, et al. Roles of amino acids in preventing and treating intestinal diseases: Recent studies with pig models. *Amino Acids*, 2017, 49: 1277–1291
- 79 Longchamp A, Mirabella T, Arduini A, et al. Amino acid restriction triggers angiogenesis via GCN2/ATF4 regulation of VEGF and H₂S production. *Cell*, 2018, 173: 117–129.e14
- 80 Pavlova N N, Hui S, Ghergurovich J M, et al. As extracellular glutamine levels decline, asparagine becomes an essential amino acid. *Cell Metab*, 2018, 27: 428–438.e5
- 81 Yin L, Yang H, Li J, et al. Pig models on intestinal development and therapeutics. *Amino Acids*, 2017, 49: 2099–2106

Regulation of functional amino acids on oxidative stress in pigs

YIN Jie^{1,2}, HAN Hui^{1,2}, LIU ZeMin^{1,2}, HE XingGuo³, LI TieJun¹ & YIN YuLong¹

¹Laboratory of Animal Nutritional Physiology and Metabolic Process, Key Laboratory of Agro-ecological Processes in Subtropical Region, Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125, China;

²University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;

³Changsha Green Leaf Biotechnology Co., Ltd., Changsha 410125, Hunan

Rapid generation of free radical species in the body impairs the antioxidant-oxidative balance, which further causes oxidative stress in humans and animals. In the pig industry, various factors can induce oxidative stress, including birth process, weaning stress, mycotoxin contamination, and feeding environment. Oxidative stress is generally accompanied by other pathologies, which further exerts an important effect on growth performance and healthy status. Currently, various functional amino acids (i.e., sulfur-containing amino acids, glutamic acid, arginine, and tryptophan) are reported to exhibit a potential antioxidant ability. Thus, dietary supplementation with functional amino acids may exert a preventive or therapeutic effect on oxidative stress in pigs. This review mainly discusses the birth-, weaning-, mycotoxins-, and feeding environment-induced oxidative stress and nutritional regulation in pigs, which may provide a reference for the study and scientific application in pig nutrition.

pig, oxidative stress, amino acids, nutritional regulation

doi: [10.1360/N052018-00159](https://doi.org/10.1360/N052018-00159)