

猪增生性肠炎消化系统酶活性的变化

陈彤^{1,2}, 杨小燕^{1,2}, 祁保民³

(1. 龙岩学院生命科学学院, 龙岩 364000; 2. 福建省人畜寄生与病毒性疫病防控工程技术研究中心, 龙岩 364000;
3. 福建农林大学动物科学学院, 福州 350002)

摘要: 采用酶学反应方法, 检测了增生性肠炎阳性猪与阴性猪的胰腺、十二指肠、空肠、回肠淀粉酶、胰蛋白酶、脂肪酶及碱性磷酸酶的活性变化。结果表明: (1) 猪增生性肠炎阳性猪胰腺、十二指肠、空肠、回肠胰蛋白酶活性同比阴性猪均下降, 其中空肠、回肠的同比差异显著 ($P < 0.05$); (2) 阳性猪回肠碱性磷酸酶活性显著下降 ($P < 0.05$), 胰腺、十二指肠、空肠碱性磷酸酶活性与阴性猪相比差异不显著 ($P > 0.05$); (3) 阳性猪胰腺、十二指肠、空肠、回肠的淀粉酶和脂肪酶活性均下降, 但差异不显著 ($P > 0.05$)。猪增生性肠炎病猪空肠、回肠胰蛋白酶以及回肠碱性磷酸酶活性显著降低, 酶活性降低引起了增生性肠炎猪消化机能障碍。

关键词: 猪增生性肠炎; 淀粉酶; 胰蛋白酶; 脂肪酶; 碱性磷酸酶

中图分类号: S852.23

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2011)02-0267-04

Change of digestive enzyme activity in porcine proliferative enteritis

CHEN Tong^{1,2}, YANG Xiao-yan^{1,2}, QI Bao-min³

(1. College of Life Sciences, Longyan University, Longyan 364000;

2. Engineering Research Center for the Prevention and Control of Zoonosis, Longyan 364000;

3. College of Animal Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002)

Abstract: The enzyme activities of amylase, trypsin, lipase and alkaline phosphatase in pancreas, duodenum, jejunum and ileum were detected in the swine of porcine proliferative enteritis by enzymatic reaction method. The results show as follows. (1) Compared with the negative swine, the activity of the trypsin in pancreas, duodenum, jejunum, and ileum of the positive swine all decreased, among them the difference of comparison in jejunum and ileum is significant ($P < 0.05$); (2) Compared with the negative swine, the activities of the alkaline enzymes in ileum are significant ($P < 0.05$), and no obvious difference in pancreas, duodenum, and jejunum ($P > 0.05$); (3) The activities of amylase and the lipase in pancreas, duodenum, jejunum and ileum have no obvious difference between the positive and negative swines ($P > 0.05$). These results suggest that the activity of trypsin in jejunum, ileum and alkaline enzymes in ileum decreased significantly. The decrease of enzyme activities could led to disorder of digestion in the swine of porcine proliferative enteritis.

Key words: porcine proliferative enteritis; amylase; trypsin; lipase; alkaline phosphatase

猪增生性肠炎(porcine proliferative enteritis, PPE)是一种由专性胞内劳森氏菌(*Lawsonia intracellularis*)引起的猪小肠黏膜腺窝上皮细胞腺瘤样增生的接触性传染病。在文献中描述相似病征的其它名称还有坏死性肠炎(nerotic enteritis, NE)、回肠末端炎(terminal ileitis, TI)、猪回肠炎(porcine

ileitis, PI)、猪增生性肠道病(porcine bowl disease, PBD)、猪肠腺瘤样病(porcine intestinal adenomatosis, PIA)、猪增生性出血性肠炎(porcine proliferate haemorrhage enteritis, PHE)等^[1-4]。

自 Schwarte 等在 1931 年首次报道猪增生性肠炎以来, 目前, 已呈全球性流行, 是一种具有重要

收稿日期: 2010-09-13

基金项目: 福建省区域科技重大项目(2009N3013)资助。

作者简介: 陈彤, 女, 硕士。E-mail: chen.9376@163.com

* 通讯作者: 杨小燕, 女, 教授。E-mail: Lyyxy1988@126.com

经济意义的世界性疾病,给养猪业带来了巨大的经济损失。据报道,仅美国每年因该病而造成的损失就达2 000万美元,英国每年的损失更是达到400万英镑,造成损失的主要原因就是增加了饲料开支,据估计,每头患猪大约需要增加2~20美元的饲料开支。在我国,随着养猪业从分散的、传统的养猪向集约化、现代化养猪发展,临床可疑病例有增多趋势,对养猪业的危害将日趋严重。因此,对猪增生性肠炎的研究已日益引起养猪者和科学工作者的重视,但该病的研究主要是在分类学、抗原性、致病性、诊断、防治等方面受到关注,国内外对该病的基础研究甚少,临床上,增生性肠炎猪生长缓慢、消瘦,其原因主要是消化系统的消化和吸收功能障碍引起的。目前,有关消化、吸收功能障碍的研究,只有组织学的报道,即回肠粘膜上皮细胞的脱落,影响了小肠对营养物质的消化和吸收,而对于肠道消化酶活性变化的研究还没见报道。本研究比较了增生性肠炎阳性猪与阴性猪肠道消化酶及碱性磷酸酶的活性,对于研究猪增生性肠炎对消化机能的影响具有较大意义。

1 材料与方法

1.1 材料

阳性猪:龙岩学院动物医学研究所接收的送检病猪(40~60日龄),通过流行病学调查,临床症状和病理变化观察,经PCR等实验技术检测确诊为猪增生性肠炎阳性,猪瘟、圆环病毒病、呼吸繁殖综合征等均为阴性,6只。

阴性猪:50日龄的健康猪,经PCR等实验技术检测,猪增生性肠炎为阴性,猪瘟、圆环病毒病、呼吸繁殖综合征等也均为阴性,3只。

试剂采用考马斯亮兰试剂盒,淀粉酶测定试剂盒,胰蛋白酶测定试剂盒,脂肪酶测定试剂盒,碱性磷酸酶测定试剂盒(以上试剂盒均购自南京建成生物工程研究所,产品编号:20090413)。

1.2 方法

1.2.1 样品处理 将疑似增生性肠炎猪颈静脉放血

处死,打开腹腔,立即取出胰腺,并结扎幽门瓣和回肠远端,沿肠壁分别纵向剪开十二指肠、空肠、回肠,用小刀片刮下黏膜置于空管内,迅速放入-70℃冰箱内保存待用。对病猪进行临床症状及病理解剖观察,再经PCR检测,确诊为阳性,而猪瘟、圆环病毒病、呼吸繁殖综合征等均为阴性的病猪样品进行后续的实验。阴性猪的样品相同处理。

1.2.2 测定指标 考马斯亮兰蛋白测定。采用南京建成生物工程研究所试剂盒的测定方法进行测定。

淀粉酶活力的测定。采用南京建成生物工程研究所试剂盒的测定方法进行测定。在37℃条件下,组织中每毫克蛋白与底物作用30 min,水解10 mg淀粉定义为1个淀粉酶活力单位。

胰蛋白酶活力测定。采用南京建成生物工程研究所试剂盒的测定方法进行测定。在pH值8.0,37℃条件下,每毫克蛋白中含有的胰蛋白酶每分钟使吸光度变化0.003即为1个酶活力单位。

脂肪酶活力测定。采用南京建成生物工程研究所试剂盒的测定方法进行测定。在37℃条件下,每克组织蛋白在本反应体系中与底物反应一分钟,每消耗1 μmol底物为1个酶活力单位。

碱性磷酸酶(AKP)活力测定。采用南京建成生物工程研究所试剂盒的测定方法进行测定。在37℃条件下,每克组织蛋白与基质作用15 min产生1 mg 酚为1个单位。

1.3 数据统计与分析

试验数据用Microsoft Excel作初步处理,SPSS(Ver.11.5)软件包进行统计分析。各组之间的差异采用单因子方差(One-Way ANOVA)分析,结果用平均值±标准差(X±SD)表示。

2 结果与分析

2.1 淀粉酶活性的变化

淀粉酶活性的变化见表1。阳性猪胰、十二指肠、空肠、回肠的淀粉酶活性均同比阴性猪的有所下降,但均差异不显著($P>0.05$)。

表1 阳性猪与阴性猪淀粉酶活性

	Table 1 The amylase activity in the positive and the negative swines				U·mg ⁻¹
	胰 Pancreas	十二指肠 Duodenum	空肠 Jejunum	回肠 Ileum	
阳性猪 Positive	0.987±0.374 ^{aA}	1.005±0.235 ^{aA}	1.088±0.033 ^{aA}	0.360±0.135 ^{aB}	
阴性猪 Negative	1.061±0.358 ^{aA}	1.115±0.560 ^{aA}	1.197±0.156 ^{aA}	0.581±0.197 ^{aB}	

注:肩注大写字母为同一行数字间显著性比较;小写字母为同一列数字间显著性比较;带不同字母者间差异显著($P<0.05$)。下同。

Note: Capital letter followed with the data is comparison of significance in the same row, while small letter is comparison of significance in the same column. Those with different letters mean significant difference at 0.05 level. The same below.

小肠液淀粉酶是消化碳水化合物的主要酶之一。许多报道认为畜禽小肠内容物淀粉酶活性与日龄有关,活性随日龄的增长而增高,并与进食的饲料量和营养成分有关,进食的淀粉量增加,胰腺和小肠内容物淀粉酶活性会增强^[5-7]。在实验过程中,发现不同窝的猪,其淀粉酶活性差异较大,但无论是阳性猪,还是阴性猪,都是空肠淀粉酶活性最大,空肠是消化淀粉的主要场所,这与张英杰等^[8]的研究相似。阳性猪各部位淀粉酶活性都同比阴性猪有所

下降,但均不显著($P > 0.05$),因此引起增生性肠炎猪消瘦的主要原因可能不是肠道对糖类吸收的降低。

2.2 胰蛋白酶活性的变化

胰蛋白酶活性的变化见表 2。阳性猪胰、十二指肠、空肠、回肠的蛋白酶活性均同比阴性猪下降,其中,阳性猪胰和十二指肠蛋白酶活性的下降不显著($P > 0.05$),空肠和回肠蛋白酶活性的下降显著($P < 0.05$)。

表 2 阳性猪与阴性猪蛋白酶活性

	胰 Pancreas	十二指肠 Duodenum	空肠 Jejunum	回肠 Ileum
阳性猪 Positive	2 571.95±552.43 ^{aA}	711.92±180.21 ^{aB}	510.04±149.25 ^{aBC}	411.39±187.33 ^{aC}
阴性猪 Negative	3 124.92±865.22 ^{aA}	806.61±62.51 ^{aB}	1 334.19±297.65 ^{bC}	1 286.80±171.19 ^{bC}

小肠蛋白分解酶主要包括胰蛋白酶、糜蛋白酶和羧肽酶。其中胰蛋白酶是由胰腺合成分泌的,可专一性水解由赖氨酸、精氨酸羧基形成的肽键,这种酶是肠道中降解蛋白质重要的蛋白质内切酶之一。本试验结果显示,阳性猪、阴性猪的胰腺胰蛋白酶活性显著高于各段小肠($P < 0.05$),这与理论相符。阴性猪空肠胰蛋白酶活性最高,其次为回肠,十二指肠最小,而且空肠、回肠胰蛋白酶活性显著高于十二指肠($P < 0.05$),这与张英杰等^[48]的研究

相似。阳性猪的胰及各段小肠胰蛋白酶活性都低于阴性猪,其中,胰和十二指肠差异不显著($P > 0.05$),空肠和回肠差异显著($P < 0.05$),胰蛋白酶活性降低影响了小肠对蛋白质的消化与吸收,这可能是导致患猪消瘦的主要原因。

2.3 脂肪酶活性的变化

脂肪酶活性的变化见表 3。阳性猪胰、十二指肠、空肠、回肠的脂肪酶活性均同比阴性猪的有所下降,但均差异不显著($P > 0.05$)。

表 3 阳性猪与阴性猪脂肪酶活性

	胰 Pancreas	十二指肠 Duodenum	空肠 Jejunum	回肠 Ileum
阳性猪 Positive	1 107.82±302.23 ^{aA}	961.63±163.00 ^{aA}	857.69±135.64 ^{aA}	829.46±117.76 ^{aA}
阴性猪 Negative	1 279.85±329.19 ^{aA}	1 003.04±96.88 ^{aA}	939.02±63.70 ^{aA}	984.57±93.32 ^{aA}

表 4 阳性猪与阴性猪碱性磷酸酶活性

	胰 Pancreas	十二指肠 Duodenum	空肠 Jejunum	回肠 Ileum
阳性猪 Positive	2.95±0.97 ^{aA}	280.62±15.41 ^{aB}	658.94±165.96 ^{aC}	695.94±41.97 ^{aC}
阴性猪 Negative	4.17±2.12 ^{aA}	380.72±99.73 ^{aB}	936.96±79.73 ^{aC}	1 014.12±48.00 ^{bC}

脂肪酶是一类特殊的酯解水解酶,能催化天然底物油脂(甘油三酯)水解,产生脂肪酸和甘油,在水解过程中存在中间产物甘油单酯和甘油二酯。从催化特性看,脂肪酶可催化酯类化合物分解、合成和酯交换。脂肪酶最适 pH 为 7.5-8.5。本实验结果显示,阴性猪胰脂肪酶活性最高。阳性猪胰和十二指肠、空肠、回肠脂肪酶的活性虽然均同比阴性猪下降,但都差异不显著($P > 0.05$),因此引起增生性肠炎猪消瘦的主要原因可能也不是肠道对脂类物

质吸收的降低。

2.4 碱性磷酸酶活性的变化

碱性磷酸酶活性的变化见见表 4。阳性猪胰、十二指肠、空肠、回肠的碱性磷酸酶活性均同比阴性猪的有所下降,其中,阳性猪胰、十二指肠、空肠的碱性磷酸酶活性同比阴性猪差异不显著($P > 0.05$),而回肠碱性磷酸酶的活性显著比阴性猪下降($P < 0.05$)。

碱性磷酸酶广泛存在于动物体内,在骨骼肌、

肝脏、肠黏膜含量较高,小肠绒毛上皮中吸收细胞表面的纹状缘就富含碱性磷酸酶^[9],血清中的碱性磷酸酶即来源于上述组织。小肠碱性磷酸酶可能参与细胞衣糖蛋白的生物合成及分泌过程^[10],并在机体代谢中起着非常重要的作用,主要与脂肪、糖类和蛋白质的吸收与运输密切相关^[11]。碱性磷酸酶活性的高低在一定程度上可以反映动物小肠吸收功能的强弱。本实验结果显示,阳性猪十二指肠、空肠、回肠碱性磷酸酶的活性都同比阴性猪下降,其中十二指肠和空肠的同比差异均不显著($P>0.05$),回肠的同比差异显著($P<0.05$),肠黏膜碱性磷酸酶活性的降低表明小肠对营养物质吸收功能的降低。因此增生性肠炎猪小肠吸收功能的下降,除了与小肠黏膜脱落有关外,可能还与小肠碱性磷酸酶活性的降低有关。

3 结论

目前,对猪增生性肠炎的研究主要用自然病例作为研究对象。本研究选择自然发病的增生性肠炎猪(40~60日龄),经PCR等实验技术检测,没有猪瘟、圆环病毒病、呼吸繁殖综合征等其它疾病干扰的为研究对象。

本研究显示:增生性肠炎阳性猪胰腺及小肠各种酶的活性都普遍同比低于阴性猪,但大部分都差异不显著($P>0.05$),只有回肠的碱性磷酸酶及空肠、回肠的胰蛋白酶活性显著低于同比的阴性猪($P<0.05$),其原因有待于进一步研究。

空肠、回肠的胰蛋白酶活性的降低影响了对蛋白质的消化,碱性磷酸酶活性的降低影响了小肠对蛋白质的吸收。因此,小肠对蛋白质的消化吸收功能下降是引起增生性肠炎猪消瘦的主要原因之一。

由于猪增生性肠炎对患猪的消化系统造成了永久性伤害,用药物治疗很缓慢。为减少经济损失,在药物治疗的同时,可在饲料中辅以添加适量的外

源酶,将有助于改善患猪的消化功能。

参考文献:

- [1] Yamaguchi T, Iwata K, Kobayashi M, et al. Epitope mapping of capsid protein VP2 and VP3 of infectious bursal disease virus[J]. Arch Virol, 1996, 141: 1493-1507.
- [2] Heine H G, Boyle D B. Infectious bursal disease virus structural protein VP2 expressed by a fowl pox virus recombinant confers protection against disease in chickens[J]. Arch Virol, 1993, 131: 277-292.
- [3] Dormitorio T V, Giambrone J J, Duck L W. Sequence comparison of the variable VP2 region of eight infectious bursal disease virus isolates[J]. Avian Dis, 1997, 41: 36-44.
- [4] Rowland A C, Lawson G H, Roberts L. Intestinal adenomatosis in the pig: Histochemical and electron microscopic studies of the mucosa[J]. Res Vet Sci, 1978, 24(2): 191-199.
- [5] Hibbard B, Peters J P, Shen R Y W, et al. Effect of recombinant porcine somatotropin and dietary protein on pancreatic digestive enzyme in the pig [J]. Journal of Animal Science, 1992, 70: 2188-2194.
- [6] Kreikemier K K, Harmon D L. Influence of dietary forage and feed intake on carbohydrase activities and small intestinal morphology of calves [J]. Journal of Animal Science, 1990, 68: 2916-2929.
- [7] Wang X B, Ogawa T, Suda S, et al. Effects of nutritional level on digestive enzyme activities in the pancreas and intestine of calves slaughtered at same body weight [J]. Asian-Australasian Journal of Animal Science, 1998, 11(4): 375-380.
- [8] 张英杰, 刘月琴, 孙洪新, 等. 羔羊小肠pH及主要消化酶发育规律的研究[J]. 畜牧兽医学报, 2005, 36(2): 149-152.
- [9] 余成瑶, 何明清, 郑德成. 肉用仔鸡饲喂鸡微生物饲料添加剂 8901 细胞碱性磷酸酶 AKP 定性、定位研究[J]. 四川农业大学学报, 1994, 12(增刊): 596-601.
- [10] 高金岗, 王士平, 刑绥光. 小白鼠十二指肠发育分化的组织学和组织化学观察[J]. 解剖学报, 1995, 26(4): 425-428.
- [11] Toofanian F, Targowski S P. Fetal development and distribution of intestinal alkaline phosphatase in rabbit[J]. Research in Veterinary Science, 1982, 32: 303~305.