

不同硒源对肉鸡血清中与自由基 有关酶活力的影响研究

刘明生,甘辉群,谭 菊,贺生中,吴敏秋
(江苏畜牧兽医职业技术学院,江苏 泰州 225300)

中图分类号: S816.71 文献标识码: B 文章编号: 1004-7034(2007)04-0050-02

动物对硒的营养需要存在一个剂量范围,即符合
Weinberg原理,也就是硒的剂量 - 效应关系曲
线。据报道,纳米硒的最大致死量 (LD_{50}) 为
112.98 mg/kg,亚硒酸钠的 LD_{50} 为 15.72 mg/kg。为
探讨在肉鸡饲料中合理使用硒源以及适宜的添加水
平,试验通过在基础日粮中添加不同水平的亚硒酸钠
和纳米硒,测定肉鸡血清中与自由基有关酶的活性或
活力,为临床合理应用硒提供参考依据。

1 材料

1.1 试验动物

1日龄 AA肉鸡 520羽,购于泰州某种禽厂。

1.2 试剂盒

谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH—PX)试剂盒、超氧
化物歧化酶 (SOD)试剂盒、谷胱甘肽 (GSH)试剂盒、
总抗氧化能力 (T - AOC)试剂盒、丙二醛 (MDA)试剂

盒,均购自南京建成生物工程研究所。

1.3 主要仪器与设备

751紫外可见分光光度计、普通离心机、漩涡混
匀搅拌器、电热恒温水浴箱、DT - 100型单盘精密天
平等。

1.4 试验药物

纳米硒,粒径 30 ~ 70 nm (平均为 45 nm),为零
价硒;饲料级亚硒酸钠 ($Na_2 SeO_3$),含硒 10 g/kg。

2 方法

2.1 试验动物的选择与分组

自泰州某种禽厂购入 AA肉鸡 600只,按正常程
序免疫,喂基础日粮 1周 (预饲)。淘汰弱小病雏后,
将剩余健康鸡只随机均分成 13组,每组 4个重复,每
个重复 10只。各组硒添加量如表 1所示,饲喂至 41
日龄。

表 1 试验分组 mg · kg⁻¹

组别	1(对照)	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
纳米硒		0.15	0.3	0.5	1	5	10						
无机硒								0.15	0.3	0.5	1	5	10

2.2 样品的采集与检测

于肉鸡 42日龄,清晨空腹,从每个重复组中取
2只体重接近平均值的鸡 (公母各一),由心脏采血
10 mL集于离心管中,不加抗凝剂,静置 30 min。以
3 000 r/min离心 15 min,析出血清,置于冰箱 - 20
保存。

2.3 检测项目及方法

按试剂盒说明测定谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH—
PX)、超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽 (GSH)、总抗
氧化能力 (T - AOC)和丙二醛 (MDA)活性或含量。

试验所得数据用 SAS软件进行统计分析和显著
性检验。

3 结果与讨论

收稿日期: 2006-02-23

作者简介: 刘明生 (1970-),男,讲师,硕士。

在未添加硒的对照组中,血清中 GSH - PX、
GSH、SOD、T - AOC、MDA 的值分别为 ($104.35 \pm$
 8.47)活力单位、(306.46 ± 13.68)mg/L、($160.08 \pm$
 9.22)nu/mL、(6.94 ± 0.55)单位/mL、($8.98 \pm$
 0.49) μ mol/mL。不同硒源、不同添加水平的试验结
果见表 2。

3.1 谷胱甘肽过氧化物酶

谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH - PX)是机体内广泛
存在的一种重要的催化过氧化氢分解的酶,是 H_2O_2
和 ROOH的主要清除剂。它能特异地催化还原型谷
胱甘肽 (GSH)对过氧化氢的还原反应,可以起到保
护细胞膜结构和功能完整的作用。由表 2可知,亚
硒酸钠的添加量在 0.5 ~ 10 mg/kg时,肉鸡的 GSH -
PX活力逐渐下降,并显著低于同等剂量的纳米添加
组 ($P < 0.05$),同时也说明硒过量添加时,机体清除

H₂O₂ 的 GSH - PX活性下降,导致 H₂O₂ 含量上升, 使之与 Fe²⁺反应生成极活泼的 ·OH。

表 2 不同硒源对肉鸡血清中酶的影响

项目	硒源	添加硒水平 / (mg · kg ⁻¹)					
		0.15	0.3	0.5	1	5	10
GSH - PX	纳米	121.06 ^A ±9.27	126.85 ^A ±7.95	130.04 ^A ±12.58	132.54 ^A ±9.51	111.43 ^B ±11.22	96.44 ^C ±8.56
活力单位	无机	119.52 ^A ±8.55	124.76 ^A ±8.24	122.88 ^A ±9.89	102.78 ^{Ba} ±10.25	89.25 ^{Ca} ±8.64	80.12 ^{Ca} ±12.35
GSH	纳米	325.37 ^A ±14.25	332.28 ^A ±10.78	338.12 ^A ±9.65	340.25 ^A ±13.28	316.25 ^B ±10.67	290.92 ^C ±9.55
/(mg · L ⁻¹)	无机	324.29 ^A ±12.42	332.95 ^A ±10.73	329.62 ^A ±9.29	298.48 ^{Ba} ±8.92	262.59 ±67 ^{Ca}	245.62 ^{Ca} ±9.81
SOD	纳米	176.04 ^A ±7.56	182.63 ^A ±6.58	186.33 ^A ±9.81	188.85 ^A ±10.25	165.79 ±83 ^B	146.41 ^C ±9.36
/(nu · mL ⁻¹)	无机	175.52 ^A ±8.09	180.59 ^A ±7.62	178.25 ^A ±8.66	156.65 ^{Ba} ±10.25	138.92 ±87 ^{Ca}	126.88 ^{Da} ±9.64
T - AOC	纳米	7.64 ^A ±1.32	8.25 ^A ±1.88	8.75 ^A ±0.98	9.02 ^A ±1.22	8.12 ±068 ^B	7.72 ^B ±0.92
/单位 · mL ⁻¹)	无机	7.75 ^A ±0.86	8.38 ^A ±1.62	8.22 ^A ±0.65	7.14 ^{Ba} ±0.76	5.87 ±029 ^{Ca}	5.04 ^{Da} ±0.28
MDA	纳米	8.18 ^A ±0.72	7.85 ^A ±0.65	7.69 ^A ±0.49	7.62 ^A ±0.58	8.20 ±069 ^A	9.27 ^B ±0.74
/(μmol · mL ⁻¹)	无机	8.25 ^A ±0.83	8.02 ^A ±0.39	8.62 ^{Aa} ±0.54	9.85 ^{Ba} ±1.26	10.26 ±078 ^{Ba}	11.25 ^{Ca} ±1.26

注:同行数据肩注大写字母不同表示差异显著 (P<0.05);同项同列数据肩注小写字母不同表示差异显著 (P<0.05)。

3.2 谷胱甘肽 (GSH)

谷胱甘肽 (GSH)是组织中的非蛋白质巯基化合物,属于一种低分子清除剂,它可以清除 O₂⁻、H₂O₂、ROOH,也是 GSH - PX和谷胱甘肽转移酶 (GST)等两种酶的底物,为这两种酶分解过氧化物所必需;还能稳定含巯基的酶和防止血红蛋白及其他辅助因子受氧化损伤。最近还证明, GSH 也参与使维生素 E 恢复到还原态的作用。GSH 量的多少是衡量机体过氧化能力大小的重要标志。由表 2可知,亚硒酸钠的添加量在 0.5 ~ 10 mg/kg时, GSH 活力逐渐下降,并显著低于同等剂量的纳米添加组 (P<0.05);同时,也说明硒过量添加时,肉鸡的机体内担负清除自由基的谷胱甘肽 (GSH)活性下降,使细胞内 H₂O₂ 的清除受到影响,从而引起细胞损伤。

3.3 超氧化物歧化酶 (SOD)

超氧化物歧化酶 (SOD),是广泛存在于需氧生物体内的一种金属酶,对机体的氧化与抗氧化起重要作用,能催化超氧阴离子 (O₂⁻)产生歧化反应,清除超氧阴离子 (O₂⁻)保护细胞免受损伤。SOD 活力的测定可间接反应机体清除自由基的能力。此次试验结果表明,亚硒酸钠在 0.5 ~ 10 mg/kg时, SOD 活力逐渐下降,并显著低于同等剂量的纳米添加组 (P<0.05),同时也说明硒过量添加时,机体清除自由基的能力下降,机体细胞受自由基的攻击程度加重。

3.4 总抗氧化能力 (T - AOC)

机体防御体系抗氧化能力的强弱与健康程度存在着密切关系,因而测量机体的总抗氧化能力高低具有很重要的意义。由表 2可知,亚硒酸钠的添加量在 1 ~ 10 mg/kg时, T - AOC逐渐下降,并显著低于同等

添加剂量的纳米组 (P<0.05),同时也说明硒过量添加时,机体的总抗氧化能力下降,从而导致机体抵抗疾病的能力减弱。

3.5 丙二醛 (MDA)

丙二醛 (MDA)是一种脂质过氧化物,是由生物体内产生的自由基攻击生物膜中的不饱和脂肪酸 (PUFA),引起脂质过氧化作用而形成的。这种产物还可通过生物体内有机物反应的链式或链式支链放大活性氧的破坏作用,引起细胞代谢与功能障碍,甚至死亡。因此,测定机体中的 MDA 含量可反映机体内脂质过氧化程度,间接反映细胞受损伤的程度。由表 2可知,亚硒酸钠在 0.5 ~ 10 mg/kg时,MDA 含量逐渐增加,并显著高于同等剂量的纳米添加组 (P<0.05),同时也说明硒过量添加时,机体内氧自由基增加,脂质过氧化程度增强,细胞和细胞器的生物膜结构受到了损害。

综上所述,当亚硒酸钠添加浓度为 0.15 ~ 0.3 mg/kg时,血清中与自由基有关的 GSH - PX、GSH、SOD、T - AOC等活性或活力明显高于对照组; >0.5 mg/kg时,其值逐渐下降。而纳米硒添加浓度为 0.15 ~ 1 mg/kg时,血清中与自由基有关的 GSH - PX、GSH、SOD、T - AOC等活性或活力均明显高于对照组,且显著高于同剂量的亚硒酸钠添加组 (P<0.05)。这与胥保华、袁纛等报道的基本一致。同时此次试验还表明,硒在过量添加时自由基的产生会增加,清除自由基的重要物质 GSH - PX、SOD的活性, GSH的含量及总抗氧化能力都明显下降;在自由基的作用下,脂质过氧化产物 MDA 的含量则明显升高。(010)