

## 早期断奶对仔猪肠上皮细胞氧化与损伤的影响

杨家军, 张敏红\*, 冯京海

(中国农业科学院北京畜牧兽医研究所国家重点实验室, 北京 100193)

**摘要:** 为了研究早期断奶对仔猪肠上皮细胞氧化与损伤的影响, 将 80 头 21 日龄健康哺乳仔猪随机分成 2 组, 吮乳组与断奶组, 分别于断奶 0、1、3、5、7、10 和 14 d 采样检测各组仔猪肠上皮细胞中氧化、损伤、修复相关指标。结果显示, 与吮乳组相比, 断奶组肠上皮细胞中抗氧化酶活性显著降低、过氧化产物丙二醛 (MDA) 含量明显升高, 二胺氧化酶含量先降低后升高、肠上皮细胞损伤明显, 表皮生长因子及其受体的 mRNA 表达量迅速降低, 并显著低于吮乳组, 氧化还原因子的 mRNA 表达显著降低。综合本试验指标所得数据结果表明, 断奶后 1~3 d 急剧变化, 5~7 d 达到峰顶或峰谷, 而后开始恢复, 10~14 d 恢复到正常水平。这说明早期断奶对仔猪肠上皮的影响持续时间较长, 可引起仔猪肠上皮细胞严重的过氧化, 损伤严重, 自然修复较缓慢。

**关键词:** 早期断奶; 肠上皮细胞; 氧化与损伤; 仔猪

中图分类号: S828

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2013)01-0077-06

## Effects of early-weaning on intestinal antioxidation and impairment in the piglet

YANG Jia-jun, ZHANG Min-hong, FENG Jing-hai

(National Key Lab, Institute of Animal Sciences and Veterinary Medicine, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193)

**Abstract:** The purpose of this research was to evaluate the effects of early weaning on intestinal epithelial cell antioxidation and impairment in piglets. Eighty piglets aged 21 days were randomly allocated into suckling and weaning groups. Piglets were sacrificed in each group on 0, 1, 3, 5, 7, 10 and 14 days after weaning to examine the indexes about oxidation, impairment and recovery. As a result, compared with the suckling group, the activities of antioxidational enzymes increased significantly in intestinal epithelial cells in the weaning group. The concentration of MDA was significantly higher in weaning group than that in the control. In addition, the activity of diamineoxidase (DAO) was reduced at first, and then rose ( $P<0.05$ ); the impairment of intestinal epithelial cell was serious; the expression of the *EGF*, *EGFR* and *Ref-1* was declined in some degree and lower in weaning group than that in the control ( $P<0.05$ ). Taken together, all the indexes changed sharply during days 1 to 3 of weaning, reached to the highest or lowest during days 5 to 7 of weaning, and recovered to normal level during days 10 to 14 of weaning. It clarified that early weaning could cause long duration to piglets' intestinal epithelial cells and peroxidation to intestinal epithelial cell. The intestinal epithelial cell was severely impaired, and its recovery was very slow.

**Key words:** early-weaning; intestinal epithelial cell; oxidation and impairment; piglet

仔猪早期断奶是国内外养猪生产中普遍采用的先进技术之一, 但由于仔猪本身的发育特点及环境、营养及心理等综合因素的影响, 使仔猪遭受强烈应激而发生“仔猪早期断奶综合征”<sup>[1]</sup>。肠道是机体最主要消化吸收部位, 是机体最大免疫组织, 也是早期断奶中最早最直接发生损伤的部位之一<sup>[2]</sup>。所

以肠组织是防治早期断奶应激的重点和着手点。许多研究表明早期断奶可使仔猪肠绒毛高度减少/绒毛萎缩、隐窝深度增加/隐窝增生<sup>[3]</sup>, 消化酶活性降低、消化吸收面积减少和吸收能力下降<sup>[4]</sup>。还有试验研究表明早期断奶可产生氧化应激。张军民研究<sup>[5]</sup>指出, 早期断奶可使仔猪肝和脾中 SOD 活性降

收稿日期: 2012-06-19

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费 (2011js-1) 和公益性行业 (农业) 科研专项 (200903036-02) 共同资助。

作者简介: 杨家军, 男, 博士研究生。E-mail: yjj1984112@163.com

\* 通信作者: 张敏红, 男, 研究员, 博士生导师。E-mail: zhangminhong2011@163.com

低, 肠、肝、脾 GPX 降低。吕美等<sup>[6]</sup>、韩雪<sup>[7]</sup>研究表明, 断奶可使仔猪血清中 SOD、GPX 活性降低, MDA 含量增加。以往研究取材血清、肝脾、肠道或刮取肠粘膜, 反映仔猪机体、肠道或肠粘膜变化情况, 至今未见肠上皮细胞的氧化应激状态及损伤状况。本试验取材 21 日龄断奶仔猪 0、1、3、5、7、10 和 14 d 肠上皮细胞, 检测抗氧化酶活性及过氧化产物 MDA 含量, DAO 活性变化和 *EGF/EGFR* 及 *Ref-1* 的 mRNA 表达量变化趋势, 来研究早期断奶对仔猪肠上皮细胞氧化与损伤情况。通过对早期断奶仔猪肠上皮细胞内氧化、损伤、修复指标的检测, 更深入地研究了早期断奶仔猪肠上皮细胞的氧化状态及损伤情况, 并初步探讨了肠上皮细胞氧化与损伤的关联。

## 1 材料与方 法

### 1.1 动物及分 组

选取 21 日龄断奶、体重相近 (平均  $6.25 \pm 0.37$  kg) 的健康仔猪 80 头, 随机分成 2 组, 断奶组与吮乳组, 每组 4 个重复, 每个重复 10 头仔猪。分别于断奶 0、1、3、5、7、10 和 14 d 采集样品, 每次每组每个重复随机宰杀 1 头仔猪。

### 1.2 样品采 集

空肠中部取约 5 cm 肠段, 在冰冷生理盐水中漂洗净内容物后, 刮取肠粘膜, 放入 3 mL EP 管中, 放入液氮备用; 取空肠中部约 80 cm 肠段, 翻转使粘膜面向外, 用冰冷的 D-Hanks (含 DTT) 冲洗净内容物, 剪成 5 cm 左右小段, 放入盛有 DMEM 培养基(85%)、犊牛血清(5%)和细胞冷冻保存液(10%)的 EP 管中。将 EP 管放入 4℃ 冰箱中 30 min, 放入 -20℃ 冰箱中 1 h, 后转入液氮或 -80℃ 冰箱中保存备用。

### 1.3 肠上皮细胞的制备

参考剪切力作用分离肠上皮细胞的方法<sup>[8]</sup>, 将装有空肠的 EP 管, 放入 38℃ 水浴锅中快速溶解复苏, 后将空肠浸于冰浴 1×螯合剂中, 振荡洗涤 1

min, 吸掉洗脱物, 将肠段置于盛有 30 mL 螯合剂的 50 mL 离心管中, 将其在冰浴环境下  $100 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  振摇 45 min; 后取出肠段, 将离心管放于冰上静置 10 min, 待肠上皮细胞团沉淀到管底后吸弃上清, 用 10 mL 冰冷 PBS 重悬,  $300 \times g$  4℃ 离心 3 min, 收集细胞团, 并用冰冷 PBS 洗涤 2 次后冻存于液氮或 -80℃ 低温冰箱备用。

### 1.4 肠上皮细胞中 CAT、SOD、GPX、DAO 活性及 MDA 含量

超声波法破碎肠上皮细胞团, 取上清液, 检测过氧化氢酶 (CAT)、超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GPX) 及二胺氧化酶 (DAO) 活性, 过氧化产物丙二醛 (MDA) 含量。检测试剂盒均购自南京建成生物研究所, 按试剂盒说明书上检测步骤操作。

### 1.5 肠粘膜及肠上皮细胞中总 RNA 的提取

用于提取 RNA 的器材先用 0.1% 的焦磷酸二乙酯浸泡后烘干, 按文献报道<sup>[9]</sup>的常规方法进行 RNA 提取与纯化。将获得的 RNA 用灭菌的超纯水溶解。

### 1.6 肠粘膜中 *EGF* 及肠上皮细胞中 *EGFR* 及 *Ref-1* 的 mRNA 表达量

先将获得的 RNA 检测浓度和  $A_{260/280}$ , 后将其稀释成  $1\ 000 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。将 mRNA 反表达成 cDNA 后, 用 ABI PRISM 7500 反表达仪器合成 DNA。反应体系为 20  $\mu\text{L}$ , 分别为 10  $\mu\text{L}$  2×SYBR Green I PCR Master Mix, 上下游引物 (见表 1) 各 0.5  $\mu\text{L}$ , 1  $\mu\text{L}$  cDNA, 0.4  $\mu\text{L}$  ROX Reference Dye II 和 7.6  $\mu\text{L}$  ddH<sub>2</sub>O。95℃ 5 min 反应循环为 40 个, 分别为 95℃ 15 s, 62℃ 15 s 和 72℃ 30 s。

### 1.7 数据统 计

数据采用 SPSS 13.0 中的 ANOVA 过程进行分析, 用 Duncan 方法对同组间不同时间点进行多重比较, 并用独立样本 *t*-检验 (Independent-sample *t*-test) 对断奶组和吮乳组之间进行显著性检验。所得数据均用“平均值±标准误”表示, 以  $P < 0.05$  (差异显著) 作为判断标准。

表 1 表皮生长因子、表皮生长因子受体、氧化还原因子及  $\beta$ -actin 的引物

Table 1 The primers of EGF, EGFR, Ref-1 and  $\beta$ -actin

名称 Name	上游引物 Upstream primer	下游引物 Downstream primer
<i>EGF</i>	CTCTCAGCCACGAGGAAT	GGCATCGCACCAATACAA
<i>EGFR</i>	TGTGTCCTTGAAGTTGCAG	GTGAGCTTCTTCCTCGTTGG
<i>REF-1</i>	TAAACTTCTTACGCCCAAAC	GGCATTTCAAAGGAAGTCA
$\beta$ -actin	CGTCCACCGCAAATGCTTC	AACCGACTGCTGTCACCTTAC

## 2 结果与分析

### 2.1 早期断奶对仔猪肠上皮细胞氧化指标的影响

早期断奶对仔猪肠上皮细胞抗氧化酶活性的影响情况见表 1。可以看出, 断奶组过氧化氢酶 (CAT) 活性变化为: 第 1 天迅速升高, 显著高于断奶前 (第 0 天); 后急剧下降, 第 3 天显著低于断奶前 ( $P<0.05$ ), 而后维持在较低水平, 显著性一直持续到第 7 天; 第 10 天恢复到断奶前水平。吮乳组肠上皮细胞中 CAT 第 1 天显著下降, 与第 0 天差异显著 ( $P<0.05$ ); 1~7 d, 比较稳定, 各时间点之间无显著性差异; 第 10 天显著高于第 7 天 ( $P<0.05$ ), 与断奶前无差异。断奶组与吮乳组比较, 第 1 天断奶组显著高于吮乳组 ( $P<0.05$ ); 第 3~7 天, 断奶组显著低于吮乳组 ( $P<0.05$ )。断奶组超氧化物歧化酶 (SOD) 变化情况与 CAT 大体一致。而断奶组谷胱甘肽过氧化物酶 (GPX) 变化情况为: 断奶后第 1 天显著低于断奶前 (第 0 天) ( $P<0.05$ ); 下降趋势一直到第 5

天, 数值到最低点; 此后开始回升, 第 7 天仍显著低于断奶前 ( $P<0.05$ ), 至第 10 天恢复到断奶前水平。吮乳组中 GPX 活性 0~3 d 无变化, 第 5 天突然升高, 显著高于第 0 天 ( $P<0.05$ ), 而后维持在较高水平。断奶组与吮乳组比较, 第 1 天断奶组显著低于吮乳组 ( $P<0.05$ ), 显著性一直持续到第 7 天。

肠上皮细胞过氧化产物丙二醛 (MDA) 含量变化情况见图 1。从图 1 可以看出, 断奶组断奶后第 1 天, MDA 含量比第 0 天增加 36.05%, 差异显著 ( $P<0.05$ ); 增多趋势一直持续到第 7 天; 第 10 天开始回落, 比第 7 天下降了 22.76%, 但仍显著高于断奶前 ( $P<0.05$ ), 显著差异持续到第 14 天。吮乳组肠上皮细胞中 MDA 含量总体缓慢升高, 至第 7 天显著高于第 0 天 ( $P<0.05$ ); 而后开始回落, 10~14 d 较稳定, 14 d 显著高于第 0 天 ( $P<0.05$ )。断奶组与吮乳组比较, 第 1 天断奶组显著高于吮乳组 ( $P<0.05$ ), 差异显著性一直持续到第 7 天。

表 2 早期断奶对仔猪肠上皮细胞抗氧化酶活性的影响

Table 2 The effects of early-weaning to piglets on activity of antioxidational enzyme in intestinal epithelial cell

时间/d Time	CAT/U·mg <sup>-1</sup>		SOD/IU·mL <sup>-1</sup>		GPX/IU·mL <sup>-1</sup>	
	断奶 Weaning	吮乳 Suckling	断奶 Weaning	吮乳 Suckling	断奶 Weaning	吮乳 Suckling
0	33.12±1.27 <sup>b</sup>	32.59±1.23 <sup>a</sup>	234.41±6.65 <sup>a</sup>	242.97±6.46 <sup>b</sup>	52.86±1.52 <sup>b</sup>	54.46±3.00 <sup>c</sup>
1	41.17±1.57 <sup>a,x</sup>	28.52±1.41 <sup>bc,y</sup>	243.49±6.37 <sup>a</sup>	239.90±4.43 <sup>b</sup>	40.47±1.09 <sup>cd,y</sup>	57.40±2.92 <sup>bc,x</sup>
3	18.65±1.19 <sup>c,y</sup>	25.13±1.34 <sup>cd,x</sup>	147.11±5.50 <sup>cd,y</sup>	219.43±4.88 <sup>c,x</sup>	34.16±2.22 <sup>d,y</sup>	53.68±2.64 <sup>c,x</sup>
5	19.30±1.20 <sup>c,y</sup>	27.13±0.42 <sup>cd,x</sup>	139.59±1.67 <sup>d,y</sup>	242.26±6.47 <sup>b,x</sup>	25.87±2.09 <sup>e,y</sup>	66.93±2.36 <sup>a,x</sup>
7	20.86±1.37 <sup>c,y</sup>	24.63±1.28 <sup>d,x</sup>	157.03±3.35 <sup>c,y</sup>	237.84±4.65 <sup>b,x</sup>	42.51±2.71 <sup>c,y</sup>	54.08±3.03 <sup>c,x</sup>
10	31.90±1.31 <sup>b</sup>	31.81±1.21 <sup>ab</sup>	179.39±3.24 <sup>b,y</sup>	242.00±6.57 <sup>b,x</sup>	64.78±2.69 <sup>a</sup>	63.98±2.30 <sup>ab</sup>
14	30.28±1.13 <sup>b</sup>	28.46±0.99 <sup>bc</sup>	249.19±5.76 <sup>a</sup>	258.88±6.44 <sup>a</sup>	64.66±2.79 <sup>a</sup>	62.24±1.89 <sup>ab</sup>

注: 同一指标的同列肩标有不同小写字母 (a、b、c 等) 表示差异显著 ( $P<0.05$ ), 标有相同字母, 差异不显著; 同一指标同行肩标有小写字母 (x、y) 表示差异显著。

Note: Means in the same column of the same indexes marked with different letters (a b c, etc) represent significant differences ( $P<0.05$ ), which with the same letters are no significant differences. Means in the same row of the same indexes marked with different letters (x, y) represent significant difference.

### 2.2 早期断奶对仔猪肠上皮细胞损伤与修复的影响

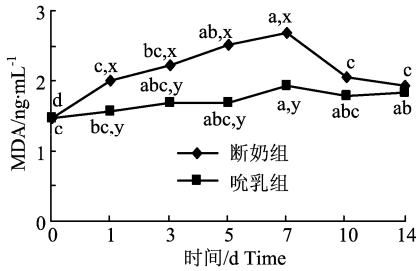
**2.2.1 早期断奶对仔猪肠上皮细胞中 DAO 活性的影响** 断奶组肠上皮细胞 DAO 活性变化情况见图 2。与断奶前相比, 第 1 天变化不显著, 后降低, 第 5 天比断奶前低 43.08%, 差异不显著 ( $P>0.05$ ), 5~7 d 都维持在较低水平, 后开始升高, 10 d 仍比断奶前低 18.46%, 差异不显著; 第 14 天恢复到断奶前水平, 显著高于第 10 天 ( $P<0.05$ )。吮乳组肠上皮细胞 DAO 活性各时间点间差异不显著。断奶组与对照组相比, 第 7 天, 断奶组比吮乳组低 34.48%, 无显著性差异 ( $P>0.05$ ); 第 14 天断奶组比吮乳组

高 50.91%, 但差异不显著 ( $P>0.05$ )。

**2.2.2 早期断奶对仔猪肠粘膜中 EGF 及肠上皮细胞中 EGFR 和 Ref-1 的 mRNA 相对表达量的影响** 由图 3 可以看出, 断奶后仔猪肠粘膜中 EGF mRNA 表达量急剧降低, 下降趋势一直持续到第 5 天, 各时间点之间差异显著 ( $P<0.05$ ); 后开始升高, 第 1、5、7 天, 断奶组显著低于吮乳组 ( $P<0.05$ ), 第 10~14 天断奶组肠上皮细胞中 EGF mRNA 高于吮乳组, 但差异不显著。

仔猪肠上皮细胞中 EGFR mRNA 表达量见图 3。断奶后第 1 天急剧下降, 显著低于断奶前 (第 0

天) ( $P < 0.05$ ); 后平缓下降, 至第7天降到最低点; 后开始升高, 第10天与吮乳组无差异。吮乳组仔猪肠上皮细胞中 *EGFR* mRNA 表达量缓慢下降, 第1~7天显著高于断奶组, 其余时间无显著差异。



同组标有不同小写字母(a、b、c等)表示差异显著( $P < 0.05$ ), 标有相同字母, 差异不显著。两组间标有小写字母(x、y)表示差异显著。下同

Means in the same group marked with different letters (a b c, etc) represent significant differences ( $P < 0.05$ ), which with the same letters are no significant differences. Means in the different group marked with different letters (x, y) represent significant differences. The same below

图1 早期断奶对仔猪肠上皮细胞过氧化产物MDA含量的影响

Figure 1 Effects of early-weaning on concentrations of MDA in intestinal epithelium cells in piglets

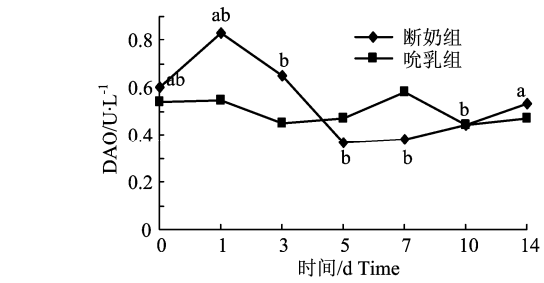
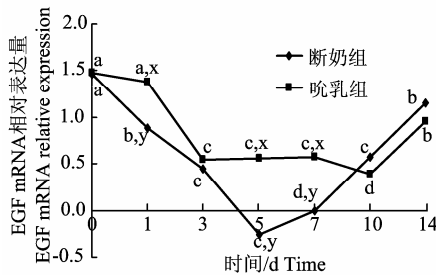


图2 早期断奶对肠上皮细胞中DAO活性的影响  
Figure 2 Effects of early-weaning on the activities of DAO in intestinal epithelium cells in piglets

早期断奶对仔猪肠上皮细胞中氧化还原因子的mRNA相对表达量的影响如图4所示。可以看出, 断奶后第1天, 肠上皮细胞中 *Ref-1* 的mRNA表达量急剧下降, 显著低于断奶前 ( $P < 0.05$ ); 第3~7天, 下降缓慢, 第7天降至最低点, 而后迅速升高, 第10天显著高于第7天和断奶前 ( $P < 0.05$ ); 第14天, 恢复到正常水平。断奶组和吮乳组比较, 第3~7天, 断奶组显著低于吮乳组, 第10天, 显著高于吮乳组 ( $P < 0.05$ )。

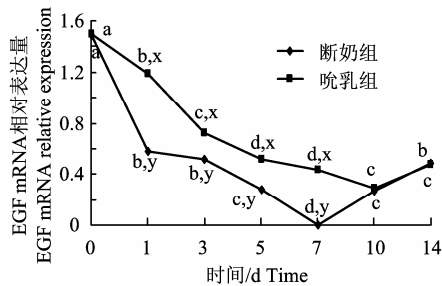


图3 早期断奶对肠粘膜中EGF及肠上皮细胞中EGFR的mRNA相对表达量的影响

Figure 3 Effects of early-weaning on mRNA levels of EGF in intestinal mucosa and EGFR in intestinal epithelial cells in piglets

### 3 讨论

仔猪早期断奶, 生理、心理及环境上都受到应激, 加上饲料的更换及自身未发育成熟等综合因素而产生严重损伤, 肠道是其中主要损伤部位之一。肠道由肠粘膜、粘膜下层、肌层和浆膜层组成, 粘膜层又由肠上皮、固有层、粘膜肌层组成。肠上皮细胞是实现肠道消化、免疫、吸收、内分泌等功能的主要组织细胞, 也是构筑肠道粘膜屏障的主要成分。前人研究断奶应激对仔猪肠道影响, 多集中在肠道的免疫、内容物 pH 值、消化酶活性及肠道形态学等变化情况, 主要取材血清、肠道、肠道内容物或刮取肠粘膜。本试验取材肠上皮细胞, 进一步

深入探讨了早期断奶对仔猪肠上皮细胞的氧化、损伤修复及其相互关系, 并初步研究了氧化与损伤修复的规律及机理。

机体主要抗氧化酶(SOD, GPX, CAT等)可清除多余的自由基, 保护机体组织、细胞, 防止自由基的损伤, 酶活力高低反映机体抗氧化水平<sup>[10-11]</sup>。由早期断奶对仔猪肠上皮细胞主要抗氧化酶(CAT、SOD、GPX)活性影响的试验结果可知, 断奶后仔猪肠上皮细胞中抗氧化酶活性都有不同程度的下降, 肠上皮细胞中CAT和SOD活性都维持在较低水平; CAT活性第10天才恢复到断奶前水平, 而SOD活性第14天才恢复到断奶前水平。GPX活性断奶第1~7天仍显著低于断奶前, 第10天已显

显著高于断奶前, 第 10~14 天都维持在较高水平。

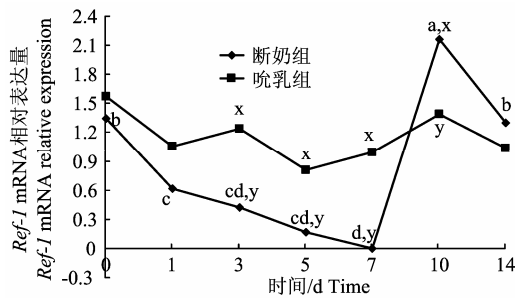


图 4 早期断奶对仔猪肠上皮细胞中 *Ref-1* mRNA 相对表达量的影响

Figure 4 Effect of early weaning on the mRNA and relative expression of *Ref-1* in intestinal epithelial cells of piglets

丙二醛(MDA)是生物体内脂质过氧化产物, 其含量是反应氧化损伤的指标之一。吕美<sup>[6]</sup>等研究表明, 早期断奶可以使仔猪血清 GPX 活性下降、MDA 含量升高。本试验结果显示, 断奶后仔猪肠上皮细胞中脂质过氧化产物 MDA 含量增多。随着仔猪自身抗氧化能力提升、免疫系统发育及仔猪对周边环境的适应, 肠上皮细胞中抗氧化酶活性升高, 过氧化产物 MDA 含量降低, 氧化/抗氧化平衡逐渐得到修复。断奶后 10 d, 基本恢复到正常水平。本试验中肠上皮细胞内氧化指标变化情况与吕美等研究的血清结果有相似性。

二胺氧化酶(DAO) 主要存在于多数哺乳动物肠粘膜上皮层绒毛细胞中, 是组胺等多胺物质的代谢酶, 是具有高度活性的细胞内酶。DAO 活性能可靠反映肠上皮细胞的成熟度及完整性, 其变化可反映肠道屏障的功能状态, 是反映小肠上皮细胞结构和功能的理想指标<sup>[12]</sup>。周莎等<sup>[13]</sup>研究表明, 幼鼠结肠炎模型中, 血浆 DAO 活性与肠上皮细胞受损情况呈正相关。Luk 等研究<sup>[14]</sup>得出, 多种损伤都会导致肠道上皮细胞中 DAO 活性下降, 血浆中含量和肠组织中含量呈负相关。从本试验结果看, 早期断奶后, 肠上皮细胞内 DAO 活性先升高后下降。因此推断早期断奶可损伤肠上皮细胞完整性、造成肠上皮屏障功能障碍, 损伤肠道且修复较缓慢。此结论与组织切片有一致性。

氧化损伤造成半胱氨酸巯基发生二硫键交联、S-硝基化、谷胱甘肽化, 氧化还原因子-1 (Redox factor-1, Ref-1) 通过还原半胱氨酸残基恢复氧化损伤蛋白的功能活性<sup>[15]</sup>。Ref-1 的表达是氧化应激的分子标志。Lewen 等<sup>[16]</sup>发现小鼠外伤性脑损伤时

*Ref-1* 表达下降; Vasko 等<sup>[17]</sup>在神经元氧化损伤的试验中同样发现 *Ref-1* 蛋白表达降低的现象。本试验结果显示: 肠上皮细胞内 *Ref-1* 的 mRNA 表达下降, *Ref-1* 恢复氧化损伤蛋白的能力降低, 可能是仔猪肠上皮细胞氧化损伤主要原因之一。还有研究发现<sup>[18]</sup> 细胞的凋亡过程也是 *Ref-1* 表达减少的过程, 因此推测肠上皮细胞凋亡反过来也会减少 *Ref-1* 的 mRNA 表达下降, 加重肠上皮细胞损伤。

表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF) 是中、外胚层细胞分泌的一种有丝分裂原, 具有强有力的促细胞分裂、分化、增殖的作用, 通过与表皮生长因子受体 (EGFR) 相互作用而发挥生物学活性。许多研究表明, EGF/EGFR 在促进肠道粘膜上皮细胞的增殖和分化, 增加刷状缘消化酶活性, 增强粘膜对养分的利用以及减轻多种因素对胃肠道形态的损害, 维持胃肠道结构和功能的完整等方面, 都有良好的作用<sup>[19-21]</sup>。断奶使母源中 EGF 断绝, 仔猪肠粘膜中 EGF 浓度急剧降低, 肠上皮细胞中 EGFR 的 mRNA 表达量下降, 肠上皮细胞增殖分化减慢、凋亡加速, 肠上皮绒毛萎缩、隐窝增生, 产生损伤。反过来, 损伤的肠上皮细胞使肠粘膜中 EGF 的 mRNA 表达量继续降低, 加重了肠上皮细胞损伤。

本研究发现, 肠上皮细胞中 *Ref-1* 的 mRNA 表达减少、抗氧化酶活性降低、过氧化产物 MDA 含量增多, 早期断奶使肠上皮细胞产生过氧化; 由肠上皮细胞中 DAO 活性变化可看出, 早期断奶可造成肠上皮屏障功能障碍、损伤严重; 早期断奶使肠粘膜 EGF 及肠上皮细胞 EGFR 的 mRNA 表达量下降, 损伤肠上皮细胞。综合本试验指标所得数据结果显示: 断奶后 1~3 d 急剧变化, 5~7 d 达到峰顶或峰谷, 而后开始恢复, 10~14 d 基本恢复正常。

#### 4 小结

从本试验研究可得出: 早期断奶可使仔猪肠上皮细胞产生过氧化, 造成肠上皮细胞严重损伤; 肠上皮细胞的过氧化与损伤有一致性; 肠上皮细胞的过氧化与损伤持续 5~7 d, 10~14 d 才恢复到正常水平, 自然修复较缓慢。

#### 参考文献:

- [1] Manashi B D, Mark M B S, Case W B S. The acute and chronic stress-induced oxidative gastrointestinal injury in rats and the protective ability of a novel grape seed proanthocyanidin extract [J]. *Nutri Res*, 2000, 19: 1189-1199.

- [2] Odle J, Zijlstra R T, Donovan S M. Intestinal effects of milk borne growth factors in neonates of agricultural importance [J]. *J Anim Sci*, 1996, 74: 2509-2522.
- [3] Hampson D J. Alteration in piglet small intestinal structure at weaning [J]. *Res Vet Sci*, 1986a, 40: 32-40.
- [4] Miller B G, James P S, Wsmith M, et al. Effect of weaning on the capacity of pig intestinal villi to digest and absorb nutrients [J]. *J Agric Sci Camb*, 1986, 107: 579-589.
- [5] 张军民, 王连递, 高振川, 等. 日粮添加谷氨酸胺对早期断奶仔猪抗氧化能力的影响[J]. *畜牧兽医学报*, 2002, 33(2): 105-109.
- [6] 吕美, 余冰, 郑萍, 等. 氧化应激对断奶仔猪色氨酸分解代谢的影响[R]. 2009年学术年会: 344-347.
- [7] 韩雪. 复合抗氧化剂对动物氧化应激与自由基代谢的影响[D]. 上海: 上海交通大学, 2010.
- [8] 王锋超. 电离辐射与内毒素致小肠上皮细胞损伤机制的试验研究[D]. 重庆: 第三军医大学, 2006.
- [9] Wu X S, Huang K H, Wei C W, et al. Regulation of cellular glutathione peroxidase by different forms and concentrations of selenium in primary cultured bovine hepatocytes [J]. *The Journal of Nutritional and Biochemistry*, 2010, 21 (2): 153-161.
- [10] Halliwell B, Gutteridge J M C. *Free radicals in biology and medicine* [M]. Oxford: Oxford Science Publications, 1999: 105-245.
- [11] Marcincak S, Cabadaj R, Popelka P, et al. Antioxidative effect of oregano supplemented to broilers on oxidative stability of poultry meats [J]. *Slov Vet Res*, 2008, 45(2): 61-66.
- [12] Angkeow P, Deshpande S S, Qi B et al. Redox factor-1: an extra-nuclear role in the regulation of endothelial oxidative stress and apoptosis[J]. *Cell Death Differ*, 2002, 9(7): 717-725.
- [13] 周莎, 许春娣, 陈舜年, 等. 幼鼠结肠炎模型肠黏膜损伤与 DAO 的关系[J]. *中华儿科杂志*, 2006, 44(2): 93-95.
- [14] Luk G D, Bayless T M, Baylin S B. Plasma postheparin diamine oxidase sensitive provocative test for quantitating length of acute intestinal mucosal injury in the rat[J]. *Journal of Clinical Investigation*, 1983, 71(5): 1305-1308.
- [15] Hall J L, Wang X, Adamson V, et al. Over expression of Ref-1 inhibits hypoxia and tumor necrosis factor-induced endothelial cell apoptosis through nuclear factor-kappab-independent and-dependent pathways [J]. *Circ Res*, 2001, 88(12): 1247-1253.
- [16] Lewen A, Sugawara T, Gasche Y, et al. Oxidative cellular damage and the reduction of APE/Ref-1 expression after experimental traumatic brain injury [J]. *NeurobiolDis*, 2001, 8(3): 380-390.
- [17] Vasko M R, Guo C, Kelley M R. The multifunctional DNA repair/redox enzyme Ape1 /Ref-1 promotes survival of neurons after oxidative stress [J]. *DNA Repair (Amst)*, 2005, 4(3): 367-379.
- [18] Loguercio C, Federieo A. Oxidative stress in viral and alcoholic hepatitis[J]. *Free Radic Biol Med*, 2003, 34: 1-10.
- [19] Rabih S and Bruse R. Regulation of small intestinal glutamine transport by epidemical growth factor [J]. *Surgery*, 1993, 113(5): 552-559.
- [20] Bird A R, Croom J W J, Fan Y K. Jejunal glucose absorption is enhanced by epidemical growth factor in mice [J]. *J Nutr*, 1994, 124(2): 231-240.
- [21] Bardin J A B, Chung E V, O'Loughlin E V, et al. The effect of epidemical growth factor on brush border surface area and function in the distal remnant following resection in the rabbit [J]. *Gut*, 1999, 24: 26-32.