

鸡喹乙醇中毒对血中自由基水平 及抗氧化系统的影响*

高洪¹, 浦雪艳², 彭轶³, 彭洁¹

(1. 云南农业大学, 云南 昆明 650201; 2. 上海开拓者生物科技发展有限公司, 上海 浦东 201203;
3. 四川大学, 四川 成都 610064)

摘要: 对鸡喹乙醇中毒时, 血中自由基(MDA)及抗氧化系统的变化进行了研究; 艾维因鸡随机分为两组, 正常对照组(I组), 饲喂基础日粮; 喹乙醇处理组(II组), 饲喂基础日粮, 且以15 mg 喹乙醇/kg 体重处理II组, 连续处理42 d, 每天1次, I, II组每7 d采血1次, 共采血6次, 测定MDA及抗氧化系统各指标水平; 结果: 第2~6次II组MDA水平明显高于I组($P < 0.05$, $P < 0.01$), 而II组T-AOC, GSH, T-SOD, CAT, GST, GSH-PX水平明显低于I组($P < 0.05$, $P < 0.01$)。第1次各指标在I, II组间无显著性差异($P > 0.05$)。鸡喹乙醇中毒时可引起血中自由基水平(MDA)明显升高, 而抗氧化系统各指标水平明显下降。

关键词: 鸡; 喹乙醇中毒; 自由基; 抗氧化酶; 影响

中图分类号: S 852.3 文献标识码: A 文章编号: 1004-390X(2007)03-0396-05

The Effect of Olaquinox Poisoning on Free Radical and Anti-oxidative System in Chicken Blood

GAO Hong¹, PU Xue-yan², PENG Lu³, PENG Jie¹

(1. Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;
2. Shanghai Bioexplorer Co., Ltd., Shanghai 201203, China; 3. Sichuan University, Chendu 610064, China)

Abstract: The changes of free radical (malondialdehyde, MDA) and anti-oxidative system in chicken blood during olaquinox poisoning were achieved. Aiveiyin chickens were divided randomly into 2 groups: the chickens of Control group (group I) were only fed on basic diet, and those of olaquinox-treated group (group II) were administrated by 15 micrograms olaquinox per kilogram body weight besides being fed on basic diet, olaquinox was orally given once per day with total times, blood was sampled 6 times with once per 7 days for detection of MDA and anti-oxidative indexes. At the 2nd to 6th detection, MDA of group II was significantly higher than that of group I ($P < 0.05$, $P < 0.01$), and all anti-oxidative indexes (T-AOC, GSH, T-SOD, CAT, GST, GSH-PX) of group II were remarkably lower than those of group I ($P < 0.05$, $P < 0.01$), no differences existed in group I and group II at the 1st detection ($P > 0.05$). Chicken olaquinox poisoning can results in remarkable increase of blood MDA and significant decrease of anti-oxidation indexes.

Key words: Chicken; olaquinox poisoning; free radical; antioxidase; effect

收稿日期: 2006-11-03

* 基金项目: 云南省自然科学基金资助(2003C0049M)。

作者简介: 高洪(1961-), 男, 云南大理, 博士、教授, 研究方向: 分子病理学与比较病理学。

喹乙醇(olaquinox)又称喹酰胺醇,是一种合成抗菌剂^[1],因发现其还有促进畜禽对饲料的消化利用、提高生长进度的功能,因而被广泛应用于畜禽兽药及饲料添加剂中^[2],但鸡对喹乙醇较为敏感,容易发生中毒,特别是当添加喹乙醇时间过长或剂量过大时,更易发生中毒,导致鸡只死亡或禽产品喹乙醇残留过量而危及公共卫生健康。同时,一些研究认为^[3-5],机体中毒时,体内抗氧化系统受到损伤,且自由基(free radical, FR)水平升高,但喹乙醇中毒时对血中FR及抗氧化系统水平的影响在国内还未见报道,因此,本文研究了鸡喹乙醇中毒时血中FR(MDA)及抗氧化系统各指标(T-AOC, GSH, T-SOD, CAT, GST, GSH-PX)水平的变化,以探讨喹乙醇中毒的发病机理,并为喹乙醇中毒诊断、防治及喹乙醇安全评价标准的建立提供实验性理论依据。

1 材料与方 法

1.1 药品及试剂

喹乙醇(含量 $\geq 98\%$,批号:0312238,质量标准:《中国兽药典》2000版,湖北中牧安达药业有限公司生产)、医用生理盐水(昆明一心堂)、肝素(上海生工),MDA, T-AOC, T-SOD, GSH, CAT, GST, GSH-PX测定试剂盒(南京建成生物工程研究所)。

1.2 仪器

YXQ-SG46-280压力蒸汽灭菌器(上海博迅实业有限公司医疗设备厂),FA1004N型电子天平(上海精密科学仪器有限公司天平仪器厂),1810A

型自动双重纯水蒸馏器(上海审密科学仪器有限公司)。

1.3 试验动物

艾维因鸡(1日龄)购自昆明正大有限公司。

1.4 试验方法

1.4.1 试验动物分组及处理

将艾维因鸡预饲5 d,选择健康且体重相近的72只随机分为2组,于6日龄开始实验:Ⅰ组(对照组,36只)饲喂基础日粮,Ⅱ组(喹乙醇处理组,36只)饲喂基础日粮且用15 mg喹乙醇/kg体重每天口服处理1次,连续处理42 d。

1.4.2 饲养管理方式

各组实验鸡自由隔离平养,自由采食,饮水,进行常规免疫和驱虫,各组鸡只的温度、湿度、光照、通风、饲养密度等条件相同。

1.4.3 待检样品制备

试验期内,每7 d对各组鸡只采血1次,共采血6次(分别是第12,19,26,33,40,47日龄)。每组每次随机取6只鸡分别从心脏采血,血样用肝素抗凝,所有血样于离心机上3 000~4 000 r/min离心10 min,所获血清存于4~-20℃用于各指标测定。

1.4.4 MDA及抗氧化系统各指标水平测定方法

均按各自试剂盒说明书进行。

1.5 数据统计分析

用t检验分析所获数据

2 结果

2.1 MDA测定结果(表1)

表1 血清MDA测定结果

	Tab.1 Detection results of serous MDA						mmol. $\bar{x} \pm s$
	第1次测定 times of mensuration/测定日龄 mensuration age, days						
	1/12	2/19	3/26	4/33	5/40	6/47	
正常对照组 control group (n=6)	3.119 ± 0.864 ^A	3.164 ± 0.875 ^A	3.059 ± 0.820 ^A	3.201 ± 0.933 ^A	3.018 ± 1.263 ^A	3.129 ± 0.458 ^A	
喹乙醇处理组 treatment of olaquinox (n=6)	3.194 ± 1.288 ^A	4.128 ± 0.510 ^B	4.214 ± 0.766 ^B	4.531 ± 1.016 ^B	4.904 ± 1.631 ^B	5.040 ± 0.581 ^b	

注:同一列数据肩上大写字母相同者,差异不显著($P > 0.05$)。

Note: The same majuscule of same line data, the difference was not significant ($P > 0.05$).

同一列数据肩上大写字母不相同者,差异显著($P < 0.05$)。

The different majuscule of same line data, the difference was significant ($P < 0.05$).

同一列数据肩上下小写字母不相同者,差异极显著($P < 0.01$)。

The same lowercase of same line data, the difference was very significant ($P < 0.01$).

表2至表7标注同表1。

The note of table 2 to table 7 is same as the table 1.

2.2 血清抗氧化系统指标测定结果(表 2~7)

表 2 血清 T-AOC 测定结果

	第 1 次测定 times of mensuration/测定日龄 mensuration age, days						μg/mL, $\bar{x} \pm s$
	1/12	2/19	3/26	4/33	5/40	6/47	
正常对照组 control group (n=6)	9.784 ± 0.566 ^A	9.600 ± 1.292 ^A	9.291 ± 1.225 ^A	9.888 ± 1.311 ^a	9.641 ± 1.030 ^a	9.538 ± 0.602 ^a	
喹乙醇处理组 treatment of olaquinox (n=6)	9.374 ± 1.277 ^A	7.770 ± 0.693 ^B	7.667 ± 0.559 ^b	7.606 ± 0.622 ^b	7.544 ± 0.537 ^b	7.112 ± 0.665 ^b	

表 3 血清 GSH 测定结果

	第 1 次测定 times of mensuration/测定日龄 mensuration age, days						mg/L, $\bar{x} \pm s$
	1/12	2/19	3/26	4/33	5/40	6/47	
正常对照组 control group (n=6)	334.332 ± 28.545 ^A	337.623 ± 69.998 ^A	343.999 ± 30.23 ^a	336.066 ± 38.037 ^a	335.208 ± 50.632 ^a	345.039 ± 30.802 ^a	
喹乙醇处理组 (n=6) Treatment of olaquinox	333.141 ± 57.121 ^A	255.890 ± 39.818 ^B	255.384 ± 5.033 ^b	254.902 ± 14.656 ^b	245.204 ± 19.839 ^b	240.777 ± 23.018 ^b	

表 4 血清 T-SOD 测定结果

	第 1 次测定 times of mensuration/测定日龄 mensuration age, days						μg/mL, $\bar{x} \pm s$
	1/12	2/19	3/26	4/33	5/40	6/47	
正常对照组 control group (n=6)	136.966 ± 14.966 ^A	135.098 ± 4.730 ^A	137.429 ± 15.966 ^A	132.384 ± 10.008 ^A	138.379 ± 5.190 ^a	138.964 ± 13.18 ^a	
喹乙醇处理组 treatment of olaquinox (n=6)	134.388 ± 22.855 ^A	121.123 ± 10.632 ^B	119.525 ± 40788 ^B	115.522 ± 13.915 ^B	115.433 ± 7.251 ^b	113.602 ± 3.434 ^b	

表 5 血清 CAT 测定结果

	第 1 次测定 times of mensuration/测定日龄 mensuration age, days						U. $\bar{x} \pm s$
	1/12	2/19	3/26	4/33	5/40	6/47	
正常对照组 control group (n=6)	6.956 ± 0.408 ^A	7.009 ± 0.107 ^A	6.926 ± 0.098 ^A	6.903 ± 0.285 ^A	6.948 ± 0.338 ^A	6.866 ± 0.176 ^A	
喹乙醇处理组 (n=6) treatment of olaquinox	6.835 ± 0.003 ^A	5.006 ± 0.640 ^b	4.938 ± 0.494 ^b	4.743 ± 0.536 ^b	4.727 ± 0.818 ^b	4.675 ± 0.298 ^b	

表 6 血清 GST 测定结果

	第 1 次测定 times of mensuration/测定日龄 mensuration age, days						μg/mL, $\bar{x} \pm s$
	1/12	2/19	3/26	4/33	5/40	6/47	
正常对照组 control group (n=6)	25.017 ± 6.112 ^A	24.747 ± 4.104 ^A	26.034 ± 3.445 ^A	24.251 ± 3.664 ^A	24.444 ± 3.880 ^A	25.107 ± 1.436 ^A	
喹乙醇处理组 (n=6) treatment of olaquinox	24.210 ± 9.798 ^A	20.801 ± 1.382 ^B	20.775 ± 3.805 ^B	19.796 ± 2.572 ^B	19.140 ± 1.880 ^B	19.133 ± 1.275 ^b	

表7 血清 GSH - PX 测定结果
Tab.7 Detection results of serous GSH - PX

	第1次测定 times of mensuration/测定日龄 mensuration age, days						U, $\bar{x} \pm s$
	1/12	2/19	3/26	4/33	5/40	6/47	
正常对照组 control group (n=6)	8.065 ± 1.059 ^A	8.761 ± 3.321 ^A	8.219 ± 1.336 ^A	8.704 ± 2.097 ^A	8.611 ± 1.161 ^A	8.629 ± 1.562 ^A	
喹乙醇处理组 (n=6) treatment of olaquinox	8.527 ± 2.928 ^A	4.507 ± 1.787 ^B	4.454 ± 1.705 ^B	4.367 ± 1.505 ^B	4.282 ± 1.064 ^B	4.084 ± 1.401 ^B	

从表1~7可知,喹乙醇处理期间,第1次测定时,MDA及抗氧化系统中各指标水平在I,II组间无显著差异($P > 0.05$),第2,3,4,5,6次测定时,MDA及抗氧化系统中各指标水平在I,II组间均差异(极)显著($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

3 讨论

3.1 喹乙醇中毒对血中MDA水平的影响

FR在体内的重要终产物是丙二醛(MDA),因此,MDA含量常作为衡量体内FR水平的重要指标^[3]。

本试验研究中,第1次测定(12日龄)时,I,II组血清MDA水平无显著性差异,说明体内FR水平没有明显变化(这是还未发生喹乙醇中毒之故),而第2,3,4,5,6次测定(分别是19,26,33,40,47日龄)时,II组血清MDA均明显高于I组,差异(极)显著($P < 0.05$, $P < 0.05$, $P < 0.05$, $P < 0.05$, $P < 0.01$)(表1),提示II组鸡只体内FR水平明显高于I组,这是由于继续用喹乙醇处理导致II组鸡只中毒所致。由此说明,喹乙醇中毒时,可导致鸡血中MDA水平即FR水平明显升高。

3.2 喹乙醇中毒对血中抗氧化系统的影响

机体内主要存在两大类抗氧化系统以清除过多FR,保护机体免受FR的氧化损伤^[6],一类是非酶促抗氧化系统,包括谷胱甘肽(glutathione, GSH),维生素A,E,C(vitamin A,E,C)、微量元素硒等,另一类是酶促抗氧化系统,包括超氧化物歧化酶(superoxide dimutase, SOD)、过氧化氢酶(Catalase, CAT)、谷胱甘肽硫转移酶(glutathiong - sulfidetransferase, GST, GSH - ST)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH - PX),其中,SOD分为铜锌SOD(Cu Zn - SOD)和锰SOD(Mn - SOD),二者之和称总SOD(total - SOD, T - SOD),酶促抗氧化系统所有酶的总活力称为总抗氧化能

力(total anti-oxidation competition, T - AOC)。

本试验研究中,第1次测定(12日龄)时,I,II组鸡血中T - AOC, GSH, T - SOD, CAT, GST, GSH - PX水平均无明显差异($P > 0.05$),说明体内抗氧化系统各指标此时无明显变化,而第2,3,4,5,6次(分别为19,26,33,40,47日龄)测定时,II组鸡血中抗氧化系统各指标水平均明显低于I组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)其中,II组血中T - AOC在第2,3次,GSH在第2次,T - SOD在第2,3,4次,GST在第2,3,4,5次,GSH - PX在第2次测定时均明显低于I组,且差异显著($P < 0.05$),II组血中T - AOC在第4,5,6次,GSH在第3,4,5,6次,T - SOD在第5,6次,CAT在第2,3,4,5,6次,GSH - PX在第3,4,5,6次测定时均明显低于I组,且差异极显著($P < 0.01$)(表2至表7),由此说明,喹乙醇中毒可导致体内抗氧化系统受到破坏,进而降低机体清除FR的能力。

3.3 自由基(MDA)及抗氧化系统变化在鸡喹乙醇中毒发病机理中的作用

正常生理状况下,体内产生的过多FR被抗氧化系统及时清除,使FR水平处于极低的微量平衡状态,微量的FR不仅无害于机体,反而有利于机体自身稳定(homeostasis)的维持及加强机体防御功能,但在病理状态下,由于各种原因导致FR水平升高和(或)抗氧化系统破坏,导致FR水平急剧升高,则可引起组织器官出现损伤及病变,在一系列病理过程中发挥重要作用^[3,4,6]。

本试验研究中,喹乙醇中毒组(II组)自由基水平(MDA)明显高于正常对照组(I组),加上抗氧化系统各指标水平明显下降,进一步导致喹乙醇中毒组鸡体内FR产生急剧增加,高水平的FR作用于细胞膜和细胞器膜,引起膜脂质过氧化损伤、膜结构改变、通透性增加^[7]、破坏膜酶功能^[5],从而干扰细胞内外离子转运及导致细胞内活性物质

外泄造成组织损伤及病变;另一方面,FR 可激活磷脂酶 A₂ (phospholipase , pLA₂) 及血小板活化因子 (platelet-activating factor2. PAF₂), 导致体内前列腺素 I₂ (prostaglandin - I₂, PGI₂)/血栓素 A₂ (thromboxane A₂, TXA₂) 平衡失调,引起粒细胞及血小板聚集并释放活性氧^[8],造成血管内皮细胞损伤,增加微血管通透性,导致组织器官循环血量减少及水肿等病变,喹乙醇中毒时的此种器官病变与其它报道相一致^[9]。

综上所述,FR 水平升高及抗氧化系统破坏在鸡喹乙醇中毒发病机理中发挥了重要作用,是喹乙醇中毒时,器官损伤与病变的重要机制之一。另外,喹乙醇中毒引起体内 FR 水平升高及抗氧化系统破坏的详细机理有待进一步研究。

[参考文献]

[1] 谢麟. 喹乙醇的安全毒性毒理学评价与合理应用 [J]. 兽药与饲料添加剂,1999,4(2):25-27.

[2] 郭小权,胡国良,刘姝,等. 喹乙醇及其在畜禽养殖业中的应用[J]. 江西饲料,2002,(6):31-33.
 [3] 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.
 [4] 郑荣梁,黄中洋. 自由基医学与农学基础[M]. 北京:高等教育出版社、施普林格出版社,2002.
 [5] 杨建发. 阳离子 A 拮抗内毒素生物学效应机理的实验研究[D]. 云南农业大学. 硕士学位论文,2002.
 [6] 陈瑗,周玫. 自由基医学[M]. 北京:人民军医出版社,1991.
 [7] GOOD H F, WEBSTER N R. Free radicals and antioxidants in sepsis[J]. Crit Care Med,1993, 21: 1770 - 1776.
 [8] BEAKMAN J K. The role of phospholipase A activity in rat liver microsomal lipid peroxidation[J]. J Biol Chem, 1998, 262(4):1479 - 1484.
 [9] 郭小权,胡国良,张彩英. 崇仁麻鸡喹乙醇中毒临床病理学实验研究[J]. 江西农业大学学报,2003,25(2):292 - 305.



(上接第 395 页)

[8] NEI M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals[J]. Genetics, 1978, 89:583 - 590.
 [9] 朱庆,李亮. 不同地方乌骨鸡种群遗传多样性的微卫星分析[J]. 畜牧兽医学报, 2003, 34(3):213 - 216.
 [10] 陈红菊,岳永生,樊新忠,等. 利用微卫星标记分析山东地方鸡品种的遗传多样性[J]. 遗传学报, 2003, 30(9):855 - 860.
 [11] 高玉时,杨宁,李慧芳,等. 我国地方鸡品种保种群微卫星多态性分析与分子档案的建立[J]. 遗传, 2004, 26(6):859 - 864.
 [12] 叶朗惠,霍金龙,苗永旺,等. 尼西鸡遗传多样性微

卫星标记分析[J]. 动物学研究, 2006, 27(1):68 - 74.
 [13] 叶朗惠,苗永旺,霍金龙,等. 茶花鸡群体遗传多样性[J]. 动物学杂志,2006,41(2):37 - 42.
 [14] 钱林东,陈涛,霍金龙,等. 武定鸡群体遗传变异的微卫星标记分析[J]. 云南农业大学学报, 2006,21(5):651 - 656.
 [15] 宿兵,王文,聂龙,等. 云南两个地方鸡种的血液蛋白多态性研究[J]. 云南畜牧兽医, 1995,(4):3 - 6.
 [16] 汤青萍,陈宽维,李慧芳,等. 中国斗鸡遗传分化的微卫星标记分析[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2005,(3):19 - 33.
 [17] 李慧芳,陈宽维,章双杰,等. 中国受威胁地方鸡品种的遗传多样性[J]. 南京农业大学学报, 2005, 28(3):68 - 70.