

黄芪多糖对泌乳期奶牛抗氧化能力的影响

申义君, 周金伟, 王 斌, 李计尚, 沈留红, 余树民, 曹随忠*

四川农业大学动物医学院, 雅安 625014

摘要: 本实验旨在研究黄芪多糖对泌乳期荷斯坦奶牛抗氧化能力的影响。试验选取年龄、胎次和体重接近的泌乳期荷斯坦奶牛 35 头, 随机分为 5 组 (每组 7 头), 各组每天分别在精料中添加 0、5、10、50、100 g 黄芪多糖, 连续饲喂 14 d。分别在第 0、14 和 24 d 采血测定血清总抗氧化能力 (total antioxidant capacity, T-AOC)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活性、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px) 活性及丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 含量。结果显示: 在日粮中添加适量的黄芪多糖显著提高 ($P < 0.05$) 泌乳期奶牛血清总抗氧化能力 (T-AOC)、超氧化物歧化酶 (SOD) 活性和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活性, 同时显著降低 ($P < 0.05$) 血清中丙二醛 (MDA) 的含量。结果表明, 日粮中添加黄芪多糖有提高泌乳期奶牛抗氧化能力的作用, 适宜添加剂量在 10 g ~ 50 g/头 · d。

关键词: 黄芪多糖; 奶牛; 泌乳期; 抗氧化

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

Effects of Astragalus Polysaccharides on the Activity of Antioxidant Enzyme in Lactating Holstein Cows

SHEN Yi-jun, ZHOU Jin-wei, WANG Bin, LI Ji-shang, SHEN Liu-hong, YU Shu-min, CAO Sui-zhong*

College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China

Abstract: The aim of this study was to analysis the effect of Astragalus polysaccharides (APS) on antioxidant capacity of lactating Holstein cows. In trial, 35 lactational Holstein cows were randomly divided into 5 group (7 per group) with similar age, calving number, and weight. 0, 5, 10, 50 and 100 g of APS were added to each group in-order with concentrated feed every day and lasting for 14 days. The total antioxidant capacity (T-AOC), activity of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px), and the content of malondialdehyde (MDA) in serum were determined at 0 day, 14th day and 24th day after feeding APS, respectively. The results showed that T-AOC, activity of SOD and GSH-Px were significantly improved ($P < 0.05$), and the content of MDA was significantly decreased ($P < 0.05$) under the influence of the appropriate APS. The results indicated that addition of APS in daily ration can improve the antioxidant capacity of lactational cows and the suitable amount of APS is 10 g to 50 g per day for each cow.

Key words: astragalus polysaccharides; holstein cows; lactational period; antioxidant capacity

奶牛围产期和泌乳期机体代谢旺盛, 易出现代谢紊乱、脂质过氧化作用增强、自由基产生增多、机体清除自由基的能力减弱, 很容易引起体内自由基的蓄积, 而蓄积在体内的自由基致使脂质过氧化、蛋白质和核酸损伤, 促进易感牛各种疾病的发生与发展, 例如免疫力下降、乳房炎、子宫炎^[1,2]。增强动物机体的抗氧化能力, 从而提高机体清除自由基的能力, 在一定程度上可提高机体的免疫应答能力和

抗病能力。

黄芪多糖 (*Astragalus polysaccharides*, APS) 是一种水溶性复合植物多糖, 具有生物活性的多糖由阿拉伯糖、木糖、甘露糖、鼠李糖、半乳糖和葡萄糖六种单糖组成, 是黄芪的主要活性成分之一。现代药理研究证明 APS 具有调节机体免疫、抗应激、抗氧化、降血糖、抗病毒、抗衰老等多种作用^[3,4]。关于 APS 是否能提高泌乳期奶牛抗氧化能力和有效防止机体脂质过氧化, 目前还鲜见报道。本实验通过对泌乳奶牛日粮中添加不同剂量的 APS 探讨 APS 对奶牛抗氧化能力的影响, 以期天然抗氧化剂的开发和应用提供科学依据。

收稿日期: 2013-08-12 接受日期: 2013-12-12

基金项目: 教育部“长江学者和创新团队发展计划”创新团队项目 (IRT0848); 四川省科技支撑计划项目 (2011NZ0060)

* 通讯作者 Tel: 86-835-2885312; E-mail: suizhongcao@126.com

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 试验 药物

APS 购自爱迪森(北京)生物科技有限公司(批号:1208061;纯度:每 1 g 含黄芪多糖以葡萄糖计为 571 mg,每 1 g 黄芪多糖粉相当于原生药 7 g),为黄色精细粉末。

1.1.2 试验 动物

年龄、胎次和体重相近的健康荷斯坦奶牛 35 头,由四川农业大学奶牛养殖基地提供。

1.1.3 仪器 与试剂

超纯水仪(型号 MILLPAK20,美国),Varioskan Flash 全波长多功能酶标仪(美国)。总抗氧化能力(T-AOC)试剂盒、超氧化物歧化酶(T-SOD)试剂盒、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)试剂盒和丙二醛(MDA)试剂盒(均购自南京建成生物工程研究所)。

1.2 方 法

1.2.1 动物 分组与处理

将 35 头年龄、胎次和体重接近的泌乳期荷斯坦奶牛随机分为 5 组(每组 7 头),分别为空白对照组、试验 1 组(5 g/头·d)、试验 2 组(10 g/头·d)、试验 3 组(50 g/头·d)和试验 4 组(100 g/头·d)。在常规饲养的基础上,4 个试验组分别将 5、10、50、100 g 剂量的 APS 粉拌入精料饲喂,每天 1 次,连续给药 14 d;空白对照组按照同样方法饲喂精料。

1.2.2 饲养 管理

各组试验奶牛的饲养管理条件相同,在开放式固定槽位栓系饲养,统一定时定量饲喂,自由饮水。

1.2.3 血样 采集

分别于给药第 0、14 和 24 d 的上午 9:00~10:00 对所有试验奶牛进行尾根静脉采血,分离血清,-20℃保存待检。

1.2.4 指标 检测及方法

采用 Varioskan Flash 全波长多功能酶标仪(美国)以比色法测定奶牛血清中 GSH-PX 活性、SOD 活性、MDA 含量以及 T-AOC。具体检测方法和步骤参照南京建成生物工程研究所提供的试剂盒说明书进行。

1.3 数据 统计

试验数据以 SPSS19.0 软件应用 one-way ANOVA 选择 LSD 法进行统计处理,结果用均值±标准差($\bar{X} \pm SD$)表示,以 $P < 0.05$ 作为差异显著性判断

标准。

2 结果 与分析

2.1 黄芪 多糖对奶牛血清中 T-AOC 能力的影响

各添加 APS 组在喂药结束时(除 5 g 组外)都能不同程度的提高血清中 T-AOC 能力,且在停药后(除 100 g 组外)仍继续提高。在第 14 d 时 100 g 组与空白对照组比较差异显著,其他各组与空白对照组和 100 g 组差异不显著;第 24 d 时 5 g 组、10 g 组、50 g 组与空白对照组差异显著,其中 50 g 组与 5 g 组、10 g 组相比较差异显著。100 g 组各个时间点的总抗氧化能力差异不显著(表 1)。

表 1 黄芪多糖对 T-AOC 能力的影响(U/mL)

Table 1 Effect of APS on T-AOC of Holstein cows(U/mL)

组别 Groups	采血时间 Time of blood collected		
	0 d	14 d	24 d
对照组 Control	6.37 ± 0.52 ^{Aa}	6.36 ± 0.53 ^{Ab}	6.19 ± 0.38 ^{Ac}
5 g 组 5 g Group	6.67 ± 0.22 ^{Ba}	6.54 ± 0.40 ^{Bab}	7.38 ± 0.31 ^{Ab}
10 g 组 10 g Group	6.39 ± 0.25 ^{Ba}	6.55 ± 0.29 ^{Bab}	7.36 ± 1.42 ^{Ab}
50 g 组 50 g Group	6.33 ± 0.30 ^{Ba}	6.61 ± 0.53 ^{Bab}	9.18 ± 0.89 ^{Aa}
100 g 组 100 g Group	6.63 ± 0.52 ^{ABa}	7.11 ± 0.64 ^{Aa}	6.44 ± 0.44 ^{Bbc}

注:大写字母表示组内显著性差异比较,小写字母表示组间显著性差异比较,不同字母表示差异显著($P < 0.05$);表中数据每组样本个数为 7($n = 7$)。下同。

Note: Capital letters indicated significant differences compared within group, Lowercase letters indicated significant differences compared among groups, different letters indicated significant differences ($P < 0.05$); Each result was the mean of 7 samples. Same as below.

2.2 黄芪 多糖对奶牛血清中 SOD 活性的影响

添加 APS 组在喂药结束时(除 10 g 组)均能提高奶牛血清中 SOD 活性,且在停药后(除 100 g 组外)都仍有不同程度的提高。在第 24 d 时 APS 各添加组 SOD 活性都显著高于对照组。10 g 组、50 g 组 SOD 活性在第 24 d 时与第 0 d 时比较差异显著,而且 50 g 组停药后 10 d SOD 的活性较停药时有小幅的增加(表 2)。

表 2 黄芪多糖对奶牛 SOD 活性的影响(U/mL)

Table 2 Effect of APS on activity of SOD of Holstein cows(U/mL)

组别 Groups	采血时间 Time of blood collected		
	0 d	14 d	24 d
对照组 Control	34.58 ± 2.78 ^{Aa}	34.73 ± 1.54 ^{Ac}	34.43 ± 0.79 ^{Ac}
5 g 组 5 g Group	33.17 ± 0.81 ^{Ba}	42.92 ± 0.80 ^{Aa}	42.70 ± 1.92 ^{Aa}
10 g 组 10 g Group	34.98 ± 3.13 ^{Ba}	34.52 ± 0.61 ^{Bc}	41.40 ± 1.52 ^{Aa}
50 g 组 50 g Group	33.80 ± 1.77 ^{Ba}	36.62 ± 2.59 ^{Ac}	38.27 ± 2.17 ^{Ab}
100 g 组 100 g Group	35.13 ± 2.13 ^{Ba}	39.82 ± 2.91 ^{Ab}	37.37 ± 1.88 ^{ABb}

2.3 黄芪多糖对奶牛血清中 GSH-Px 活性的影响

添加 APS 组均能提高血清中 GSH-Px 活性,停药后开始逐渐降低。第 14 d 时和第 24 d 时各 APS 添加组 GSH-Px 活性(除 5 g 组外)均与对照组差异显著,且在第 14 d 时 50 g 组 GSH-Px 的活性提高最大。添加 APS 组(除 5 g 组外)GSH-Px 活性在第 14 d 时和第 24 d 时与 0 d 时比较,GSH-Px 活性增加均达到显著水平(表 3)。

表 3 黄芪多糖对 GSH-Px 活性的影响(U/mL)

Table 3 Effect of APS on activity of GSH-Px of Holstein cows (U/mL)

组别 Groups	采血时间 Time of blood collected		
	0 d	14 d	24 d
对照组 Control	358.98 ± 24.46 ^{Aa}	355.53 ± 17.76 ^{Ac}	358.76 ± 12.38 ^{Ab}
5 g 组 5 g Group	355.77 ± 35.18 ^{Aa}	369.36 ± 26.73 ^{Ac}	345.10 ± 18.10 ^{Ab}
10 g 组 10 g Group	366.15 ± 13.43 ^{Ca}	507.92 ± 39.81 ^{Ab}	456.88 ± 14.08 ^{Ba}
50 g 组 50 g Group	364.57 ± 42.47 ^{Ca}	622.23 ± 33.28 ^{Aa}	453.19 ± 29.60 ^{Ba}
100 g 组 100 g Group	362.62 ± 44.94 ^{Ba}	493.89 ± 40.62 ^{Ab}	457.86 ± 30.37 ^{Aa}

2.4 黄芪多糖对奶牛血清中 MDA 含量的影响

添加 APS 组均能不同程度的降低血清中 MDA 含量,且停药后(除 100 g 组)开始逐渐升高。第 14 d 时,不同剂量 APS 添加组 MDA 含量与空白对照组比较显著降低($P < 0.05$),其中 50 g 组 MDA 含量下降的幅度最大;第 24 d 时只有 100 g 组 MDA 的含量与对照组差异显著;100 g 组 MDA 的含量在第 14 d 和第 24 d 时都与 0 d 时的含量差异显著,表明 APS 能降低血液中 MDA 的含量(表 4)。

表 4 黄芪多糖对奶牛 MDA 含量的影响(nmol/mL)

Table 4 Effect of APS on content of MDA of Holstein cows (nmol/mL)

组别 Groups	采血时间 Time of blood collected		
	0 d	14 d	24 d
对照组 Control	5.61 ± 0.90 ^{Aa}	5.31 ± 0.79 ^{Aa}	5.42 ± 0.66 ^{Aa}
5 g 组 5 g Group	5.78 ± 0.22 ^{Aa}	4.71 ± 0.52 ^{Ba}	5.86 ± 0.62 ^{Aa}
10 g 组 10 g Group	5.19 ± 0.32 ^{ABa}	4.38 ± 0.71 ^{Bab}	5.98 ± 1.01 ^{Aa}
50 g 组 50 g Group	5.45 ± 0.56 ^{Aa}	3.32 ± 1.29 ^{Bc}	5.89 ± 0.95 ^{Aa}
100 g 组 100 g Group	5.19 ± 0.33 ^{Aa}	3.61 ± 0.76 ^{Bbc}	3.47 ± 0.47 ^{Bb}

3 分析与讨论

动物机体在正常的代谢过程中会产生含氧的自由基,而机体的防御系统会将其及时清除,维持自由

基的代谢平衡,不会对机体造成损伤。然而一些不利因子会引起自由基代谢紊乱,加之生物膜中存在大量的不饱和脂肪酸,很容易引起脂质过氧化,破坏生物大分子的结构和功能,从而导致多种疾病的发生^[5]。通过外源性补充抗氧化剂辅助调整自由基平衡,预防疾病的发生是目前的研究新热点。大量研究表明,包括 APS 在内的许多植物多糖都具有较强抗氧化作用^[5,6],其机理包括:1)多糖具有很好的还原性,可以直接作用于自由基本身,通过自身的还原反应,捕获氧化反应中产生的活性氧,而保护生物体内的其他还原成分,而发挥抗氧化作用;2)多糖分子抑制生物氧化过程中氧化酶的活性,而发挥抗氧化作用;3)多糖分子通过提高体内抗氧化酶活性发挥作用。

动物机体的抗氧化系统有非酶系统和酶系统这两个系统,其中酶类抗氧化剂主要包括超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)等。机体促进或提高 O_2^- 的消除,可以通过减少脂质过氧化及其代谢产物的产生,提高机体的抗氧化能力。检测谷胱甘肽过氧化物酶、超氧化物歧化酶等体内抗氧化酶的活性和丙二醛含量等指标,可以从整体水平上来评价多糖的抗氧化能力^[7]。总抗氧化能力可以直接反应机体内抗氧化酶活性和非酶类抗氧化能力的大小,体现着机体防御系统的抗氧化能力的强弱,与健康程度存在着密切的联系^[8]。在添加 APS 的第 14 d 100 g 组总抗氧化能力提升幅度最大,在停药后 10 d 50 g 组总抗氧化能力提升幅度最大,表明大剂量饲喂 APS 能在喂药期间大幅度的提升总抗氧化能力,其中 50 g 剂量饲喂 APS 能较长时间维持奶牛的总抗氧化能力。

Sordillo 等^[9]报道,抗氧化剂能增强泌乳期奶牛的健康、避免免疫障碍,更有效的避免疾病的发生。T-SOD、GSH-Px 是体内抗氧化系统中的重要酶系,李睿文等^[1]研究证实隐性乳房炎呈阳性奶牛体内 T-SOD、GSH-Px 活性比隐性乳房炎呈阴性奶牛的要低,隐性乳房炎奶牛体内 SOD 和 GSH-Px 的活性成负相关。Malbe 等^[10]研究发现单位血红蛋白中 GSH-Px 活性低于 3.3 microkat 时会增加奶牛乳腺区域感染病原菌的机率。维生素 C 和维生素 E 是公认的抗氧化剂,Weiss^[11]研究发现补充 V_C 、 V_E 能降低乳房炎的发生率。本研究显示在喂药第 14 d 和停药后 10 d 各试验组均能提高奶牛血清中 SOD、GSH-Px 的活性,其中以 10 g 组和 50 g 组效果显著。

不同学者研究表明,APS 能够提高体内 T-SOD 和 GSH-Px 活性,降低 MDA 含量,具有很好的抗氧化作用^[6,12]。本研究同样也表明,奶牛日粮中添加 APS 能提高奶牛血清中 SOD、GSH-Px 的活性,改善体内氧化应激的状态。

MDA 是机体内自由基攻击生物膜中的多不饱和脂肪酸(*polyunsaturated fatty acid*, PUFA)引发脂质过氧化作用而形成的一种脂质过氧化物,对细胞有严重的毒性作用,可对线粒体呼吸功能、丙酮酸脱氢酶、 α -酮戊二酸脱氢酶有抑制作用。机体中 MDA 的量常常可以反映机体内脂质过氧化的程度,间接的反应出细胞损伤的程度。曾安国等^[12]研究了 APS 的抗氧化性,结果表明 APS 能降低 MDA 含量。本研究结果显示,在喂药结束当天添加 APS 各组(除 5 g 组外)都能显著降低奶牛血清中 MDA 的含量,且在停药第 10 d 时 100 g 的 APS 饲喂量能继续降低血清中 MDA 的含量,表明 APS 能够降低奶牛血清中 MDA 的含量并呈一定的剂量依赖关系,推测 APS 能减少泌乳奶牛体内脂质过氧化损伤,减少氧自由基对生物膜完整性的破坏。

本研究表明,日粮中添加 APS 可提高奶牛的抗氧化能力,改善奶牛体内的氧化应激状态。

参考文献

- Li RW(李睿文), Li TS(李铁拴), Guan M(关鸣), *et al.* The SOD, GSH-Px activity of recessive mastitis cow use Combo. *Chin J Veterin Med*(中国兽医杂志), 2003, 39(8): 15-16.
- Castillo C, Hernandez J, Bravo A, *et al.* Oxidative status during late pregnancy and early lactation in dairy cows. *Vet J*, 2005, 169: 286-292.
- Wei X, Zhang J, Li J, *et al.* *Astragalus mongholicus* and *Polygonum multiflorum*'s protective function against cyclophosphamide inhibitory effect on thymus. *Am J Chin Med*, 2004, 32: 669-680.
- Yang LJ(杨丽娟), Wang YT(王润田), Liu JS(刘京生), *et al.* Influence of AMB on immunosuppression of S180 supernatant. *Chin J Cancer Biother*(中国肿瘤生物治疗杂志), 2003, 3: 210-213.
- Yuan JF(原江锋), Wang DH(王大红). Antioxidant effects and cytotoxicity of crude polysaccharide from *Ligusticum chuanxiong* Hort. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2012, 24: 877-881.
- Wei BD(魏炳栋), Yu W(于维), Tao H(陶浩), *et al.* Effects of Astragalus polysaccharides on growth performance, viscera indices and antioxidant capacity of broilers aged 1 to 14 days. *Chin J Animal Nutri*(动物营养学报), 2011, 23: 486-491.
- Ran L(冉靓), Yang XS(杨小生), Wang BC(王伯初), *et al.* Progress in studies of antioxidant polysaccharides. *Lishizhen Med Mater Med Res*(时珍国医国药), 2006, 17: 494-496.
- Yang XB(杨兴斌), Yang HX(杨会宣), Jiang N(蒋宁), *et al.* Effect of Se and Zn on acetylcholinesterase and antioxidative capacity in soman poisoned rats. *Chin J Pharm Toxicol*(中国药理学与毒理学杂志), 2003, 2: 117-120.
- Sordillo LM, Aitken SL. Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle. *Vet Immunol Immunopathol*, 2009, 128: 104-109.
- Malbe M, Klaassen E, Kaartinen L, *et al.* Effects of oral selenium supplementation on mastitis markers and pathogens in Estonian cows. *Vet Ther*, 2003, 4: 145-154.
- Weiss WP, Hogan JS. Effects of dietary vitamin C on neutrophil function and responses to intramammary infusion of lipopolysaccharide in periparturient dairy cows. *Dairy Sci*, 2007, 90: 731-739.
- Zeng GA(曾国安), Chen YY(陈玉燕), Li B(李博), *et al.* The effect of Astragalus polysaccharide on the function of endothelial cells of in rabbits with atherosclerosis. *Chin J Integr Med Cardio-/Cerebrovascular Dis*(中西医结合心脑血管病杂志), 2010, 10: 1206-1208.