

ACIDO LAURICO SAPONIFICATO CON IL CALCIO NELLA DIETA DI SUINETTI IN POST SVEZZAMENTO: EFFETTI SULLE PERFORMANCE DI CRESCITA E SULLA SALUTE INTESTINALE

LAURIC ACID SAPONIFIED WITH CALCIUM IN POST WEANING PIGLETS: EFFECT ON GROWTH PERFORMANCE AND GUT HEALTH

GIORGI S., COMI M., GHIRINGHELLI M., CEVOLANI D., BONTEMPO V.

*Università degli Studi di Milano – Dipartimento di Scienze Veterinarie per la Salute, la
Produzione Animale e la Sicurezza Alimentare*

Parole chiave: acidi grassi a media catena, acido laurico, saponificazione
Key words: medium chain fatty acids, lauric acid, saponification

Riassunto: È noto che gli acidi grassi a media catena (MCFA) hanno un'azione antibatterica, in particolare nei confronti dei batteri Gram+. Lo scopo del lavoro è stato valutare gli effetti dell'acido laurico (C12) saponificato con il calcio sulle performance produttive e la salute intestinale dei suinetti in svezzamento. Per la prova sono stati impiegati 192 suinetti, ripartiti in 3 gruppi, alimentati rispettivamente con una dieta basale (Db= Ctr), Db+Amoxicillina, 400mg/kg (T1) e Db+C12-Ca, 1kg/ton (T2). L'integrazione della dieta con C12-Ca ha comportato una riduzione della mortalità e dei trattamenti medicamentosi rispetto ai soggetti Ctr. L'efficienza alimentare è risultata analoga nei soggetti alimentati con la dieta integrata con laurato di calcio e in quelli trattati con antibiotico, con una differenza significativa rispetto ai controlli ($P < 0,05$). La somministrazione del laurato ha infine determinato un miglioramento dello stato antiossidante della mucosa intestinale rispetto ai soggetti degli altri due gruppi con un aumento della capacità antiossidante totale TAOC ($P < 0,01$) e una riduzione dei livelli di Malondialdeide ($P < 0,01$). I risultati suggeriscono che l'inclusione nella dieta dei suinetti di C12-Ca può migliorare la salute intestinale e può rappresentare una possibile alternativa all'antibiotico, impiegato per scopi di profilassi.

Abstract: It is known that medium chain fatty acids (MCFA) have antibacterial action, in particular against Gram + bacteria. The aim of the present work was to evaluate the effects of lauric acid (C12) saponified with calcium on growth performance and gut health of weaned piglets. 192 piglets were used, divided into 3 groups, fed respectively with a basal diet (Db = Ctr), Db + Amoxicillin, 400mg / kg (T1) and Db + C12-Ca, 1kg / ton (T2). The diet integration with C12-Ca led to a reduction in mortality and antibiotic treatments compared to Ctr. Feed efficiency was similar in piglets fed with the diet supplemented with calcium laurate and those treated with antibiotic, with a significant difference compared to Ctr ($P < 0,05$). Finally, administration of laurate has led to an improvement in the antioxidant state of intestinal mucosa compared to piglets of other two groups with an increase in total antioxidant TAOC ($P < 0,01$) and a reduction of Malondialdehyde levels ($P < 0,01$). The results suggest that the inclusion in piglet diet of C12-Ca can improve gut health and may represent a possible alternative to antibiotic used for prophylaxis purposes.

INTRODUZIONE

Il crescente problema dell'antibiotico resistenza ha imposto l'esigenza di valutare strategie

nutrizionali alternative che limitino l'uso dell'antibiotico nell'allevamento suino. Una possibile soluzione è rappresentata dagli acidi grassi a media catena (MCFA). Precedenti studi hanno dimostrato come gli MCFA migliorino le prestazioni di crescita e prevengano gli effetti negativi associati allo svezzamento dei suinetti [1]. Gli MCFA possono essere utilizzati direttamente dagli enterociti per produrre energia e aiutare a sostenere l'integrità della parete intestinale. In aggiunta, gli MCFA vengono assorbiti in modo più efficiente rispetto ad altri acidi grassi lungo il tratto gastrointestinale; i suini possono assorbirli parzialmente già nello stomaco [2]. In seguito, gli MCFA subiscono una semplice degradazione in acidi grassi e glicerolo, dopodiché raggiungono il fegato attraverso la circolazione portale dove vengono rapidamente ossidati [3]. Studi microbiologici hanno evidenziato anche come gli MCFA, in particolare l'acido laurico, mostrino una maggiore efficacia contro i batteri Gram + (i.e. *Streptococcus Suis*) [4, 5]. L'obiettivo primario del meccanismo antimicrobico degli MCFA è il danneggiamento della membrana cellulare batterica. Il comportamento *membrano-litico* degli MCFA deriva dalle loro proprietà anfipatiche, che permettono a queste molecole di aderire alla membrana cellulare, causandone la destabilizzazione e la formazione di pori. L'attività destabilizzante della membrana provoca un aumento della permeabilità cellulare e della lisi, portando all'inibizione della crescita delle cellule batteriche o direttamente alla morte. Gli MCFA possono anche alterare i processi vitali delle cellule, tra cui la catena di trasporto degli elettroni e la fosforilazione ossidativa, essenziali per la produzione di energia [6,7]. In questo contesto, l'acido laurico potrebbe rappresentare una valida alternativa nella prevenzione delle infezioni da streptococchi nel post-svezzamento dei suini. Tuttavia, somministrato in forma libera, l'acido laurico viene rapidamente assorbito dalle cellule della mucosa intestinale, riducendone o vanificandone gli effetti. Per ovviare a questa problematica, viene utilizzato nella sua forma esterificata con il glicerolo; in questo modo è possibile ritardarne l'assorbimento nello stomaco e nella parte iniziale dell'intestino, in modo da prolungarne l'efficacia lungo il tratto gastrointestinale [8].

Tuttavia, l'esterificazione presenta alcuni svantaggi: il prodotto ottenuto è una sostanza simile a un gel, la cui consistenza rende difficoltoso il suo inserimento nei mangimi. Inoltre, considerando che l'effetto antibatterico dell'acido grasso, dipende anche dal dosaggio, e quindi dalla quantità di principio attivo presente nel lume intestinale, l'esterificazione può rappresentare un limite al suo utilizzo. Infatti, il processo di esterificazione necessita dell'aggiunta di una base inorganica (solitamente silice) che ne modifichi la consistenza, ottenendo un prodotto granulare e più semplice da miscelare. Tuttavia, l'aggiunta di basi inorganiche porta ad una riduzione della quantità di acido grasso nel prodotto finale (anche del 40%) poiché la base occupa molto spazio nella molecola. Ciò comporta un aumento del dosaggio, potenzialmente svantaggioso sia in termini economici sia per la salute dei suinetti. Per ovviare a queste problematiche, una soluzione innovativa può essere rappresentata dalla saponificazione, un processo che consiste nel saponificare gli MCFA, aggiungendo idrossido di calcio o altri elementi, per ottenere i sali degli acidi grassi (sapone), facilmente includibili nei mangimi [9, 10]. La saponificazione può inoltre essere un metodo efficace per introdurre una più alta concentrazione di MCFA *in situ*: nel prodotto finito, solo circa il 7-10% è occupato dall'elemento. In particolare, l'acido laurico saponificato con il calcio è composto da acido laurico (75%) e una matrice protettiva di sapone di calcio che all'interno dell'apparato gastrointestinale riesce a bypassare lo stomaco e a raggiungere l'intestino dove viene sottoposto a idrolisi e l'acido laurico, in forma libera, può così esplicare le proprie funzioni lungo l'intero apparato digestivo. Poiché attualmente, non vi sono studi pubblicati su come il laurato di calcio influenzi la salute intestinale e le prestazioni di crescita dei suinetti, questo lavoro mira a testarne l'efficacia.

MATERIALI E METODI

Animali e Management

Lo studio è stato condotto presso il Centro Zootecnico Didattico Sperimentale (CZDS) dell'Università degli Studi di Milano (Lodi, Italia), su un totale di 192 suinetti svezzati (24 d) Topigs [Stambo HBI x Dalland 40, peso medio di $9,33 \pm$ Gli animali sono stati alloggiati in due sale post-svezzamento con 24 gabbiette ciascuna, ognuna in grado di accogliere 4 soggetti. Nelle due sale venivano garantite le medesime condizioni microclimatiche. I suinetti sono stati suddivisi in 3 gruppi sperimentali con 16 repliche (gabbiette, unità sperimentale). La dieta basale, somministrata sotto forma di farina, era una tipica dieta commerciale per il post-svezzamento, differenziata in Pre-starter e Starter. I trattamenti dietetici sono stati i seguenti:

- Dieta basale, Db (CTR) nessun supplemento;
- Db + Amoxicillina 400 mg/kg (T1);
- Db + C12-Ca 1 kg/ton (T2).

Campionamento e Analisi

Nel corso della prova, i suinetti sono stati pesati a 0, 14 e 28 d. È stata inoltre calcolata l'assunzione di alimento giornaliera per gabbietta. Allo svezzamento, al cambio di dieta (14 d) e alla fine dello studio è stato prelevato direttamente dall'ampolla rettale di un suinetto per replica, un campione di feci per le analisi a parametri antinfiammatori (IL-6 e IL-10) e immunitari (IgG specifiche per *Streptococcus Suis* e IgA). Al termine dello studio, sei suinetti per gruppo sono stati macellati per il prelievo di campioni di mucosa intestinale di duodeno, digiuno e cieco, al fine della valutazione dello stato antiossidante, tramite l'analisi della capacità antiossidante totale (TAOC) e della Malondialdeide (MDA). La mortalità e gli eventuali trattamenti medicamentosi sono stati registrati giornalmente.

Analisi statistica

I dati relativi alla performance di crescita sono stati analizzati mediante la procedura MIXED di SAS v. 9.1 (SAS Institute, 2008) e sono presentati come media dei minimi quadrati per periodi e per la prova completa \pm SEM. I dati relativi allo stato antiossidante e ai parametri infiammatori e immunitari sono stati analizzati mediante Kruskal-Wallis test e Post Hoc test (SPSS) e sono presentati come la media dei minimi quadrati \pm DS.

RISULTATI

La Tabella 1 riassume i dati relativi la crescita dei suinetti: nessuna differenza significativa è stata osservata per il peso e l'assunzione di alimento mentre per quanto riguarda l'incremento ponderale giornaliero, considerando l'intero periodo della prova, il gruppo T1 ha registrato performance migliori rispetto al Controllo. Considerando invece, l'efficienza alimentare, nel periodo compreso tra 0 e 14 giorni e per l'intera durata della prova, l'integrazione con C12-Ca ha registrato valori inferiori rispetto al gruppo trattato con antibiotico ($P < 0,01$). Al contrario, nel periodo da 15 a 28 giorni, i dati mostrano come la somministrazione di C12-Ca abbia effetti sull'efficienza alimentare paragonabili a quelli dell'antibiotico ($P < 0,05$).

Tabella 1. Effetto dell'Acido Laurico saponificato con il calcio sulle performance di crescita.
Table 1. Effects of Lauric Acid saponified with calcium on growth performance.

Performance di crescita	Trattamento				P-value			
	CTR	T1	T2	SEM	Trat.	Tempo	Trat.*Tempo	
Peso vivo, kg								
0 d	9,32	9,33	9,33	335,87	0,0068	<0,0001	0,1976	
14 d	13,91	14,90	14,16					
28 d	22,02	23,67	22,76					
Incremento ponderale, g/d								
0-14 d	336	398	345	173,071	0,0053	0,0001	0,4564	
15-28 d	572	626	614					
0-28 d	453 ^B	512 ^A	480	14,773	0,0596			
Assunzione alimentare, g/d								
0-14 d	511	543	535	309,118	0,474	<0,0001	0,9882	
15-28 d	964	1.006	994					
0-28 d	737	774	765	39,474	0,6296			
Efficienza alimentare, g/d								
0-14 d	0,64 ^B	0,73 ^A	0,65 ^B	0,01356	<0,0001	<0,0001	0,0226	
15-28 d	0,57 ^a	0,62 ^b	0,62 ^b					
0-28 d	0,60 ^{Aa}	0,66 ^B	0,63 ^{Ab}	0,01218	<0,0001			

^{A,B}= P<0,01. ^{a,b}= P<0,05. I dati sono presentati come media ± SEM.

^{A,B}= P<0,01. ^{a,b}= P<0,05. The data are presented as least squared mean ± SEM.

Per quanto riguarda la mortalità, dalla Tabella 2 si evince come per il trattamento con amoxicillina non sia stata registrata alcuna mortalità. Tuttavia, è possibile evidenziare che il trattamento con acido laurico abbia avuto comunque una mortalità inferiore (più del 50%) rispetto ai soggetti del gruppo di controllo. Dalla stessa Tabella si vede come gli animali sottoposti a trattamenti medicamentosi siano in totale 18, di cui 8 per *Streptococcus suis* e 10 per diarrea. Si deve sottolineare il fatto che i 3 suinetti trattati del gruppo T2 non sono gli stessi animali la cui morte è stata registrata e che sono poi completamente guariti.

Tabella 2. Animali morti e trattati durante la prova.

Table 2. Animals dead and treated on running trial.

	CTR	T1	T2	Total
Morti	7	0	3	10
Trattati con antibiotico				
- <i>Streptococcus suis</i> (Amoxycillin 2ml x 3d)	5	0	3	18
- Diarrea (Enrofloxacin)	1	9	0	

I risultati inerenti all'attività antinfiammatoria e immunomodulatoria di C12-Ca sono presentati in Tabella 3. Dalle analisi effettuate sulle feci non sono state riscontrate differenze significative, né per quanto riguarda IgA, né per quanto riguarda IL-6 e IL-10 in tutti e tre i gruppi. L'analisi quantitativa delle IgG specifiche per *Streptococcus suis* nelle feci è risultata negativa per tutti i campioni analizzati.

Tabella 3. Effetto dell'Acido Laurico saponificato con il calcio sui parametri immunitari (IgG, IgA) e infiammatori (IL-10, IL-6) nelle feci.

Table 3. Effect of Lauric acid saponified with calcium on IL-6, IL-10, IgA and IgG specific for *Streptococcus suis* in feces.

Parametri	Trattamento			P- value
	CTR	T1	T2	
0 d				
IgA (µg/g)	41,24	34,89	32,77	0,5993
IL-10 (pg/g)	0,890	0,890	0,890	1
IL-6 (pg/g)	7,92	6,35	6,40	0,6678
IgG <i>S. suis</i>	Negativo	Negativo	Negativo	
14 d				
IgA (µg/g)	1,64	1,51	1,51	0,658
IL-10 (pg/g)	0,90	0,94	0,89	0,595
IL-6 (pg/g)	2,65	2,62	2,60	0,484
IgG <i>S. suis</i>	Negativo	Negativo	Negativo	
28 d				
IgA (µg/g)	1,540,77	1,490,75	1,551	0,335
IL-10 (pg/g)	0,890	0,890	0,890	1
IL-6 (pg/g)	2,441,85	2,441,89	2,522,31	0,879
IgG <i>S. suis</i>	Negativo	Negativo	Negativo	

IL, interleuchine; Ig, immunoglobuline. I dati sono presentati come media ± DS.

IL, interleukin; Ig, immunoglobulins. The data are presented as least squared mean ± DS.

I risultati dei parametri antiossidanti sulla mucosa intestinale di duodeno, digiuno e cieco riportati in Tabella 4, mostrano come il trattamento con laurato di calcio abbia registrato un aumento significativo di TAOC rispetto agli altri due gruppi, in tutti i distretti intestinali ($P < 0,01$). Per quanto riguarda il livello di MDA, gli animali alimentati con la dieta addizionata con laurato di calcio hanno registrato livelli di MDA significativamente più bassi rispetto al gruppo trattato con Amoxicillina e al controllo ($P < 0,01$).

Tabella 4. Effetto dell'Acido Laurico saponificato con il calcio sulla capacità antiossidante totale (TAOC) e sulla Malondialdeide (MDA) della mucosa intestinale.

Table 4. Effect of Lauric acid saponified with calcium on Total Antioxidant Capacity (TAOC) and Malondialdeide (MDA) on intestinal mucosa.

Tessuto intestinale	Trattamento			P- value
	CTR	T1	T2	
Duodeno				
MDA (nmoli/mg)	2.53 ^A	2.08 ^B	1.86 ^B	0,0001
TAOC (nmoli/μl TROLOX eq.)	4.27 ^A	4.50 ^A	5.13 ^B	0,0001
Ileo				
MDA (nmoli/mg)	2,510,19 ^A	2,130,24 ^B	1,880,25 ^B	0,0001
TAOC (nmoli/μl TROLOX eq.)	5,990,29 ^A	6,210,26 ^A	6,930,34 ^B	0,0001
Cieco				
MDA (nmoli/mg)	2,510,20 ^A	2,100,23 ^B	1,960,33 ^B	0,0001
TAOC (nmoli/μl TROLOX eq.)	6,230,16 ^A	6,590,33 ^B	7,070,38 ^C	0,0001

^{A,B}= P<0,01. I dati sono presentati come media ± DS.

^{A,B}= P<0,01. The data are presented as least squared mean ± DS.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

I risultati relativi alle performance di crescita dei suinetti sono comparabili ai risultati ottenuti in altri studi effettuati su suinetti alimentati con acidi grassi esterificati [11]. Per quanto riguarda i risultati migliori evidenziati sull'efficienza alimentare all'inizio della prova e in generale, nel gruppo alimentato con Amoxicillina, possono considerarsi risultati attesi, in quanto l'antibiotico ha una comprovata e più rapida efficacia sulla salute dei suinetti rispetto. Tuttavia, se si prende in considerazione il periodo dalla seconda settimana alla fine dello studio, i risultati ottenuti nel gruppo trattato con laurato, sono comparabili a quelli del gruppo trattato con Amoxicillina. Questo indica come l'acido laurico saponificato con il calcio, sebbene necessiti di un lasso di tempo maggiore per esplicare le proprie funzioni sulla crescita e la salute dei suinetti, abbia un'azione paragonabile a quella dell'antibiotico.

L'attività antibatterica degli MCFA è ben nota; in letteratura, è riportato come gli MCFA siano particolarmente efficaci contro i batteri Gram +, in particolare, l'acido laurico ha una notevole azione battericida contro gli streptococchi [4]. La streptococcosi è una patologia che causa significative perdite economiche nell'industria suinicola [12, 13]. È noto che la principale via di infezione sia il sistema respiratorio: *Streptococcus suis* viene trasferito dalla secrezione vaginale della scrofa alla cavità orale-nasale dei suinetti durante il parto e colonizza le tonsille immediatamente dopo la nascita [14]. La patologia è tuttavia difficilmente visibile fino a 15 giorni dopo lo svezzamento, in quanto, gli animali sono inizialmente protetti dall'immunità materna. Secondo Segura et al. (2016) [14], l'apparato gastrointestinale non può essere escluso come sito secondario di infezione. In letteratura è riportato come dopo lo svezzamento la concentrazione intestinale di *Streptococcus suis* aumenti o rimanga costante, ma presente, e che lo stress causato dallo svezzamento, riducendo le difese immunitarie, permetta al batterio di esplicare la sua patogenicità. Combinando questi dati con la mancanza di episodi diarroici, la mortalità per *Streptococcus suis* ridotta e la completa ripresa degli animali affetti nel gruppo con laurato di calcio, possiamo ipotizzare un'azione generale sulla salute dei suinetti, quanto meno sulla salute intestinale, e nei confronti della diarrea da svezzamento.

Per quanto riguarda l'effetto di C12-Ca sullo stato infiammatorio e immunitario intestinale dei suinetti, le analisi sulle feci non hanno evidenziato dati significativi. Al contrario, l'analisi riguardante lo stato antiossidante della mucosa intestinale ha mostrato dati interessanti. È risaputo come i suinetti svezzati siano facilmente soggetti a squilibri dello stato antiossidante intestinale [15]; nel presente studio, i livelli di TAOC, i quali riflettono il sistema di difesa antiossidante non enzimatico dell'organismo [16], sono significativamente più alti negli animali trattati con C12-Ca. Al contrario, i livelli di MDA (marker di perossidazione lipidica) sono inferiori. Ciò indica che l'integrazione con laurato di calcio ha svolto un ruolo nella prevenzione della perossidazione e dell'ossidazione dei lipidi endogeni, promuovendo la salute intestinale. Questo risultato può essere considerato un indicatore indiretto dello stato infiammatorio. Studi in umana hanno dimostrato come l'infiammazione e l'ossidazione siano correlate [17]. Una di esse può apparire prima o dopo l'altra, ma quando una di esse appare, l'altra è più probabile che sia presente; poi entrambe partecipano alla patogenesi di molte malattie croniche [18, 19]. Questi risultati mostrano uno stato antiossidante intestinale positivo negli animali a cui è stato somministrato C12-Ca, che rende ipotizzabile anche uno stato infiammatorio migliore.

Alla luce di questi risultati, è ipotizzabile un impiego del laurato di calcio per una parziale riduzione dell'antibiotico, sia in termini di dosaggio sia di durata del trattamento. L'acido laurico saponificato con il calcio non rappresenta un'alternativa all'antibiotico in quanto tale, ma se prendiamo in considerazione l'efficienza alimentare paragonabile nei due trattamenti, la minore mortalità rispetto al controllo e la più rapida ripresa degli animali affetti da *Streptococcus suis*, possiamo comunque affermare che potrebbe consentire la riduzione dell'antibiotico nei suinetti in svezzamento, migliorandone anche la salute intestinale.

BIBLIOGRAFIA

1. Zentek J, Buchheit-Renko S., Ferrara F., Vahjen W., Van Kessel A.G., Pieper R. (2011). "Nutritional and physiological role of medium-chain triglycerides and medium-chain fatty acids in piglets". *Anim. Health. Res. Rev.* 12, 83–93.
2. Liu Y. (2015). "Fatty acids, inflammation and intestinal health in pigs. A review". *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 41, 1-9.
3. Li Y., Zhang H., Yang L., Wang T. (2015). "Effect of medium-chain triglycerides on growth performance, nutrient digestibility, plasma metabolites and antioxidant capacity in weanling pigs". *J. Anim. Nutr.* 1, 12–18.
4. Bergsson G., Arnfinnsson J., Steingrimsson O., Thormar H. (2001). "Killing of gram-positive cocci by fatty acids and monoglycerides". *APMIS* 109, 670-678.
5. Lieberman S., Enig M.G., Preuss H.G. (2006). "A Review of Monolaurin and Lauric Acid: Natural Virucidal and Bactericidal Agents". *J. Altern. Complement. Med.* 12, 310-314.
6. Desbois A., Smith V. (2010). "Antibacterial free fatty acids: activities, mechanisms of action and biotechnological potential". *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 85, 1629-1642.
7. Yoon B., Jackman J., Valle-González E., Cho N.J. (2018). "Antibacterial free fatty acids and monoglycerides: biological activities, experimental testing, and therapeutic applications". *Int. J. Mol. Sci.* 19, 1114.
8. Dierick N.A., Decuypere J.A., Degeyter I. (2003). "The combined use of whole Cuphea seeds containing medium chain fatty acids and an exogenous lipase in piglet nutrition." *Arch. Tierernahr.* 57, 49-63.
9. Schumann K., Siekmann K. (2000). "Soaps" in Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Wiley-VCH, Weinheim.
10. Cevolani D. (2016). *Prontuario degli alimenti per il suino*. 3a ed. Edagricole.

11. Zentek J., Buchheit-Renko S., Männer K., Pieper R., Vahjen W. (2012). "Intestinal concentrations of free and encapsulated dietary medium-chain fatty acids and effects on gastric microbial ecology and bacterial metabolic products in the digestive tract of piglets". *Arch Anim Nutr.* 66, 14–26.
12. Fittipaldi N., Segura M., Grenier D., Gottschalk M. (2012). "Virulence factors involved in the pathogenesis of the infection caused by the swine pathogen and zoonotic agent *Streptococcus suis*". *Future Microbiol.* 7, 259-79.
13. Segura M., Fittipaldi N., Calzas C., Gottschalk M. (2017). "Critical *Streptococcus suis* virulence factors: are they all really critical?" *Trends Microbiol.* 7, 585- 599.
14. Segura M., Calzas C., Grenier D., Gottschalk M. (2016). "Initial steps of the pathogenesis of the infection caused by *Streptococcus suis*: fighting against nonspecific defenses". *FEBS Lett.* 590, 3772-3799.
15. Xu J., Xu C., Chen X., Cai X., Yang S., Sheng Y., Wang T. (2014). "Regulation of an antioxidant blend on intestinal redox status and major microbiota in early weaned piglets". *Nutrition.* 30, 584–589.
16. Wang Y. Z., Xu C.L., An Z.H., Liu J.X., Feng J. (2008). "Effect of dietary bovine lactoferrin on performance and antioxidant status of piglets ". *Anim. Feed Sci. Technol.* 140, 326 – 336.
17. Castellani P., Balza E., Rubartelli A. (2014). "Inflammation, DAMPs, tumor development, and progression: a vicious circle orchestrated by redox signalling". *Antioxid. Redox Signal.* 7, 1086–1097.
18. Biswas S.K. (2016). "Does the interdependence between oxidative stress and inflammation explain the antioxidant paradox?". *Oxid. Med Cell. Longev.* 1-9.
19. Cao S.T., Hang C.C., Wu H., Zhang Q.H., Jiao L.F., Hu C.H. (2018). "Weaning disrupts intestinal antioxidant status, impairs intestinal barrier and mitochondrial function, and triggers mitophagy in piglets". *J. Anim. Sci.* 96, 1073- 1083.