

板蓝根多糖对少乳仔鼠空肠形态的影响

彭 婧¹ 肖传斌¹ 王春秀^{2*}

1. 河南农业大学动物医学院, 郑州 450001; 2. 河南农业大学动物科技学院, 郑州 450001

摘要 本试验将刚出生的仔鼠根据不同处理方法分为4组, 1个对照组与3个试验组, 对照组不做处理, 正常饲养; 其余3个试验组每天分别灌注0.9%生理盐水、20 mg/kg板蓝根多糖、40 mg/kg板蓝根多糖。在仔鼠7、14、21、28日龄时分别取样, 应用大体解剖技术、常规石蜡切片、HE染色方法, 通过Moticom成像系统测量不同组别少乳仔鼠空肠绒毛长度和隐窝深度, 并计算V/C值, 研究灌注不同浓度的板蓝根多糖对仔鼠肠道形态学的影响。试验结果显示: 0~21日龄时, 中浓度(20 mg/kg)板蓝根多糖能显著增加空肠绒毛长度, 降低隐窝深度, 增大V/C值; 21~28日龄时, 高浓度(40 mg/kg)板蓝根多糖能显著增加仔鼠空肠绒毛长度, 降低隐窝深度, 增大V/C值。对照组和0.9%生理盐水灌注组空肠的绒毛长度和隐窝深度变化不大, V/C值也无明显增大。说明一定剂量的板蓝根多糖能促进仔鼠空肠发育, 增加对营养物质的吸收, 使其空肠绒毛长度显著性增长, 隐窝深度降低, V/C值增大, 且板蓝根多糖对少乳仔鼠小肠形态发育的促进作用随其日龄增加而增强。

关键词 板蓝根多糖; 小鼠; 空肠; 绒毛长度; 隐窝深度; V/C值

中国传统中草药板蓝根性寒味苦, 内含靛甙、靛玉红、生物碱和多糖等成分, 具有清热解毒、凉血消肿、利咽之功效^[1-2]。板蓝根多糖(IRP)是从板蓝根中提取出的一类具有多种生理功能的活性多糖, 由于其具有多种免疫调节功能, 且天然、低毒、无残留等优点, 成为近年人们研究的热点。郭新华等^[3]研究表明, 板蓝根多糖能显著增加雏鸡胸腺、脾脏和法氏囊等免疫器官指数, 促进B细胞发育, 提高雏鸡新城疫疫苗免疫后血清抗体滴度; Qiu等^[4]研究证实, 板蓝根多糖能明显促进T淋巴细胞增殖, 进而提高雏鸡ND-IB二联弱毒疫苗的血清抗体水平; 许益明等^[5]报道小鼠通过腹腔注射IRP对非特异性免疫和特异性免疫均有一定的增强作用; 张婷婷等^[6]研究表明, 在缺乳仔鼠饲料中添加一定剂量的板蓝根多糖可以促进缺乳仔鼠免疫器官发育, 增加正常小鼠的脾和胸腺指数; 赵珊珊等^[7]研究证明, 板蓝根多

糖可以促进无初乳仔鼠十二指肠黏膜IgG和SIgA阳性细胞的表达, 增强无初乳仔鼠的消化道黏膜免疫功能。目前, 对板蓝根多糖的研究多限于其免疫增强功能, 而对其促进消化道发育及增强黏膜免疫功能等研究甚少。贺琴等^[8]报道酵母壁多糖能提高断奶仔猪生产性能, 促进断奶仔猪消化道黏膜上皮细胞发育; 路万平等^[9]证明, 板蓝根多糖可以促进缺乳仔鼠十二指肠发育, 增加小肠黏膜绒毛高度, 增强消化道消化吸收功能。本试验目的是探讨板蓝根多糖对少乳仔鼠空肠形态学的影响, 通过为板蓝根多糖的开发应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 器材及药品

BM-VII生物包埋机, 购自孝感宏业医用仪器有限公司; YD-A智能型组织摊片机, 购自金华益迪

收稿日期: 2021-01-28

基金项目: 国家自然科学基金项目(31272316)

*通讯作者

彭 婧, 女, 2000年生, 本科在读。

医疗设备厂;石蜡切片机,购自德国 LEICA 公司;Leica 显微镜 DM 2 000,购自德国 LEICA 公司;图像分析系统 Moticam 2 306 3.0 Mplexl,购自美国 Moticom 公司;板蓝根,购自河南省药材公司。

1.2 试验动物

40 只♀鼠、20 只♂鼠(2.5 月龄 SPF 级 SD 大鼠)均购于郑州大学医学院实验动物中心。

1.3 试验方法

1)板蓝根多糖的提取纯化及测定。板蓝根→粉碎→称量→乙醚脱脂→热水浸提→离心取上清液→残渣重复浸提 2 次→合并上清液→减压浓缩→透析→测含糖量→乙醇沉淀→有机溶剂洗涤→真空干燥,采用硫酸蒽酮法检测板蓝根多糖含量为 89.89%。板蓝根多糖用去离子水溶解,常规高压消毒备用。

2)试验动物分组和不同处理。2.5 月龄 SPF 级 SD 大鼠,♀40 只、♂20 只,按雌雄比 2:1 随机分 20 组自由繁殖。母鼠分娩后,0 日龄仔鼠按剪脚指(趾)甲法随机分为 4 组:A 组(初乳组)、B 组(少乳组)、C 组(少乳+板蓝根多糖中剂量组)、D 组(少乳+板蓝根多糖高剂量组)。A 组仔鼠正常饲养,B、C 组仔鼠每天 08:00 与母鼠分笼,20:00 与母鼠合笼。A~D 组仔鼠每天 19:00 分别灌胃 0.9% NaCl、0.9% NaCl、20 mg/kg 板蓝根多糖和 40 mg/kg 板蓝根多糖,灌胃剂量均按 20 μ L 配制,1 次/d,连续灌胃 7 d。各试验组仔鼠均在 21 日龄断奶。

3)试验动物取材。试验结束后,分别在仔鼠 7、14、21、28 日龄时取材,小鼠断头致死,迅速取空肠 2~3 mm,浸入新配制的生理盐水涮洗掉肠内容物,Boin's 固定液固定 24 h,石蜡切片,片厚 7 μ m,常规 H-E 染色。

4)测量指标与方法。组织切片置于 Leica 显微

镜下观察,利用 Moticom2306/3.0 pixel 图象分析系统拍照并测量空肠的绒毛高度、隐窝深度、计算 V/C 值。每组选 6 张切片,每张取 5 个最高绒毛、最深隐窝进行统计分析。用 SPSS 11.0 对数据进行单因素方差分析,试验结果用“平均值 \pm 标准差”表示, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 各试验组空肠黏膜绒毛高度

由表 1 可知,各日龄 A 组仔鼠空肠黏膜绒毛高度显著大于 B、C、D 组,各日龄 B 组仔鼠空肠绒毛高度显著小于 C、D 组;7 日龄时,A、C 组空肠绒毛高度显著大于 B、D 组;14 日龄时,A 组空肠绒毛高度显著大于 B、C、D 组,B、C、D 各组仔鼠空肠黏膜绒毛高度差异不显著;21 日龄时,C 组肠黏膜绒毛高度显著大于 B、D 组;28 日龄时,D 组肠黏膜绒毛高度显著大于 B、C 组。

2.2 各试验组空肠隐窝深度

由表 2 可知,7 日龄时,B 组仔鼠空肠隐窝深度显著小于 A、D 组,与 C 组差异不显著;14 日龄时,C 组仔鼠空肠隐窝深度小于 A、B、D 组,与 A、D 组差异显著,与 B 组差异不显著;21 日龄时,C 组仔鼠空肠隐窝深度小于 A、B、D 组,差异不显著;28 日龄时,D 组仔鼠空肠隐窝深度显著小于 A、B、C 组。

2.3 各试验组空肠 V/C 值

由图 1 可知,随着日龄的增长,V/C 值呈下降趋势,这可能是因为在初期仔鼠处于快速生长期,绒毛长度增大速度小于隐窝深度增大速度。0~21 日龄时,C 组 V/C 值显著大于 B、D 组;其中 7 日龄时,C 组 V/C 值显著大于 A、B、D 组;14 日龄时,A、B、C 组 V/C 值显著大于 D 组;21 日龄时,C 组 V/C 值显著大于 B 组,与 A、D 组差异不显著;28 日龄时,D 组 V/C 值显著大于 A、B、C 组。

表 1 各试验组空肠黏膜绒毛高度

分组	7 日龄	14 日龄	21 日龄	28 日龄
A 组	332.52 \pm 7.10b	384.57 \pm 8.43b	396.88 \pm 9.00c	451.13 \pm 19.56c
B 组	259.89 \pm 8.00a	306.14 \pm 1.71a	285.63 \pm 4.12a	334.96 \pm 7.70a
C 组	309.69 \pm 2.23b	308.06 \pm 5.17a	360.36 \pm 6.64bc	373.99 \pm 9.56b
D 组	279.18 \pm 11.63a	307.16 \pm 3.96a	342.21 \pm 12.30b	405.91 \pm 5.25b

注:同列标注的不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$),相同字母表示差异不显著($P > 0.05$),下同。

表 2 各试验组空肠隐窝深度

分组	7 日龄	14 日龄	21 日龄	28 日龄
A 组	48.53±0.48c	48.18±0.76c	72.88±3.33a	185.84±6.19c
B 组	37.96±0.87a	41.11±0.45a	74.93±1.75a	133.31±2.18ab
C 组	39.17±0.37ab	40.81±0.68a	71.93±2.37a	149.77±9.14b
D 组	40.08±0.65b	44.93±0.98b	77.54±0.49a	127.51±4.51a

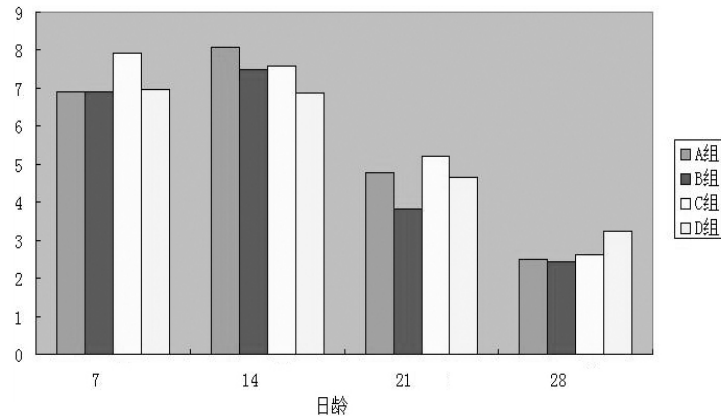


图 1 各试验组仔鼠 V/C 值

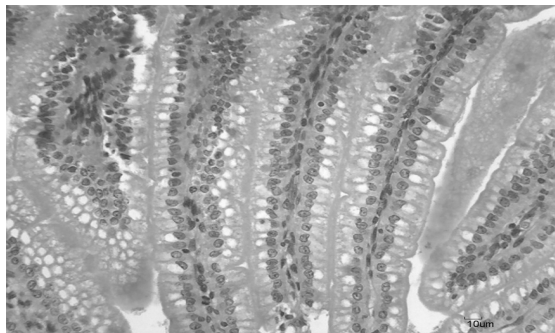


图 2 A 组 21 日龄空肠 (10×40 倍)

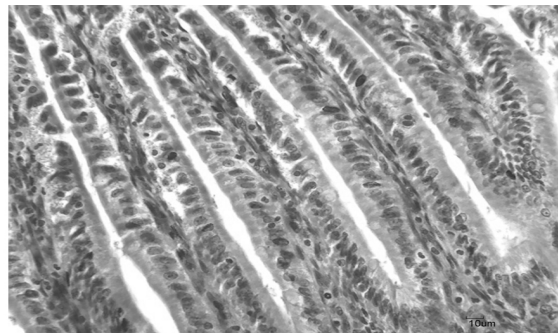


图 3 C 组 21 日龄空肠 (10×40 倍)

比较图 2 和图 3 可以看出, C 组 21 日龄少乳仔鼠空肠肠绒毛高度明显大于 A 组。

3 讨论

空肠绒毛是由空肠黏膜上皮和固有膜呈指状突起突向肠腔而成, 是动物营养物质吸收的主要部位, 其发育状况决定着营养物质的吸收率和利用率。空肠是动物营养物质消化吸收的最重要部位, 空肠绒毛高度与吸收上皮细胞数量呈显著正相关。空肠绒毛高度的增加, 使得吸收细胞面积增大, 营养物质的吸收效率提高, 同时也有利于物质的合成。当空肠绒毛变矮时, 表明空肠黏膜绒毛上皮吸收细胞数量减少, 消化吸收能力降低。肠隐窝是肠

绒毛基部上皮细胞下陷至固有膜形成的管状结构, 隐窝深度的变化反映小肠黏膜上皮吸收细胞的更新速率^[10]。隐窝深度变浅则说明肠黏膜上皮吸收细胞成熟率上升, 上皮吸收细胞更新速率加快, 小肠消化吸收功能增强。小肠绒毛高度与隐窝深度的比值 (V/C 值) 是影响动物消化道消化吸收功能的形态学结构基础, V/C 值增大, 表明消化道黏膜面积变大, 消化吸收能力增强; V/C 值减小, 说明肠黏膜面积变小, 消化吸收能力减弱。

板蓝根多糖能增加空肠绒毛高度, 降低隐窝深度, 增加 V/C 值, 可能有以下 2 个方面的原因: ①许多研究^[11-15]证实, 寡乳糖、寡半乳糖、甘露寡糖等多糖均可调节动物消化道微生物群系, 抑制消化道有

害微生物群,促进消化道双歧杆菌和乳酸菌等有益菌的增长,故推测板蓝根多糖降解后能形成各种寡糖和单糖,抑制有害病原微生物群的黏附和繁殖,促进有益菌群的发育,调节消化道微生态平衡,减少病原微生物产生的毒素对肠道绒毛上皮细胞的破坏作用,促进肠道绒毛的发育。②陈群等^[6]报道,动物消化道黏膜上皮细胞更新是一个耗能过程,约占全身能量的 24%,而植物多糖能够促进胰岛素分泌,影响糖代谢酶的活性,促使外周组织对葡萄糖的作用,抑制糖异生,加速葡萄糖代谢供能,促进消化道黏膜上皮细胞的更新和发育。有关板蓝根多糖促进肠道发育的机理仍需进一步研究。

4 结 论

板蓝根多糖是从中草药板蓝根中提取的植物活性多糖,具有天然、低毒、无残留等优点。给少乳仔鼠灌注不同剂量的板蓝根多糖试验结果显示:使用板蓝根多糖能显著增加空肠绒毛高度,降低隐窝深度,增大 V/C 值,促进空肠的发育,增强空场消化吸收功能。使用中质量浓度(20 mg/kg)的板蓝根多糖对 0~21 日龄仔鼠空肠的发育效果明显,而使用高质量浓度(40 mg/kg)的板蓝根多糖对 21~28 日龄仔鼠的空肠发育效果明显。

参 考 文 献

- [1] 王蓓. 板蓝根的基础研究及临床应用[J]. 广西民族大学学报(自然科学版), 2006(S2): 119-120, 130.
- [2] 许桂红. 板蓝根多糖化学与溶液粘度及免疫调节活性的研究[D]. 扬州:扬州大学, 2006.
- [3] 郭新华, 邱研, 严桂芹, 等. 板蓝根多糖对鸡新城疫抗体滴度和免疫器官的影响[J]. 科技视野, 2007(11): 20-22.
- [4] QIU Y, HU Y L, CUI B A. et al. Immunopotentiating effects of four chinese herbal polypacharides administered at vaccination in chickens[J]. Poultry science, 2007, 86(12): 5-36.
- [5] 许益民, 陆平成, 王永珍. 板蓝根多糖促进免疫功能的实验研究[J]. 中西医结合杂志, 1991, 11(6): 357-359.
- [6] 张婷婷, 陶孟杰, 黄鹏. 板蓝根多糖对缺乳仔鼠免疫器官发育及 T 淋巴细胞亚群的影响[J]. 中国畜牧兽医, 2013, 40(8): 97-100.
- [7] 赵珊珊, 熊善辉, 黄鹏. 板蓝根多糖对无初乳仔鼠十二指肠 IgG+ 和 SIgA+ 细胞表达的影响[J]. 实验动物学报, 2012, 20(1): 47-50.
- [8] 贺琴, 王自蕊, 游金明, 等. 酵母壁多糖对断奶仔猪生长性能和小肠黏膜形态结构的影响[J]. 动物营养学报, 2016, 28(11): 3536-3541.
- [9] 路万平, 肖传斌, 杨国庆, 等. 板蓝根多糖对缺乳仔鼠十二指肠形态学的影响[J]. 河南科学, 2019, 37(10): 1595-1598.
- [10] 成令忠. 组织学[M]. 2版. 北京:人民卫生出版社, 1994.
- [11] 李燕, 康相涛, 孙桂荣, 等. 木寡糖对矮脚绿壳蛋鸡肠道长度及形态结构的影响[J]. 饲料研究, 2007(12): 67-69.
- [12] 刘祝英. 复合多糖对断奶仔猪生产性能和免疫功能影响的研究[D]. 长沙:湖南农业大学, 2007.
- [13] 王秀武, 杜昱光, 白雪芳, 等. 壳寡糖对肉仔鸡肠道主要菌群、小肠微绒毛密度、免疫功能及生产性能的影响[J]. 动物营养学报, 2003, 15(4): 32-35.
- [14] 刘艳如, 余萍, 郑怡. 水溶性壳聚糖的抑菌作用研究[J]. 中国海洋药物杂志, 2001, 2(10): 42-44.
- [15] 张宏福, 徐秀容, 卢庆萍, 等. 异麦芽寡糖对早期断乳仔猪肠道主要菌群的影响[J]. 动物营养学报, 2001, 13(3): 47-51.
- [16] 陈群, 刘海燕, 于维, 等. 植物多糖对幼龄动物消化道功能调节的研究进展[J]. 中国畜牧兽医, 2008, 35(12): 40-42.

【责任编辑:胡 敏】