

复方中草药制剂对断奶仔猪抗氧化功能的影响

陈张华^{1,2*}, 邓俊良², 陈仓良²

(1. 内江职业技术学院, 四川内江, 641100; 2. 四川农业大学动物医学院, 动物疫病与人类健康重点实验室, 环境公害与动物疾病重点实验室, 四川雅安 625014)

[收稿日期] 2016-06-15 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2016) 08-0049-04 [中图分类号] S853.74

[摘要] 为了研究复方中草药对断奶仔猪抗氧化功能的影响。选取 20 日龄杜长大三元杂交仔猪 50 头, 随机分为 5 组, 每组 10 头。27~31 日龄时分别以基础日粮为对照组、4 个实验组分别为转移因子组和在基础日粮中添加 0.5%、1.0%、2.0% 复方中草药组。在 35、45、55、65 日龄时每组随机抽选 5 头仔猪, 前腔静脉采血, 测定谷胱甘肽过氧化物酶(GSH)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)。结果表明, 与对照组相比, 中药组和转移因子组均能提高仔猪 SOD、GSH-Px 活性($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$) 和降低 MDA 含量($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 但日粮中添加 1.0% 复方中草药组提高断奶仔猪抗氧化功能最佳。

[关键词] 复方中草药; 仔猪; 转移因子; 抗氧化功能

Effects of Compound Chinese Herbal on Antioxidant Function of Early Weaned Piglets

CHEN Zhang-hua^{1,2*}, DENG Jun-liang², CHEN Cang-liang²

(1. Neijiang Vocational and Technical College, Neijiang, Sichuan 641100, China;

2. College of Vet. Med of Sichuan Agricultural University, Key Laboratory of Animal Disease and Human Health, Key Laboratory of Environmental Hazard and Animal Disease, Ya'an, Sichuan 625014, China)

Abstract: To investigate the effect of compound traditional Chinese herbal on the antioxidant function in weaned piglets, a total of 50 healthy Duroc × Landrace × Yorkshire weaned piglets at 20-day-old were divided randomly into 5 groups with 10 replicate per pen and fed corn and soybean meal-based diets containing 0, Transfer factor (TF), 0.5%, 1.0% or 2.0% of Chinese medicine on 27 to 31 d, respectively. SOD, GSH and MDA were measured on 35, 45, 55 and 65 d in 5 piglets from each group. Compared to the control group the SOD and GSH-Px were significantly increased and the MDA were significantly decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$) in Chinese medicine and transfer factor groups ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). These data indicated that the compound Chinese herbal medicine improves the antioxidant function, but the group of 1.0% is better than others.

Key words: compound Chinese herbal medicine; piglets; transfer factor; antioxidant function

基金项目: 内江职业技术学院畜牧兽医省级重点专业建设项目"川教函(2014)449号"; 内江职业技术学院院级课题

作者简介: 陈张华, 讲师, 从事动物疾病防治研究。E-mail: chenzh1232@126.com

中药是我国中医学中的国宝,有几千年的历史。现代医药学研究成果表明,许多中药含有丰富的多糖类、生物碱类、有机酸类、甙类、挥发油类及树脂类等。这些中药制剂用于动物,均具有激活免疫细胞、增强免疫功能、抗病毒、抗细菌、抗应激等作用。当前猪群发病主要表现为多种病原混合感染与继发感染,同时又存在免疫抑制、病毒不断变异、细菌耐药性增强的问题,致使临床上给猪病的诊断与防治带来很大的困难。近年来,国内外学者在探索用中药提高猪的免疫力方面已取得了可喜的进步。本试验所用的复方中草药制剂是按“扶正祛邪”、“正气存内,邪不可干”的中医理论科学组方而成的纯中药制剂,该方主要是由金银花、连翘、板蓝根、大青叶、黄连、黄芪、黄柏、忍冬藤、栀子、石膏、知母等 17 位中药组成,方中单味中药如金银花、板蓝根、大青叶、黄连、黄芪等均具有直接或间接的免疫增强作用,连翘、黄芪等均有很强的清除自由基、中断脂质过氧使抗氧化酶免受攻击的作用。其中,方剂对仔猪生产性能及细胞免疫^[1]和体液免疫^[2]的增强作用均已得到证实。因此,根据该复方中草药的这些组成特点,通过结合规模化养猪场的临床实际用药程序,测定抗氧化酶的活性和含量,旨在揭示该复方中药对断奶仔猪抗氧化功能影响的机理,为中草药的应用及推广提供参考依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物及分组 四川省邛崃市某猪场提供平均体重约 5 kg 的 20 日龄健康杜长大三元杂交仔猪 50 头,根据抗体水平、体重相近、公母各半的原则随机分成 5 个组(I - 基础日粮组、II - 转移因子组、III - 0.5% 中药组、IV - 1.0% 中药组、V - 2.0% 中药组),每组 10 头。所有仔猪在 21 d 时用 2 头份/头剂量猪瘟兔化弱毒苗免疫,其中 II 组转移因子按 0.02 mL/kg 体重在注射猪瘟苗时混合使用,饲喂基础日粮,27 日龄时 III、IV、V 组开始在基础日粮中添加中药“猪康散”,连喂 5 d,观察期 45 d。日粮参照 NRC(1998)配制,常规饲养管理。

1.2 药物及实验器材 由四川农业大学动物医学院新兽药研究组提供的复方中草药是由金银花、连

翘、板蓝根、大青叶、黄连、黄芪、黄柏、忍冬藤、栀子、石膏、知母等多位中药组成,按比例配方粉碎过 60 目筛,塑料袋 500 g/袋分装备用,所有中草药全部购于成都中药批发市场;转移因子(500 mg × 1 支,批号:20100322),河南辉腾动物药业有限公司;谷胱甘肽过氧化物酶(GSH)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)试剂盒,南京建成生物研究所(20101103,20101027,20101004);水浴锅、BIO - RID 型酶标仪(Model 680)、UV - 2501PC 紫外可见分光光度计。

1.3 指标的测定及方法 于 35 d、45 d、55 d、65 d 时从每个试验组中随机抽取 5 头仔猪,前腔静脉采血 1 mL,用于测定抗氧化酶 SOD、GSH - Px 的活性和 MDA 的含量。用南京建成生物工程研究所生产的 SOD、GSH - Px、MDA 检测试剂盒进行测定。按试剂盒说明书要求操作,采用日本岛津公司生产的 UV - 2501PC 紫外可见分光光度计测定各测定管的 OD 值,最后计算出样品中 SOD、GSH - Px 和 MDA 的值。

1.4 数据处理与分析 用 Excel 进行数据前处理,用 SPSS19.0 统计软件进行统计分析和 LDS 多重比较。

2 结果与分析

2.1 对血清超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响 由表 1 可知,各试验组仔猪 SOD 酶活性随日龄逐渐升高,且均高于对照组;转移因子组除 35 d 和 65 d 时显著高于对照组($P < 0.05$),65 d 高于 0.5% 和 2.0% 中药组($P < 0.05$)外,其余均差异不显著;1.0% 中药组在整个试验期间都显著或极显著高于对照组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

2.2 对血清谷胱甘肽过氧化物酶活性的影响 由表 2 可知,GSH - Px 的活性在整个试验期间都随着日龄的增长而逐渐增加(除 65 d 时 0.5% 中药组有所降低外),且均高于对照组;除 35 d 外,1.0% 中药组都显著高于对照组($P < 0.05$)和其他试验组($P > 0.05$);转移因子组、0.5% 中药组和 2.0% 中药组高于对照组($P > 0.05$);整个试验期间血清 GSH - Px 的活性升高的幅度以 1.0% 中药组最为明显。

表 1 血清超氧化物歧化酶(SOD)活性(λ=550 nm)

分组	35 日龄	45 日龄	55 日龄	65 日龄
对照组	107.17 ± 13.98 ^a	119.43 ± 12.25 ^a	124.08 ± 7.57 ^B	133.78 ± 9.55 ^b
转移因子组	134.67 ± 19.40 ^A	138.59 ± 9.38 ^{Aa}	142.98 ± 5.58 ^{AB}	152.91 ± 3.07 ^{Ba}
0.5% 中药组	127.99 ± 4.58 ^{Aa}	135.04 ± 16.08 ^{Aa}	135.44 ± 3.02 ^{AB}	141.02 ± 6.07 ^{ab}
1.0% 中药组	137.64 ± 8.01 ^A	145.40 ± 12.53 ^A	152.07 ± 12.38 ^A	170.07 ± 7.73 ^A
2.0% 中药组	129.43 ± 12.14 ^{Aa}	133.41 ± 9.84 ^{Aa}	132.94 ± 8.64 ^{AB}	140.64 ± 8.18 ^{ab}

表中数据格式为 ±SD,同列数据间上标有相同大写或小写字母表示差异不显著($P>0.05$);字母相同而大小写不同表示差异显著($P<0.05$),无相同字母表示差异极显著($P<0.01$),下表同。

表 2 血清谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性(λ=412 nm)

分组	35 日龄	45 日龄	55 日龄	65 日龄
对照组	410.30 ± 3.20 ^A	434.55 ± 41.03 ^a	457.58 ± 73.36 ^a	527.88 ± 36.38 ^{Ba}
转移因子组	440.01 ± 95.57 ^A	546.06 ± 88.87 ^{Aa}	577.28 ± 96.75 ^{Aa}	691.82 ± 41.75 ^{Ab}
0.5% 中药组	418.28 ± 29.60 ^A	581.82 ± 125.61 ^{Aa}	638.18 ± 12.86 ^{Aa}	642.73 ± 166.71 ^{Aa}
1.0% 中药组	527.31 ± 44.37 ^A	664.85 ± 113.78 ^A	705.07 ± 117.08 ^A	762.70 ± 29.60 ^A
2.0% 中药组	421.82 ± 44.69 ^A	509.70 ± 105.34 ^{Aa}	539.77 ± 207.75 ^{Aa}	600.91 ± 39.85 ^{ab}

2.3 对血清丙二醛(MDA)含量的影响 由表 3 可知,各组 MDA 含量都随着日龄的增长而逐渐降低,且均低于对照组。1.0% 中药组除 35 d 外,均低于对照组($P<0.05$ 或 $P<0.01$);转移因子组、0.5%

中药组、2.0% 中药组与对照组差异不显著($P>0.05$)。在整个试验期间,所有试验组 MDA 含量降低幅度以 1.0% 中药组最大,其次为转移因子组、0.5% 中药组、2.0% 中药组。

表 3 血清丙二醛(MDA)含量(λ=532 nm)

分组	35 日龄	45 日龄	55 日龄	65 日龄
对照组	4.05 ± 1.15 ^A	3.82 ± 0.25 ^A	3.58 ± 1.11 ^A	2.91 ± 1.17 ^A
转移因子组	3.11 ± 0.21 ^A	2.71 ± 0.65 ^{AB}	2.50 ± 0.49 ^{Aa}	2.17 ± 0.10 ^{Aa}
0.5% 中药组	3.27 ± 0.45 ^A	2.78 ± 0.84 ^{AB}	2.52 ± 0.23 ^{Aa}	2.21 ± 0.31 ^{Aa}
1.0% 中药组	2.99 ± 0.78 ^A	2.41 ± 0.25 ^B	2.06 ± 0.28 ^a	1.72 ± 0.31 ^a
2.0% 中药组	3.51 ± 1.50 ^A	2.92 ± 0.29 ^{AB}	2.72 ± 1.05 ^{Aa}	2.39 ± 0.12 ^{Aa}

3 讨论与小结

动物机体内 SOD 和 GSH-Px 活性是抗氧化防御体系中的重要组成部分,在清除自由基、抗氧化损伤和维持细胞结构方面都起着重要作用。其中超氧化物歧化酶是自由基损害的主要防御酶,可催化超氧阴离子自由基分解为 H_2O_2 ,其含量可反映出机体清除自由基能力和细胞受损的严重程度^[3]。谷胱甘肽过氧化物酶可以特异的催化还原型谷胱甘肽对过氧化氢的反应,将其转化为 O_2 和 H_2O ,起到保护细胞膜结构和功能的完整,达到抗氧化的作用^[4]。MDA 作为脂质过氧化的终产物之一,其含量不仅反应氧自由基介导的脂质过氧化程度,而且

是各种氧自由基损伤机体的重要指标^[5]。同时 GSH-Px 可加速催化清除生物氧产生的氧自由基,阻断脂质过氧化作用的引发,使细胞和组织免受损害,MDA 含量随之降低。因此,通常用这两种酶活性的高低来评价机体的抗氧化能力。在体内多不饱和脂肪酸经酶促反应或非酶促反应途径可生成一类过氧化物——脂质过氧化物,其主要成分为 MDA,MDA 又可氧化细胞膜中的多不饱和脂肪酸,加快脂质过氧化物的生成,从而破坏细胞膜的完整性,导致细胞膜的严重损伤^[6]。所以,MDA 含量高低可以反映该体系中脂质过氧化自由基的存在及细胞膜过氧化的程度,是反应机体抗氧化能力强弱

的一项重要指标^[7]。

生物体许多疾病的发生都是由于体人不饱和脂肪酸诱导所致,而仔猪断奶应激可损害机体抗自由基系统及加速体内过氧化反应,引起机体生理机能的紊乱和抗抵力下降,从而引发各种疾病。本文所用的中草药在用药后都显著或极显著的提高了仔猪体内 SOD、GSH - PX 的活性,且随着日龄的增长而不断增高,其中 0.5% 中药组和 1.0% 中药组升高较为明显,表明,0.5% ~ 1.0% 中药添加剂量能够提高抗氧化酶活性,清除氧自由基,减少脂质过氧化反应和脂质过氧化物的生成,增强仔猪抗氧化能力,这可能是由于中草药中含有多种矿物质元素,如锰在蛋白质、DNA、RNA 合成中发挥作用,是丙酮酸脱羧酶的组成成分,参与体内氧化还原过程,也是许多酶系统的重要活化剂,在清除超氧化物、氧自由基,促进生长发育,增强机体免疫功能方面均可产生影响^[8]。2.0% 中药组 SOD、GSH - Px 都有所提高,但差异不显著,可能是该浓度对抗氧化酶活性有抑制作用,但其具体原因有待进一步研究;同时在整个试验期间也有有效的降低了 MDA 含量,且以 1.0% 中药组降低幅度最为显著。转移因子组提升 SOD 和 GSH - PX 均高于对照组,MDA 均降低,但总体效果都低于中药添加组,结果与郝智慧等^[9]、曹旭敏等^[10]的研究相一致。在本次试验中以饲料中添加 1.0% 的复方中草药提高抗氧化功能最为显著。

在基础日粮中添加复方中草药能够显著提高仔猪血清 SOD 和 GSH - Px 活性,降低 MDA 含量,且 1.0% 的添加组效果明显优于转移因子组和其他

实验组。表明复方中草药具有提高仔猪抗氧化能力的作用,能够改善机体健康状况。由于中药成分复杂影响因素也较多,因此对仔猪抗氧化能力尚需进一步深入研究证实。

参考文献:

- [1] 陈张华. 复方中药“猪康散”对仔猪生产性能及细胞免疫功能影响的研究[D]. 雅安:四川农业大学硕士学位论文,2011.
- [2] 陈仓良. 复方中药“猪康散”对仔猪体液免疫功能及细胞因子水平影响的研究[D]. 雅安:四川农业大学硕士学位论文,2012.
- [3] 刘 垒,王永才,周勤飞,等. 普生源对断奶仔猪生长性能、抗氧化能力和细胞免疫功能的影响[J]. 饲料工业,2008,29(15):26-28.
- [4] 邹 健. 银耳多糖对断奶仔猪生产性能和肠道菌群及免疫功能的影响[D]. 雅安:四川农业大学,2006.
- [5] Pignatelli, P Fabio M Pulcinelli, Celestini A. The flavonoids quercetin and catechin synergistically inhibit platelet function by antagonizing the intracellular production of hydrogen peroxide[J]. Am J Clinl Nutri,2007,72:1150.
- [6] Halliwell B, Gutteridge J M C. Free Radicals in Biology and Medicine[M]. UK:Clarendon Press Oxford,1989.
- [7] 赵克然,杨毅军,曹道俊. 氧自由基与临床[M]. 北京:中国医药科技出版社,2000:529-538.
- [8] 韦安阳,周春兰. 微量元素铜、铁、锰与自由基[J]. 广东微量元素科学,2001,(6):15.
- [9] 郝智慧,陈仗榴,邱 梅,等. 不同紫锥菊提取物对肉仔鸡免疫功能影响[J]. 中国兽医医药杂志,2010,29(2):7-10.
- [10] 曹旭敏,卢福山,侯生珍,等. 中草药添加剂对断奶仔猪抗氧化功能指标的影响[J]. 安徽农业科学 2011,39(3):1459-1460.

(编辑:陈 希)