

苦参碱对断奶仔猪腹泻及胃肥大细胞的影响

姚红艳, 李诗举, 李秀富, 王群辉, 夏先林, 欧德渊*

(贵州大学动物科学学院, 贵州贵阳 550025)

摘要:观察日粮添加苦参碱对断奶仔猪腹泻的影响,揭示其防治断奶仔猪腹泻机理。试验采用了16头早期断奶仔猪,平均分2组,对照组饲喂基础日粮,苦参碱组饲喂添加苦参碱的日粮,试验期10 d。结果表明:苦参碱组腹泻率(0%)显著低于对照组(75%)($P < 0.05$);苦参碱组仔猪胃底部(118.7 ± 18.1)、胃贲门区(146.7 ± 12.6)和幽门区黏膜(172.8 ± 10.3)肥大细胞数显著($P < 0.01$)或极显著($P < 0.01$)高于对照组的(80.3 ± 7.5 、 96.8 ± 5.9 和 107.9 ± 7.6)个/ mm^2 ;苦参碱组胃底部黏膜组胺含量显著($P < 0.05$)高于对照组,表明日粮添加苦参碱稳定胃黏膜肥大细胞可能是其防治断奶仔猪腹泻的重要机理之一。

关键词:苦参碱;腹泻;肥大细胞;组胺;断奶仔猪

中图分类号: S828.5

文献标识码: B

文章编号: 0258-7033(2011)05-0052-03

断奶仔猪腹泻会导致仔猪营养吸收不良及生长受阻,甚至死亡,严重影响养猪生产,其可能与断奶应激、日粮过敏抗原、病原感染及饲养管理不当等因素有关^[1]。许多研究表明,苦参碱(Mat)具有抗菌、抗寄生虫和抗病毒的作用^[2]。苦参碱对大鼠胃黏膜损伤有显著的保护作用,通过抑制肠蠕动而发挥止泻作用^[3]。胃酸分泌不足是引起断奶仔猪腹泻的重要原因,组胺主要来源于肥大细胞,是调节胃酸分泌的关键物质,是所有刺激胃酸分泌介质作用的最后途径^[4]。所以,本试验通过日粮中添加苦参碱,观察其预防断奶仔猪腹泻的效果,探讨仔猪胃肥大细胞及组胺含量的变化,以期揭示苦参碱防治断奶仔猪腹泻机理。

1 材料与方法

1.1 苦参碱的提取 按参考文献采用热浸法提取。苦参购自贵阳三桥药材市场;用微型植物粉碎机将其粉碎成中粉;取苦参粗粉,用浓度为65%的乙醇浸泡2 h,60℃热浸提3次,每次2 h,每100 g用溶剂1 000 mL,收集合并3次提取液,10层纱布过滤,回收乙醇,减压浓缩,真空干燥,用组织捣碎机粉碎干燥物即得苦参碱粗提物粉末,分装后在干燥阴凉处保存备用^[5]。

1.2 动物处理 21日龄左右杜×大×长断奶公仔

猪(5.7 ± 0.8)kg 16头,平均分成2组,每组8个重复,对照组饲喂不含任何抗生素的基础日粮(玉米-豆粕型,遵义金鼎农业科技有限公司)。苦参组在基础日粮(不含任何抗生素)中添加50 mg/kg苦参碱粗提物。仔猪实行早期断奶,在产后7 d给予教槽料,18~19 d开始半隔离式断奶,21 d正式断奶;试验从21日龄开始,试验期10 d。饲养期间按猪场常规免疫程序进行免疫;每天观察记录仔猪粪便情况,以粪便不成形判定为腹泻,腹泻率=腹泻头数/供试猪总头数×100%。

1.3 肥大细胞染色计数 每组抽取5头进行剖杀,取胃贲门区、胃底部和胃幽门区组织用Carnoy's液(60%乙醇、30%氯仿、10%冰醋酸)进行固定,梯度酒精脱水,石蜡包埋,制6 μm 石蜡切片,甲苯胺蓝染色,树脂封片,显微镜下观察肥大细胞分布情况。采用网形接目测微器计数胃黏膜肥大细胞,随机计数10个视野,每个视野计数100个小方格(0.25 mm^2)内的肥大细胞数。计算出每个标本单位面积(mm^2)内的肥大细胞平均数。

1.4 组胺的测定 刮取胃底部黏膜组织用液氮冷冻,贮存于超低温冰箱中,参照Siraganian^[6]的邻苯二甲醛荧光法(OPT)进行测定。取黏膜组织,称重,按每克加20 mL三氯乙酸(25%)匀浆,4000 r/min离心10 min.,取上清液1.6 mL,置于已加1.5 g NaCl的试管中,加正丁醇4.0 mL、2.5 mol/L氢氧化钠溶液0.2 mL,立即混匀5 min,静置后,取出正丁醇相,加到已装有1.2 mL的0.1 mol/L盐酸溶液和2 mL正庚烷的试管

收稿日期 2009-06-17;修回日期:2009-09-17

资助项目:贵阳市科技局农业类项目[筑科农字(2008)2号]

作者简介:姚红艳(1971-)女,侗族,贵州铜仁人,副教授

*通讯作者

内,震荡 5 min,弃有机相,取出 1.0 mL 盐酸相加入等体积水,再加 0.4 mol/L 氢氧化钠溶液 0.5 mL,混匀并迅速加入 0.2%邻苯二甲醛-甲醇液 0.1 mL,立即混匀,置 21~22℃反应 10 min,加 0.5 mol/L 盐酸 0.5 mL 终止反应。用荧光光度计,在激发波长 360 nm 和发射波长 450 nm 下测吸光度。将标准液磷酸组织胺做直线回归方程,求出供试品溶液碱基含量(G),按供试品组胺含量(ng/g)= $G \times 2.76 \times 2.5$ (稀释倍数)/湿组织重计算供试品游离组胺含量。

1.5 统计分析 数据用 SPSS11.0 软件进行统计分析。仔猪腹泻率用 Crosstabs 过程分析,肥大细胞数和组胺量用 *t* 检验分析。

表 1 苦参碱对仔猪胃肥大细胞数的影响

个·cm⁻²

组别	胃贲门区		胃底部		胃幽门区	
	黏膜	浆膜	黏膜	浆膜	黏膜	浆膜
对照组	96.8 ± 5.9	56.5 ± 10.0	80.3 ± 7.5	64.5 ± 13.0	107.9 ± 7.6	70.5 ± 14.1
苦参碱组	146.7 ± 12.6	63.8 ± 9.0	118.7 ± 18.1*	66.9 ± 12.5	172.8 ± 10.3**	76.2 ± 15.3

部黏膜组胺含量显著($P < 0.05$)低于苦参碱组(2.28 ± 0.17)ng/g,见图 1。

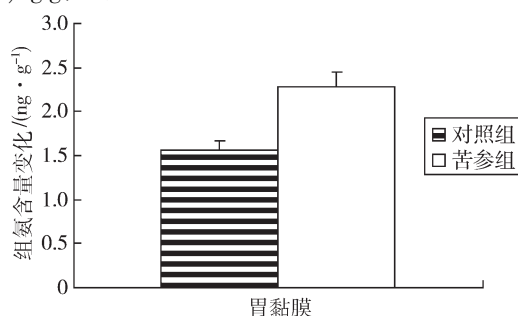


图 1 胃底部黏膜组胺含量

3 讨论

本试验发现断奶应激造成仔猪发生严重的腹泻,而饲料中添加苦参碱能有效的防治断奶仔猪腹泻。前人的研究表明,苦参碱对大鼠胃黏膜损伤有显著的保护作用,同时具有抑制肠蠕动从而具有止泻作用^[8],这提示临床上苦参碱可作为饲料添加剂防治断奶仔猪腹泻。

肥大细胞在胃肠道有广泛分布,有显著调节胃肠功能的潜力,肥大细胞的增殖和募集在与胃肠道症状动力相关的变化过程中起重要的作用。近年来研究发现,苦参碱及氧化苦参碱均可调节小鼠及大鼠腹腔肥大细胞组织胺释放,两者可有效抑制 IgE 及其特异性抗原引起的肥大细胞释放组胺、白三烯

2 结果与分析

2.1 预防腹泻效果 苦参组在试验期间仔猪生长状况良好,未发现仔猪腹泻和死亡现象(腹泻率为0);对照组在试验期间腹泻率为 75%,两者差异极显著($P < 0.01$)。

2.2 胃肥大细胞变化 苦参组胃贲门区和胃幽门区黏膜肥大细胞数量极显著高于($P < 0.01$)对照组,苦参组胃底部黏膜肥大细胞数显著高于对照组($P < 0.05$),胃部 3 个部位的浆膜肥大细胞数未见显著变化,见表 1。

2.3 胃底部组胺含量变化 对照组(1.56 ± 0.11)胃底

等介质。苦参碱及氧化苦参碱可以显著降低肥大细胞瘤 P185 细胞膜的流动性,其抑制肥大细胞脱颗粒可能通过膜稳定性作用而实现的,其作用类似于色甘酸二钠,降低膜的流动性抑制细胞膜表面 IgE 交联^[2]。本试验中,发现仔猪胃各层均含有肥大细胞,尤其以黏膜层为多,同时,断奶应激造成胃黏膜肥大细胞数量显著减少,苦参碱显著增加胃黏膜肥大细胞数量。由于甲苯胺蓝染料是与肥大细胞中胺类物质结合,其细胞数量减少可能与其释放胺类物质增多有关,同时,还可能与细胞生成减少或凋亡增多有关。苦参碱使断奶仔猪肥大细胞数量的增多可能与其稳定肥大细胞,抑制其释放细胞颗粒,促进其生成或减少其凋亡有关。

胃酸分泌不足是引起仔猪早期断奶综合症的重要原因^[4],组胺是调节胃酸分泌的关键物质,是所有刺激胃酸分泌介质作用的最后途径。十二指肠内注入组胺或皮下注射或静脉注射组胺均可引起大鼠大量的胃酸分泌。组胺贮存、释放、代谢的异常在改变胃酸分泌和消化性溃疡的发病机理中起重要作用^[9]。人消化性溃疡胃黏膜组胺含量明显低于正常人,可能与黏膜的内生组胺释放增加有关^[10]。有研究表明,在日粮中添加适量的组胺有利于增加仔猪的生产性能,添加过量的组胺则降低仔猪的生产性能,并造成仔猪腹泻率增加和胃溃疡^[4]。本试验中,断奶应激造成胃底部黏膜组胺含量显著下降,这或许是释放过