

内毒素对肉鸡血液和肝组织抗氧化功能的影响及氨基胍治疗作用

王友令¹, 唐兆新²

(1. 山东省农业科学院家禽研究所, 山东 济南 250100; 2. 华南农业大学兽医学院, 广东 广州 510642)

中图分类号: S852.4

文献标识码: B

文章编号: 0529-6005(2007)11-0034-02

大肠杆菌、沙门氏菌等细菌性疾病严重威胁着养鸡业的发展,革兰氏阴性菌感染鸡后造成死亡的主要原因是内毒素血症。然而,内毒素在鸡体内的作用机制仍不完全清楚。虽然与牛、兔、犬、猪相比鸡更能抵抗内毒素的毒力作用,但内毒素诱导的各种组织器官的损伤,其自由基在鸡感染后的作用机制尚未见报道。本试验通过研究沙门氏菌内毒素对肉鸡血浆(清)和肝组织中自由基代谢的影响来探讨内毒素发病的机制,为鸡细菌性疾病的防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 动物与试剂

1.1.1 实验动物 30 日龄岭南黄鸡 90 只:购自广东省农科院畜牧所养殖场 1 日龄雏鸡,养至 30 日龄。试验前确认健康状态。试验期内自由采食和饮水。

1.1.2 试剂 伤寒沙门氏菌内毒素(LPS)购于 Sigma 公司。MDA, GSH-Px, SOD 试剂盒为南京建成生物工程公司产品。

1.2 试验设计 随机分为 3 组,每组 30 只。组翅静脉一次性注射 LPS 5 mg/kg 体重,组注射同等体积的生理盐水,组翅静脉注射 300 mg/kg 体重的氨基胍(AG),1 h 后再以翅静脉 5 mg/kg 体重的剂量注射 LPS。

1.3 血浆(清)及肝组织匀浆的制备 在注射完毕后 1、3、5、7、9 h,每组各宰杀 6 只,按文献制备血浆、血清和肝组织匀浆,最后在 -80℃ 冰箱中保存。

1.4 测定项目与方法 总超氧化物歧化酶(SOD)活性:黄嘌呤氧化酶法;丙二醛(MDA)的含量:硫代巴比妥酸比色法;谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性:DTNB 法。严格按试剂盒说明的操作步骤进行操作计算。

1.5 数据处理 应用 SAS 统计分析软件计算各组平均值和标准误,比较两组间的差异,差异显著性以 $P < 0.05$ 表示。

2 结果

2.1 肉鸡感染沙门氏菌内毒素后血浆中 MDA 含量的变化 表 1 显示注射内毒素组()血浆中 MDA 含量明显增加,显著高于第、组($P < 0.05$) (表 1),第组除 1 h、3 h 高于对照组外,3 h 后与组无显著差异($P > 0.05$)。

2.2 肉鸡感染沙门氏菌内毒素后血浆中总 SOD 活性的变化 表 1 显示在 1 h 时,与、组之间差异显著($P < 0.05$),而、组之间差异不显著($P > 0.05$),在 3、5、7、9 h 时,与组差异显著($P < 0.05$),而组与组之间差异不显著($P > 0.05$)。

2.3 肉鸡感染沙门氏菌内毒素后血清中 GSH-Px 活性的变化 表 1 显示 1 h、3 h 时,与、组之间差异显著($P < 0.05$),3 h 后第组显著低于其他各组($P < 0.05$),而和组之间差异不显著($P > 0.05$)。

收稿日期:2006-03-01

作者简介:王友令(1974-),男,助理研究员,硕士,主要从事禽病诊断研究,E-mail: wangyouling71@163.com

激,提高免疫力的作用。

参考文献:

- [1] 邵明丽,许梓荣,李咸梁.谷氨酰胺营养与免疫[J]. 畜禽业, 2002, (2): 56-57.
- [2] Cook N D, Peters T J. The simultaneous hydrolysis of glutathione and glutamine by rat kidney gamma-glutamyl transferase [J]. Biochim Biophys Acta, 1986, 884: 207-210.
- [3] Wind mueller H G. Glutamine utilization by the small intestine [J]. Amino Acids, 1982, 53: 202.
- [4] Wu G Y, Meier S A, Knabe D A. Dietary glutamine supplementation prevents jejunal atrophy in weaned pigs [J]. Nutr, 1996, (126): 2578-2584.

- [5] 安丽英. 兽医实验诊断[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2000: 21-35.
- [6] 卢纹岱, 朱一力, 沙捷. Spss for windows 从入门到精通[M]. 北京: 电子工业出版社, 1994: 214-245.
- [7] E H 科尔斯. 兽医临床病理学[M]. 朱坤熹, 秦礼让, 译. 上海: 上海科学技术出版社, 1993: 174.
- [8] 韩正康. 家畜生理学[M]. 北京: 农业出版社, 1995: 21-32.
- [9] Suzuki I, Matsumoto Y, Adjei A A, et al. Effect of a glutamine-supplemented diet in response to methicillin-resistant Staphylococcus aureus infection in rats [J]. J Nutr Sci Vitaminol, 1993, 39: 405.
- [10] 尹兆正, 邹晓庭, 钱利纯, 等. 谷氨酰胺对断奶仔猪免疫功能的影响[J]. 中国兽医学报, 2005, 25(5): 536-538.

表 1 肉鸡血浆中 MDA,SOD,血清 GSH-Px 活性及 MDA 含量变化

项目	组别	处理时间(h)				
		1	3	5	7	9
MDA/ (μmol/L)		0.68 ±0.24 ^a	0.68 ±0.29 ^a	0.68 ±0.33 ^a	0.66 ±0.29 ^a	0.64 ±0.29 ^a
		1.47 ±0.14 ^b	1.11 ±0.28 ^b	1.22 ±0.15 ^b	1.21 ±0.31 ^b	1.93 ±0.69 ^b
		1.18 ±0.22 ^b	1.17 ±0.25 ^b	0.79 ±0.26 ^a	0.85 ±0.16 ^a	0.98 ±0.13 ^a
SOD/ (U/ mL)		155.32 ±7.486 ^a	156.63 ±5.669 ^a	160.24 ±5.94 ^a	155.85 ±9.58 ^a	159.33 ±7.29 ^a
		187.01 ±15.33 ^b	146.18 ±3.949 ^b	145.12 ±1.56 ^b	142.86 ±9.2 ^b	142.39 ±2.27 ^b
		179.69 ±7.07 ^b	158.74 ±12.48 ^a	155.20 ±13.05 ^a	151.79 ±12.15 ^a	159.53 ±9.85 ^a
GSH-Px/ U		1602.70 ±36.26 ^a	1602.50 ±41.32 ^a	1594.20 ±36.72 ^a	1589.60 ±32.46 ^a	1595.20 ±35.75 ^a
		1924.60 ±63.47 ^b	1359.50 ±46.15 ^b	1197.20 ±56.7 ^b	1305.00 ±65.53 ^b	1400.52 ±41.57 ^b
		1909.80 ±24.04 ^b	1507.70 ±104.29 ^b	1603.60 ±77.28 ^a	1588.40 ±81.22 ^a	15710.10 ±111.90 ^a

2.4 肉鸡感染沙门氏菌内毒素后肝组织中 MDA 含量的变化 由表 2 所示, 组和 组肉鸡肝组织中 MDA 含量分别与 组相比,各时间点均显著升高 ($P<0.05$)。 组肉鸡肝组织中 MDA 含量与 组相比,除 1 h 外,在其他时间点均显著降低 ($P<0.05$)。

2.5 肉鸡感染沙门氏菌内毒素后肝组织中总 SOD 活性的变化 从表 2 可见, 组肉鸡肝组织中总 SOD 活力与 组相比,在所有时间点均显著降低 ($P<0.05$)。 组肉鸡肝组织中总 SOD 活力与 组相比,除 1 h 有显著差异 ($P<0.05$) 外,在其他时间点均无差异 ($P>0.05$)。 组与 组相比,在所

有时间点,肉鸡肝脏中总 SOD 活力均显著升高 ($P<0.05$),说明氨基胍能明显改善内毒素所造成的脂质过氧化作用。

2.6 肉鸡感染沙门氏菌内毒素后肝组织中 GSH-Px 活性的变化 由表 2 可知, 组肉鸡肝组织中 GSH-Px 活力与 组相比有明显下降,除 1 h 无显著差异 ($P>0.05$) 外,在其他时间点均显著降低 ($P<0.05$)。 组肉鸡肝组织中 GSH-Px 活力与 组相比,在各时间点均无显著差异 ($P>0.05$)。 组肉鸡肝脏中 GSH-Px 活力与 组相比,除在 1 h 时无差异外 ($P>0.05$),在其他各点均显著差异 ($P<0.05$)。

表 2 肉鸡肝组织中抗氧化酶活性及 MDA 含量的变化

项目	组别	处理时间(h)				
		1	3	5	7	9
MDA/ (μmol/L)		0.624 ±0.015 ^b	0.646 ±0.022 ^c	0.635 ±0.021 ^c	0.650 ±0.014 ^c	0.637 ±0.013 ^c
		1.351 ±0.011 ^a	1.450 ±0.039 ^a	1.584 ±0.028 ^a	1.740 ±0.014 ^a	2.470 ±0.040 ^a
		0.313 ±0.005 ^a	1.209 ±0.022 ^b	1.065 ±1.065 ^b	1.265 ±0.007 ^b	1.600 ±0.005 ^b
SOD/ (U/ mL)		677.268 ±0.712 ^a	690.132 ±0.709 ^a	666.257 ±0.709 ^a	664.403 ±7.577 ^a	664.671 ±7.577 ^a
		525.211 ±1.461 ^c	416.814 ±0.721 ^b	566.478 ±1.770 ^b	578.067 ±0.754 ^b	549.689 ±0.806 ^b
		624.017 ±0.433 ^b	658.465 ±0.577 ^a	652.582 ±0.685 ^a	683.800 ±0.489 ^a	656.904 ±0.724 ^a
GSH-Px/ U		24.257 ±0.929 ^a	24.029 ±0.703 ^a	24.226 ±0.369 ^a	24.170 ±0.919 ^a	24.084 ±0.818 ^a
		23.890 ±0.953 ^a	20.383 ±0.475 ^b	15.057 ±0.845 ^b	18.975 ±0.443 ^b	21.796 ±0.844 ^b
		23.837 ±0.995 ^a	23.848 ±0.424 ^a	22.749 ±0.411 ^a	23.990 ±0.495 ^a	22.693 ±0.380 ^a

3 讨论

自由基是机体代谢过程中所产生的副产物,它可以使脂类发生过氧化反应,而生成过氧化脂质(LPO),LPO 的生成可使细胞膜脂质组成发生变化,导致细胞内酶的蛋白质变性,破坏细胞的结构和功能^[1]。同时,LPO 还可使机体内的重要脏器如心、肝等组织损伤,因而它对机体是有害的。MDA 是机体内氧自由基代谢过程中产生的脂质过氧化产物,它可以反应出机体中脂质过氧化自由基的存在及反应程度^[2-3]。本试验结果显示,血液和肝组织中 MDA 的含量在注射内毒素后 1 h 就有了明显的升高,且随时间推移 MDA 含量也呈上升趋势,提示肉鸡感染沙门氏菌后体内 LPO 蓄积可能是造成肉鸡重要脏器如心、肝等组织损伤的重要机制之一。

正常情况下体内的抗氧化酶如超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)等协同作用,以清除体内产生的少量的自由基。在内毒素血症时,氧自由基大量产生超过了抗氧化酶的清除能力。氧自由基对机体的损伤主要是其攻击生物膜磷脂中的多聚不饱和脂肪酸,引发脂质过氧化作用^[4-5]。氧自由基还可以氧化酶的某些基团如巯基而使酶失去活性;脂质过氧化主要产物丙二醛还可与类脂、蛋白质形成交联物,使酶的结构和功能遭到破坏,进一步降低了抗氧化酶的活力^[2]。氨基胍作为自由基的抑制剂可以特异性的抑制,降低自由基的生成量^[6],本试验结果表明,在给鸡注射了内毒素后,血浆(清)中的抗氧化酶经过短暂的代偿性升高后降低,并且这种作用在 3 h 后明显,而血浆中的脂

锰对雏鸭免疫参数及生化指标的影响

王尚荣

(湖南省邵阳学院生物与化学工程系, 湖南 邵阳 422004)

中图分类号:S825.23

文献标识码:B

文章编号:0529-6005(2007)11-0036-02

锰是动物的必需微量元素之一。它是许多酶的激活剂(如丙酮酸羧化酶、精氨酸酶等),参与多种代谢活动。当动物缺锰时,会出现生长受阻、骨骼畸形、生殖机能障碍、新生动物运动失调等。鸭等家禽,尤其是肉用雏鸭,对锰的需要量比哺乳类动物要高,但目前使用的玉米-豆粕型基础日粮中锰的含量却很低,故锰对肉用雏鸭等家禽具有特殊的重要作用。但以往的研究多以大家畜为主,极少见到锰对肉用雏鸭免疫性能和体内生化指标影响的报道。为此,我们进行了在玉米-豆粕型基础日粮条件下锰的非过量与过量水平对肉用雏鸭免疫参数和部分血浆生化指标影响的试验,报告如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物的选择及分组 选用 1 日龄未经鸭病毒性肝炎疫苗接种的北京雏鸭 120 只,随机分成 6 组,每组 20 只,分圈平面饲养,每组一圈。24 h 恒

定光照,自由采食和饮水。试验期 30 d,试验结束,以组为单位称鸭体重和耗料量。

1.2 基础日粮组成及营养水平 以玉米和豆粕等配制基础日粮(含 Mn 20 mg/kg),除 Mn 外的其他营养成分均满足我国现行肉用雏鸭(0~4 周龄)的建议水平(见表 1),再用饲料级 $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 将其含 Mn 量分别添加到 50、100、150、300、2 000 mg/kg。

1.3 样品的采集与制备 试验结束时,各组取 12 只鸭于禁食 18 h 后心脏穿刺采血,肝素钠抗凝,然后屠宰取肝、胰和左侧跖骨部。全血离心获得血浆;跖骨再剥离外层附着物,并用去离子水洗净后于 600 下灰化至恒重备用。每 2 只鸭的血浆、组织和骨灰合为 1 个分析样品,故每组共 6 个重复样品。同时将各组 12 只鸭中宰前已称个体活重的 10 只鸭单个采血,个别制血清,并称每只鸭的胸腺、法氏囊和脾脏重量。

1.4 样品分析 用高级生化自动分析仪(Monarch 1000 Chemistry System)测定血浆碱性磷酸酶活性、葡萄糖、总胆固醇、总蛋白、白蛋白和球蛋白浓

收稿日期:2006-09-21

作者简介:王尚荣(1956-),男,副教授,学士,从事动物营养与动物医学的研究与教学

质过氧化产物一直高于正常组并差异显著($P < 0.05$),并在第 9 小时达到最大,肝组织中抗氧化酶活性始终低于生理盐水对照组,而注射氨基胍组抗氧化酶活性与生理盐水对照组比较无明显差异,这表明在肉鸡内毒素血症时存在着明显的脂质过氧化损伤,而氨基胍能明显减轻内毒素诱导的自由基诱导的脂质过氧化损伤。唐兆新等^[7-8]对山羊内毒素性休克进行了研究,结果表明肝、肾、肺和血清中抗氧化酶活力明显下降,丙二醛含量明显升高,显示各器官和血液中存在明显的脂质过氧化损伤。这些充分表明氧自由基在内毒素发病机制中起着非常重要的作用。

有研究表明,给动物注射一定量细菌内毒素后,其血液和组织中的氧自由基明显增多,表现为血液和组织中脂质过氧化物含量增加,而各种抗氧化酶的活性下降,并造成组织细胞的代谢紊乱,结构和功能发生异常。本试验结果表明,肉鸡感染沙门氏菌后会造成器官或多或少的损害,这可能同沙门氏菌导致肉鸡细胞抗氧化防御系统的破坏,使体内脂质过氧化作用和抗氧化功能的平衡失调有关,详细的

致病机理还有待于进一步的研究。

参考文献:

- [1] Kinnul V L, Crapo J D, Raivio K O. Generation and disposal of reactive oxygen metabolites in lung[J]. Lab Invest, 1995, 73(1): 3-9.
- [2] Goode H F, Webster N R. Free radicals and antioxidants in sepsis[J]. Crit Care Med, 1993, 21: 1770-1776.
- [3] Farber J L, Kyle M E, Coleman J B. Mechanisms of cell injury by activated oxygen species[J]. Lab Invest, 1990, 62(6): 670-679.
- [4] Chambers D E, Parks D A, Patterson G, et al. Xanthine oxidase as a source of free radical damage in myocardial ischemia[J]. J Mol Cell Cardiol, 1985, 17: 145-154.
- [5] 毕铭华, 张淑文, 王宝恩, 等. 内毒素血症对大鼠肝细胞线粒体的损伤及其机制[J]. 中国应用生理学杂志, 2004, 20(1): 90-91.
- [6] 王雷, 樊寻梅, 唐浩勋. 不同剂量氨基胍对内毒素休克兔模型肾功能的影响[J]. 中华儿科杂志, 2004, 42(3): 206-209.
- [7] 唐兆新, 王炫英, 高洪, 等. 山莨菪碱对山羊内毒素休克时肝脏自由基损伤的保护机理[J]. 中国兽医学报, 1998, 18(5): 490-493.
- [8] 唐兆新, 高洪, 马吉飞, 等. 山羊内毒素休克时山莨菪碱对肾脏自由基代谢的影响[J]. 南京农业大学学报, 1998, 21(1): 91-95.