

马龙飞, 周斌斌, 刘春雨, 等. 饲料添加芦丁对断奶仔猪回肠形态结构和屏障功能的影响 [J]. 畜牧与兽医, 2024, 56 (2): 7-14.

MA L F, ZHOU B B, LIU C Y, et al. Effects of dietary rutin on the morphology and barrier function of ileum in weaned piglets [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2024, 56 (2): 7-14.

## 饲料添加芦丁对断奶仔猪回肠形态结构和屏障功能的影响

马龙飞, 周斌斌, 刘春雨, 陈顺, 王恬, 王超\*

(南京农业大学动物科技学院, 江苏 南京 210095)

**摘要:** 旨在研究饲料添加芦丁对断奶仔猪肠道形态结构、黏膜屏障、抗氧化功能、炎症和细胞凋亡等方面的影响。试验选取 28 日龄健康且体重相近的断奶仔猪 16 头, 随机分为 2 组, 每组 8 个重复, 每个重复 1 头猪。对照组饲喂基础饲料, 试验 (芦丁) 组在基础饲料中添加 500 mg/kg 芦丁, 试验期 14 d。结果表明: 与对照组相比, 饲料添加 500 mg/kg 芦丁对仔猪回肠形态结构无显著影响 ( $P>0.05$ ), 但显著提高了仔猪回肠黏膜中过氧化氢酶 (CAT) 活性 ( $P<0.05$ ), 显著提高了 B 细胞淋巴瘤基因-2 (Bcl-2)、超氧化物歧化酶 1 (SOD1)、超氧化物歧化酶 2 (SOD2) 以及闭合小环蛋白-1 (ZO-1) mRNA 的表达量 ( $P<0.05$ ), 显著提高了闭合蛋白 (Occludin) mRNA 和蛋白的表达量 ( $P<0.05$ ), 显著降低了肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 和白细胞介素-6 (IL-6) mRNA 的表达量 ( $P<0.05$ )。结果提示: 饲料添加 500 mg/kg 芦丁可提高断奶仔猪抗氧化能力和肠屏障功能, 减少炎症发生和细胞凋亡, 这可能是其抑制断奶仔猪腹泻的重要原因之一。

**关键词:** 芦丁; 断奶仔猪; 肠道形态; 抗氧化; 黏膜屏障

中图分类号: S852.1 文献标志码: A 文章编号: 0529-5130(2024)02-0007-08

## Effects of dietary rutin on the morphology and barrier function of ileum in weaned piglets

MA Longfei, ZHOU Binbin, LIU Chunyu, CHEN Shun, WANG Tian, WANG Chao\*

(College of Animal Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** The aim of this study was to determine the effects of dietary rutin on the morphology, mucosal barrier, antioxidant function, inflammation and apoptosis of the intestines in weaned piglets. Sixteen 28-day-old healthy weaned piglets with similar body weight were selected and randomly divided into 2 groups with 8 replicates per group and 1 pig per replicate. The piglets in the control group were fed with a basal diet, and those in the rutin group were fed with basal diet supplemented with 500 mg/kg rutin. The experiment lasted for 14 days. The results showed as follow: Compared with the piglets of the control group, dietary 500 mg/kg rutin had no significant effect on the morphology of the ileum of the piglets of the rutin group ( $P>0.05$ ), but significantly increased the catalase (CAT) activity of their ileum mucosa ( $P<0.05$ ). The mRNA expression of B-cell lymphoma gen-2 (Bcl-2), superoxide dismutase 1 (SOD1), superoxide dismutase 2 (SOD2) and occlusive small loop protein-1 (ZO-1) in the ileal mucosa of the experimental piglets was significantly increased ( $P<0.05$ ), and the mRNA and protein expression of Occludin in the piglets was significantly increased ( $P<0.05$ ) by the supplementary dietary rutin, while the mRNA expression levels of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and interleukin-6 (IL-6) in ileal mucosa of the piglets were significantly reduced ( $P<0.05$ ). These results suggested that dietary 500 mg/kg rutin improved antioxidant capacity and intestinal barrier function of weaned piglets, and alleviated inflammation and apoptosis in them, which might be one of the important reasons for inhibiting diarrhea in weaned piglets by rutin.

**Keywords:** rutin; weaned piglet; antioxidant; immunity; intestinal barrier

仔猪早期断奶易产生断奶应激<sup>[1]</sup>, 常见采食量降低, 肠道黏膜及屏障功能受损<sup>[2]</sup>等。研究发现断

奶可导致小肠绒毛萎缩、隐窝深度增加, 从而抑制营养物质的消化吸收和利用<sup>[3]</sup>。此外, 仔猪断奶可引起促炎因子表达量增加, 机体免疫力下降, 影响肠道紧密连接功能, 导致肠道黏膜通透性增加, 影响机体健康<sup>[4-5]</sup>。研究发现断奶可导致肠道活性氧 (ROS) 增加, 引起氧化应激, 这可能是潜在的调控仔猪早期断奶应激的重要靶点, 已受到广泛关注<sup>[6]</sup>。

芦丁是广泛存在于植物中的类黄酮物质, 又名芸

收稿日期: 2023-03-11; 修回日期: 2023-12-15

基金项目: 江苏省苏北科技计划项目 (SZ-YC202146); 国家自然科学基金项目 (31972598)

第一作者: 马龙飞, 男, 硕士研究生

\*通信作者: 王超, 副教授, 研究方向为动物营养与生理调控,

E-mail: wangchao121@niau.edu.cn。

香苷<sup>[7]</sup>，是由黄酮苷元槲皮素和二糖芸香糖组成的糖苷，具有抗氧化、增强机体免疫等多种生物学功能，有调节断奶仔猪肠道功能的潜力<sup>[8]</sup>。研究表明，饲料中添加 500 mg/kg 芦丁可改善肉鸡空肠形态结构和屏障功能<sup>[9]</sup>，提高分泌性免疫球蛋白 A (sIgA) 含量，降低肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 水平和相应炎症因子基因表达量，增强肠道免疫，发挥抗炎作用<sup>[10]</sup>。Gautam 等<sup>[11]</sup>通发现芦丁可通过提高抗氧化酶的活性，清除自由基，保护大鼠肠道免受氧化应激的影响，增强肠道抗氧化能力。肠道功能的提高对断奶仔猪抗腹泻能力和改善饲料转化率方面起重要作用，但芦丁对断奶仔猪肠道功能的影响尚未见报道。因此，本试验通过系统研究饲料添加芦丁对断奶仔猪肠道免疫、抗氧化和屏障功能的影响，以期在生产应用提供理论指导。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料与设计

选择 16 头 28 d 断奶，体重在 (8.98±0.30) kg “杜×长×大”三元杂交公猪，随机分为 2 组（每组 8 个重复，每个重复 1 头猪），对照组饲喂基础饲料，试验（芦丁）组在基础饲料中添加 500 mg/kg 芦丁，试验期 14 d。基础饲料参照美国国家研究委员会 (NRC, 2012) 颁布的营养需求标准，相应成分和营养水平见表 1。

### 1.2 饲养管理

仔猪饲养于带有漏缝地板的不锈钢围栏中，温度为 26~30 ℃，湿度为 50%~60%，自由采食和饮水。定期检查猪舍环境和仔猪身体健康状况，按常规程序免疫。

### 1.3 样品采集与处理

饲养试验结束时，试验仔猪禁食 12 h，电击屠宰取样。选取仔猪的回肠（约 2.0 cm）于 4% 多聚甲醛溶液固定并制备切片。载玻片刮取回肠黏膜样品于冻存管，置液氮冷冻后于 -80 ℃ 低温冰柜储存待测。

### 1.4 指标测定与方法

#### 1.4.1 肠组织形态观察

将回肠组织于 4% 多聚甲醛中固定 48 h 后，通过酒精、二甲苯处理，石蜡包埋、切片，再用伊红和苏木精染色后置于显微镜（尼康 H5500L，东京，日本）下观察。用 Image Pro Plus 软件测量肠绒毛高度、绒毛宽度和隐窝深度，计算绒毛面积、绒毛高度和隐窝深度比值。

#### 1.4.2 抗氧化酶活相关指标测定

取回肠黏膜样品（约 100 mg）与生理盐水按 1:9 的比例匀浆，在 4 ℃ 下以 3 000 r/min 离心

15 min，取上清液采用相应试剂盒测定丙二醛 (MDA) 含量，总抗氧化能力 (T-AOC)，以及总超氧化物歧化酶 (T-SOD)、还原型谷胱甘肽 (GSH) 和过氧化氢酶 (CAT) 的活性。试剂盒均购自南京建成生物研究所，测定步骤按照试剂盒说明书进行。使用 BCA 试剂盒（碧云天生物技术有限公司，上海，中国）测定样品蛋白浓度，指标按每 mg 或每 g 蛋白计算。

表 1 基础饲料组成及营养水平

项目	含量
玉米	24.00
小麦粉	5.00
膨化大豆	5.00
发酵豆粕	8.00
碎米	16.81
鱼粉	3.00
奶粉	10.00
乳清粉	10.00
大豆蛋白浓缩物	4.00
酵母粉	1.00
豆油	0.65
蔗糖	3.00
葡萄糖	4.00
磷酸二钙	0.74
石粉	0.80
预混料 <sup>1)</sup>	4.00
消化能/ (MJ·kg <sup>-1</sup> )	14.90
粗蛋白/ %	19.02
赖氨酸/ %	1.32
蛋氨酸+半胱氨酸/ %	0.78
苏氨酸/ %	0.83
有效磷/ %	0.43
钙/ %	0.87

注：<sup>1)</sup> 预混料为每千克饲料提供：赖氨酸 2.30 g，蛋氨酸 1.20 g，苏氨酸 0.50 g，NaCl 0.30 g，VE 80 U，VD<sub>3</sub> 2 500 U，VK<sub>3</sub> 3.0 mg，生物素 0.20 mg，烟酸 25 mg，D-泛酸 30 mg，核黄素 3.6 mg，硫胺素 1.0 mg，吡哆醇 1.5 mg，叶酸 2.0 mg，胆碱 800 mg，铁 120 mg，锌（硫酸锌）100 mg，锰 80 mg，碘 0.30 mg，硒 0.25 mg，多酶复合物（ $\beta$ -葡聚糖酶 200 U，木聚糖酶 400 U 和植酸酶 500 U）。<sup>2)</sup> 营养水平为计算值。

#### 1.4.3 抗氧化、屏障功能、炎症和细胞凋亡相关基因表达量的测定

取肠道黏膜组织样品（约 0.1 g），使用 TRIzol 试剂（TaKaRa，大连，中国）提取总 RNA，然后，

使用逆转录试剂盒（南京诺唯赞生物科技股份有限公司，中国）将总 RNA 逆转录成 cDNA。通过荧光定量 PCR（qRT-PCR）检测目的基因 mRNA 表达，以  $\beta$ -肌动蛋白（ $\beta$ -actin）为内参基因，使用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  方法计算各基因 mRNA 的相对表达量，具体操作根据先前研究进行<sup>[12-13]</sup>。引物序列见表 2。

#### 1.4.4 回肠黏膜紧密连接蛋白相对表达量的测定

根据文献方法 [14] 测定回肠黏膜紧密连接相关蛋白表达量。试验取肠黏膜样品裂解匀浆，将等量变性蛋白进行 SDS-PAGE 分离，转移至 PVDF 膜，经室温封闭，4℃ 下一抗孵育过夜，室温二抗孵育 1.5 h 后，置超敏 ECL 化学发光试剂（南京诺唯赞生

物科技股份有限公司，中国）反应，再用 ChemiDoc MP 成像系统（BIO-RAD, Hercules, CA, USA）观察并使用 ImageJ 软件（Media Cybernetics Inc., Bethesda, MD, USA）分析蛋白密度。抗体 Occludin（1 : 5 000）、Claudin-1（1 : 4 000）和  $\beta$ -actin（1 : 1 000）由 Proteintech Group 公司提供。

#### 1.5 数据统计与分析

试验数据采用 SPSS 22.0 软件通过独立样本 *t* 检验分析对照组和芦丁组之间的统计学差异， $P < 0.05$  表示差异显著， $0.05 \leq P < 0.10$  表示有差异趋势。试验数据用“平均值 $\pm$ 标准误”表示。

表 2 实时荧光定量 PCR 引物序列

基因名称	登录号	引物序列 (5'→3')	产物大小/bp
ZO-1	XM005659811.1	F: ACCCCCTACATGCTGACTCT R: TGGCTGCTTCAAGACATGGT	209
Occludin	NM_001163647.2	F: ATGGCTGCCTTCTGCTTCAT R: TCACTTTCCCGTTGGACGAG	75
Claudin-1	NM_001244539.1	F: TCCTCAATACAGGAGGGAAGC R: TATTTAAGGACCGCCCTCTCC	92
Bel-2	XM_021099593.1	F: AGCATGCGGCCTCTATTTGA R: GGCCCGTGGACTTCACTTAT	120
P53	NM_213824.3	F: CACTGGATGGCGACTATTTTAC R: CTTAGACTTCAGGTGGCTGGA	152
CAS3	NM_214131.1	F: ATAATTCAGGCCTGCCGAAG R: TGTTTCAGCGCTGCACAAAG	200
CAS9	XM_003127618.4	F: ACCCCTGACATGATCGAGGA R: CTGGCTTGAGTTCCACTGGT	256
Bax	XM_003127290.4	F: AGCATGCGGCCTCTATTTGA R: GGCCCGTGGACTTCACTTAT	200
NF- $\kappa$ B	NM_001048232.1	F: GGCTACCCTGGCACAGAAAT R: GCCTGAGAGGTGGTCTTCAC	231
TNF- $\alpha$	NM_214022.1	F: TTGAGCATCAACCCTCTGGC R: GGCATACCCACTCTGCCATT	123
IFN- $\gamma$	AY188090.1	F: TCAGCTTTGCGTGACTTTGTG R: GCTCTCTGGCCTTGGAAACAT	251
IL-1 $\beta$	NM_214055.1	F: AATTCAGGGACCCTACCCTCTC R: AGAGATTTGCAGCTGGATGCT	220
IL-4	NM_214123.1	F: ACACGACGGAGAAGGAAACC R: GTTCTGTCAACTCCGCTCA	189
IL-6	NM_214399.1	F: AAATGTCGAGGCTGTGCAGA R: CTCAGGCTGAACTGCAGGAA	207
IL-10	NM_214041.1	F: CCACAAGTCCGACTCAACGA R: AACTTCTCACTGGGCCGAAG	186
Nrf2	NM_001114671.1	F: GACAAACCGCCTCAACTCAG R: GTCTCCACGTCGTAGCGTTC	183

续表2

基因名称	登录号	引物序列 (5'→3')	产物大小/bp
Keap1	XM_021076667.1	F: CGTGGAGACAGAAACGTGGA R: CAATCTGCTTCCGACAGGGT	239
SOD1	NM_001190422.1	F: CATTCCATCATTGGCCGCAC R: TTACACCACAGGCCAAACGA	118
SOD2	NM_214127.2	F: GGCCTACGTGAACAACCTGA R: TGATTGATGTGGCTCCACC	126
GCLC	XM_003482164.4	F: GGCGACGAGGTGGAATACAT R: GTTTGGGTTTGTCTTTCCCC	123
GCLM	XM_001926378.4	F: GCATCTACAGCCTTACTGGGA R: GTTAAATCGGGCGGCATCAC	180
HO-1	NM_001004027.1	F: CAAGCAGAAAATCCTCGAAG R: GCTGAGTGTGAGGCCATC	241
GSH-Px	NM_214201.1	F: CCTCAAGTACGTCCGACCAG R: TGAGCATTTCGCCATTCA	85
β-actin	XM_021086047.1	F: AGATCAAGATCATCGCGCCT R: GAGGTAGTCCAGGCTTGTT	258

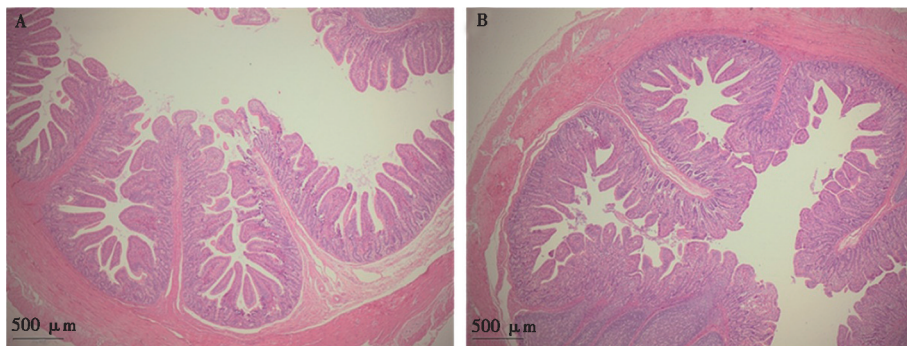
注: ZO-1, 闭合小环蛋白-1; Occludin, 闭合蛋白; Claudin-1, 跨膜蛋白-1; Bcl-2, B 细胞淋巴瘤基因-2; P53, 肿瘤抑制蛋白; CAS3, 半胱氨酸蛋白酶 3; CAS9, 半胱氨酸蛋白酶 9; Bax, Bcl-2 相关 X 蛋白; NF-κB, 核因子-κB; IFN-γ, 干扰素-γ; IL-1β, 白细胞介素-1β; IL-4, 白细胞介素-4; IL-6, 白细胞介素-6; IL-10, 白细胞介素-10; Nrf2, 核因子 E2 相关因子 2; Keap1, Kelch 样环氧丙烷相关蛋白 1; SOD1, 超氧化物歧化酶 1; SOD2, 超氧化物歧化酶 2; GCLC, 谷氨酸-半胱氨酸连接酶催化亚基; GCLM, 谷氨酸-半胱氨酸连接酶修饰物亚聚体; HO-1, 血红素加氧酶-1; GSH-Px, 谷胱甘肽过氧化物酶。

## 2 结果与分析

### 2.1 芦丁对断奶仔猪回肠组织形态的影响

如图 1 及表 3 所示, 与对照组相比, 饲料添加

500 mg/kg 芦丁对断奶仔猪回肠的绒毛高度、绒毛宽度、隐窝深度、绒毛面积和绒毛高度/隐窝深度均无显著影响 ( $P>0.05$ )。



A. 对照组; B. 芦丁组。

图 1 芦丁对断奶仔猪回肠形态结构的影响 ( $n=6$ )

表 3 芦丁对断奶仔猪回肠组织形态的影响 ( $n=6$ )

指标	对照组	芦丁组
绒毛高度/ $\mu\text{m}$	376.46±17.61	390.31±14.29
绒毛宽度/ $\mu\text{m}$	131.91±5.32	137.46±3.78
隐窝深度/ $\mu\text{m}$	234.11±14.78	281.01±22.51
绒毛高度/隐窝深度	1.61±0.07	1.73±0.11
绒毛面积/ $\text{mm}^2$	0.07±0.01	0.09±0.01

### 2.2 芦丁对断奶仔猪回肠黏膜抗氧化指标的影响

如表 4 所示, 饲料添加 500 mg/kg 芦丁显著提高了断奶仔猪回肠黏膜中 CAT 活性 ( $P<0.05$ ), 并有降低 MDA 含量的趋势 ( $P=0.06$ ), 但对 T-AOC、GSH 和 T-SOD 活性无显著影响 ( $P>0.05$ )。

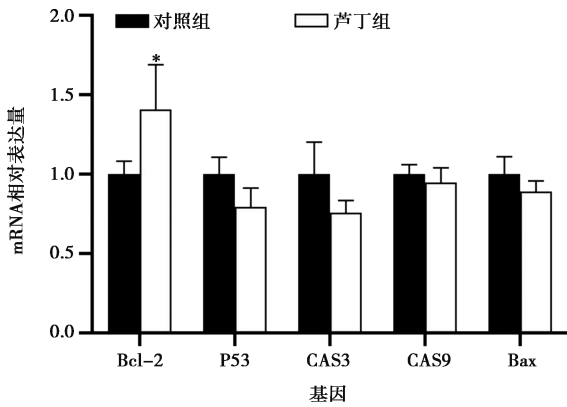
表 4 芦丁对断奶仔猪回肠黏膜抗氧化指标的影响 (n=8)

指标	对照组	芦丁组
MDA/ (nmol · mg <sup>-1</sup> )	0.35±0.03	0.27±0.03
CAT/ (U · mg <sup>-1</sup> )	12.31±0.37	14.53±0.65*
T-AOC/ (U · mg <sup>-1</sup> )	0.52±0.07	0.53±0.07
GSH/ (mg · g <sup>-1</sup> )	3.71±0.55	4.24±0.47
T-SOD/ (U · mg <sup>-1</sup> )	238.28±14.48	238.39±7.75

注: 与对照组相比, \* 表示差异显著 (P<0.05)。

### 2.3 芦丁对断奶仔猪回肠黏膜增殖与凋亡基因表达的影响

如图 2 所示, 与对照组相比, 饲料添加 500



同一指标组间相比, \* 表示差异显著 (P<0.05)。下同。

图 2 芦丁对断奶仔猪回肠黏膜增殖与凋亡基因表达的影响 (n=8)

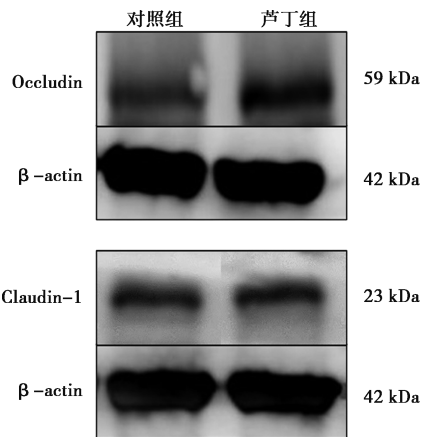


图 4 芦丁对断奶仔猪回肠黏膜紧密连接蛋白表达的影响 (n=4)

### 2.5 芦丁对断奶仔猪回肠黏膜炎症相关基因表达的影响

如图 5 所示, 与对照组相比, 饲料添加 500 mg/kg 芦丁显著降低了断奶仔猪回肠黏膜 TNF-α 和

mg/kg 芦丁显著提高了回肠黏膜中 Bcl-2 mRNA 表达量 (P<0.05), 但对 P53、CAS3、CAS9 和 Bax mRNA 表达量无显著影响 (P>0.05)。

### 2.4 芦丁对断奶仔猪回肠黏膜紧密连接蛋白基因和蛋白表达的影响

如图 3 和图 4 所示, 与对照组相比, 饲料添加 500 mg/kg 芦丁显著提高了回肠黏膜中 ZO-1 和 Occludin mRNA 表达量以及 Occludin 的蛋白表达量 (P<0.05), 但对 Claudin-1 mRNA 表达量和蛋白表达量均无显著影响 (P>0.05)。

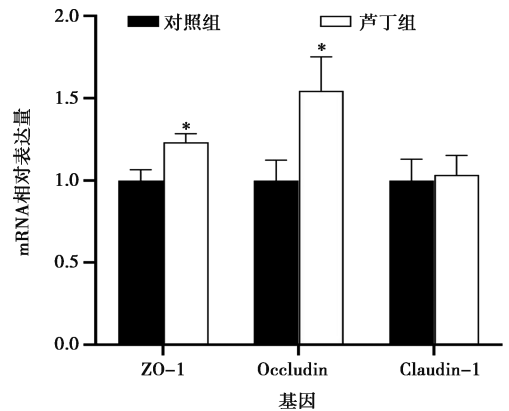
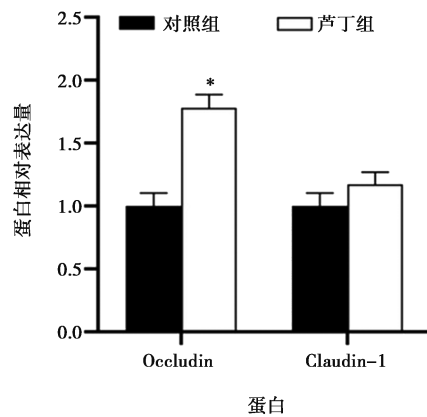


图 3 芦丁对断奶仔猪回肠黏膜紧密连接蛋白基因表达的影响 (n=8)



IL-6 mRNA 表达量 (P<0.05), 但对 NF-κB、IFN-γ、IL-1β、IL-4 和 IL-10 mRNA 表达量无显著影响 (P>0.05)。

### 2.6 芦丁对断奶仔猪回肠黏膜抗氧化相关基因表达的影响

如图 6 所示, 与对照组相比, 饲料添加 500 mg/kg 芦丁显著提高了回肠黏膜 SOD1 和 SOD2

mRNA 表达量 ( $P < 0.05$ ), 但对 Nrf2、Keap1、GCLC、GCLM、HO-1 和 GSH-Px mRNA 表达量无显著影响 ( $P > 0.05$ )。

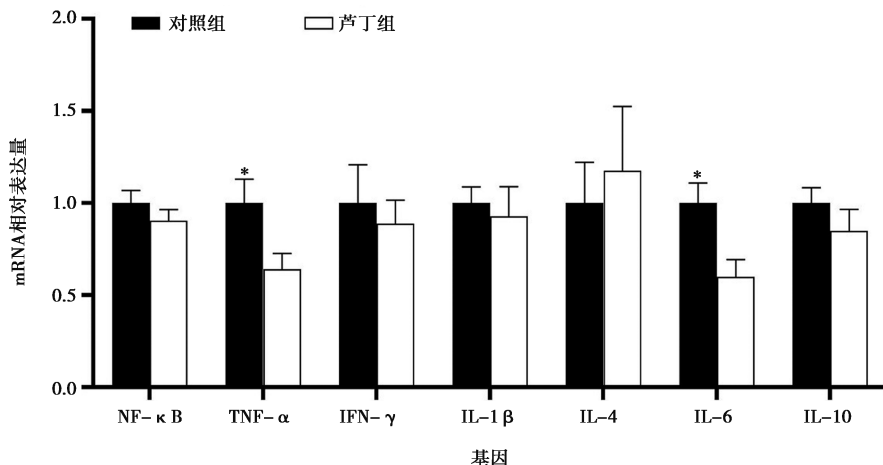


图 5 芦丁对断奶仔猪回肠黏膜炎症相关基因表达的影响 (n=8)

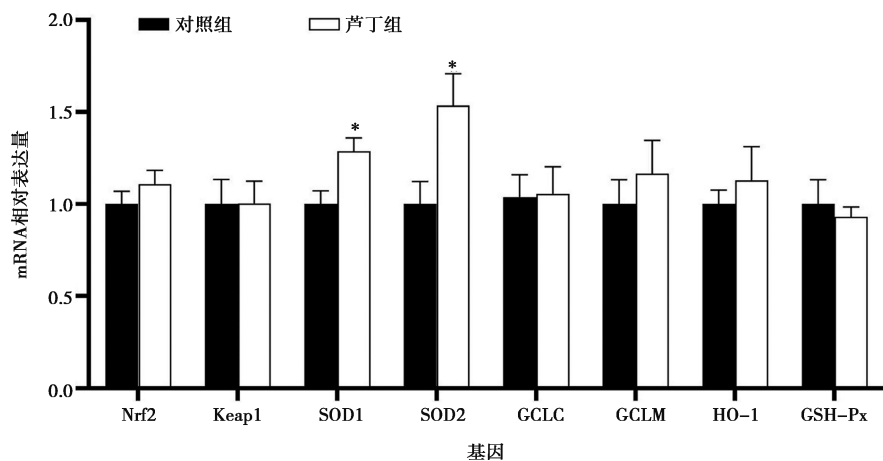


图 6 芦丁对断奶仔猪回肠黏膜抗氧化相关基因表达的影响 (n=8)

### 3 讨论

肠道形态结构在营养物质消化吸收中发挥重要作用, 仔猪早期断奶可导致肠道绒毛高度下降、肠道结构完整性受损等, 影响肠道内营养物质的消化吸收<sup>[15]</sup>。在饲料中添加生物活性物质是一种潜在的有效调控仔猪肠道健康、缓解早期断奶应激的方式。研究发现, 饲料添加番石榴叶提取物可提高断奶仔猪空肠绒毛高度和绒毛高度/隐窝深度, 改善肠道损伤<sup>[16]</sup>; Chen 等<sup>[17]</sup>通过对断奶仔猪空肠形态结构研究还发现饲料添加白藜芦醇可降低其隐窝深度并提高绒毛高度, 维护肠道健康。但本研究结果表明, 添加 500 mg/kg 芦丁对仔猪回肠绒毛高度、绒毛宽度、隐窝深度、绒毛面积等未产生显著影响, 提示饲料添加

芦丁未能显著改善回肠绒毛形态结构。而 500 mg/kg 芦丁显著增加了断奶仔猪回肠黏膜中 Bcl-2 mRNA 的表达量。Bcl-2 有抗凋亡效果, 是改善肠道形态结构的主要蛋白之一<sup>[18]</sup>。本试验中回肠黏膜形态结构未出现显著变化的原因可能是芦丁作用时间 (试验期仅 14 d) 或剂量不足, 后期有待进一步探讨其适宜添加剂量与时间。

肠屏障可阻止病原体透过肠黏膜组织进入机体, 有效保证机体健康。细胞间的紧密连接是肠屏障功能发挥的决定因素之一<sup>[19]</sup>。ZO-1 是一种紧密连接蛋白, Occludin 则是一种跨膜蛋白, 其蛋白表达水平降低或蛋白结构被破坏后, 黏膜通透性增加, 肠屏障功能下降, 腹泻率增加<sup>[20]</sup>。本试验结果表明, 芦丁可显著提高 ZO-1 和 Occludin mRNA 表达量, 并显著提

高了 Occludin 蛋白表达量,提示芦丁具有改善仔猪肠屏障的作用,进而减少仔猪腹泻。本试验结果与 Wang 等<sup>[21]</sup>的结果相似,他们发现饲料添加藤黄酚补充剂可显著提高肠道黏膜 ZO-1 和 Occludin mRNA 表达量和蛋白表达量,改善断奶仔猪肠屏障功能,降低仔猪腹泻。此外,添加大豆异黄酮也可增加 ZO-1 和 Occludin mRNA 表达量,缓解 LPS 引起的仔猪肠道屏障功能受损,缓解 LPS 诱导的仔猪腹泻<sup>[22]</sup>。

肠道中 TNF- $\alpha$  和 IL-6 等促炎细胞因子过量表达可引起肠道炎症、损伤,严重影响畜禽健康与生长<sup>[23-25]</sup>。本试验结果表明饲料添加 500 mg/kg 芦丁可显著降低断奶仔猪肠道 TNF- $\alpha$  和 IL-6 mRNA 表达水平,提示芦丁具有缓解断奶仔猪肠道炎症的潜力。与本试验结果相似, Qiu 等<sup>[26]</sup>也发现白藜芦醇可降低 TNF- $\alpha$  和 IL-6 等促炎因子的基因表达量,缓解脱氧雪腐镰刀菌烯醇引起的仔猪肠道炎症。此外,研究发现 TNF- $\alpha$  和 IL-6 的表达水平过高可导致肠道通透性增加、屏障功能受损<sup>[26]</sup>。本试验中饲料添加芦丁显著降低肠黏膜中 TNF- $\alpha$  和 IL-6 mRNA 表达的结果,与芦丁可显著增强仔猪黏膜屏障功能的结果一致。

仔猪早期断奶会诱导机体 ROS 大量产生,进而导致氧化应激,引起组织氧化损伤,甚至影响整个机体的功能<sup>[27]</sup>。研究发现,氧化应激可破坏肠道黏膜,引起肠道损伤,导致肠道屏障功能障碍,而提高肠道抗氧化可有效增强肠道屏障功能<sup>[28-29]</sup>,因此缓解氧化应激可能是改善仔猪断奶应激的重要靶点。CAT 是机体主要的抗氧化酶之一,MDA 是评价机体脂质过氧化的重要指标<sup>[30-31]</sup>。本试验结果表明芦丁显著提高了回肠黏膜上 CAT 活性,并有降低 MDA 含量的趋势,提示芦丁具有提高肠道抗氧化能力,缓解断奶仔猪氧化应激的效果。SOD1 和 SOD2 在消除过量 ROS 的防御系统中发挥重要作用<sup>[32]</sup>。Zhang 等<sup>[33]</sup>研究发现提高仔猪肠黏膜 SOD mRNA 水平可有效缓解肠道氧化应激。与其结果相似,本试验发现饲料添加芦丁显著提高了回肠黏膜 SOD1 与 SOD2 mRNA 水平,这与芦丁有降低 MDA 含量趋势的结果一致。研究发现氧化应激同样与细胞凋亡水平关系密切,体内大量产生的超氧阴离子、羟自由基等氧自由基可诱导细胞凋亡<sup>[34]</sup>。而 SOD 可通过去除超氧阴离子抑制细胞凋亡<sup>[35]</sup>。与其结果相似,本试验中芦丁在增强肠道抗氧化能力、缓解仔猪氧化应激的同时显著增加了抗凋亡基因 (Bcl-2 mRNA) 的表达水平。但饲料添加芦丁对仔猪回肠黏膜中 Nrf2 信号通路相关基因的表达水平未产生显著影响,提示饲料添加芦丁可能通过其他信号通路增强仔猪回肠抗氧化功能,但具体信号通

路仍需要进一步探索。

## 4 结论

饲料添加 500 mg/kg 芦丁可降低炎症反应 (TNF- $\alpha$  和 IL-6 mRNA 表达水平下降),改善断奶仔猪肠道屏障 (紧密连接蛋白与基因水平表达增强),这可能与抗氧化能力增加密切相关。此外,断奶仔猪饲料添加 500 mg/kg 芦丁虽然显著增加了回肠黏膜中 Bcl-2 mRNA 的表达水平,但未对肠道形态结构产生明显效果。

## 参考文献:

- [1] TAO S, ZOU H, LI J, et al. Landscapes of enteric virome signatures in early-weaned piglets [J]. *Microbiol Spectr*, 2022, 10 (4): e01698-22.
- [2] SPREEUWENBERG M A M, VERDONK J, GASKINS H R, et al. Small intestine epithelial barrier function is compromised in pigs with low feed intake at weaning [J]. *J Nutr*, 2001, 131 (5): 1520-1527.
- [3] BOUDRY G, PERON V, LE HUËROU-LURON I, et al. Weaning induces both transient and long-lasting modifications of absorptive, secretory, and barrier properties of piglet intestine [J]. *J Nutr*, 2004, 134 (9): 2256-2262.
- [4] VINDIGNI S M, ZISMAN T L, SUSKIND D L, et al. The intestinal microbiome, barrier function, and immune system in inflammatory bowel disease: a tripartite pathophysiological circuit with implications for new therapeutic directions [J]. *Therap Adv Gastroenterol*, 2016, 9 (4): 606-625.
- [5] LANDY J, RONDE E, ENGLISH N, et al. Tight junctions in inflammatory bowel diseases and inflammatory bowel disease associated colorectal cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22 (11): 3117-3126.
- [6] 张鹏光, 闫恩法, 王黎琦, 等. L-苹果酸对断奶仔猪炎症反应和肠道健康的影响 [J]. *畜牧兽医学报*, 2022, 53 (12): 4306-4314.
- [7] 刘慧娟, 王超, 周斌斌, 等. 饲料中添加芦丁对肉鸡回肠形态、免疫、抗氧化及屏障功能的影响 [J]. *畜牧兽医学报*, 2023, 54 (2): 630-641.
- [8] GANESHPURKAR A, SALUJA A K. The pharmacological potential of rutin [J]. *Saudi Pharm J*, 2017, 25 (2): 149-164.
- [9] CHEN S, LIU H, ZHANG J, et al. Effects of different levels of rutin on growth performance, immunity, intestinal barrier and antioxidant capacity of broilers [J]. *Italian J Anim Sci*, 2022, 21 (1): 1390-1401.
- [10] LI H, GU Y, JIN R, et al. Effects of dietary rutin supplementation on the intestinal morphology, antioxidant capacity, immunity, and microbiota of aged laying hens [J]. *Antioxidants*, 2022, 11 (9): 1843.
- [11] GAUTAM R, SINGH M, GAUTAM S, et al. Rutin attenuates intestinal toxicity induced by methotrexate linked with anti-oxidative and anti-inflammatory effects [J]. *BMC Complement Altern Med*,

- 2016, 16 (1): 1–6.
- [12] LI Y, ZHANG H, SU W, et al. Effects of dietary *Bacillus amyloliqu-uefaciens* supplementation on growth performance, intestinal morphology, inflammatory response, and microbiota of intra-uterine growth retarded weanling piglets [J]. *J Anim Sci Biotechnol*, 2018, 9 (1): 22.
- [13] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta C_T}$  method [J]. *Methods*, 2001, 25 (4): 402–408.
- [14] CHENG K, YU C, LI Z, et al. Resveratrol improves meat quality, muscular antioxidant capacity, lipid metabolism and fiber type composition of intrauterine growth retarded pigs [J]. *Meat Sci*, 2020, 170: 108237.
- [15] 程燕东, 胡天念, 殷桦娟, 等. 散养和圈养撒坝猪粪菌移植对小鼠生长性能、养分表观消化率和肠道形态结构的影响 [J]. *动物营养学报*, 2022, 34 (12): 8129–8137.
- [16] WANG D, ZHOU L, ZHOU H, et al. Chemical composition and protective effect of guava (*Psidium guajava* L.) leaf extract on piglet intestines [J]. *J Sci Food Agric*, 2021, 101 (7): 2767–2778.
- [17] CHEN X, ZENG Z, HUANG Z, et al. Effects of dietary resveratrol supplementation on immunity, antioxidative capacity and intestinal barrier function in weaning piglets [J]. *Anim Biotechnol*, 2021, 32 (2): 240–245.
- [18] REED J C, MIYASHITA T, TAKAYAMA S, et al. BCL-2 family proteins: regulators of cell death involved in the pathogenesis of cancer and resistance to therapy [J]. *J Cell Biochem*, 1996, 60 (1): 23–32.
- [19] SUZUKI T, HARA H. Role of flavonoids in intestinal tight junction regulation [J]. *J Nutr Biochem*, 2011, 22 (5): 401–408.
- [20] FURUSE M, HIRASE T, ITOH M, et al. Occludin – a novel integral membrane-protein localizing at tight junctions [J]. *J Cell Biol*, 1993, 123 (6): 1777–1788.
- [21] WANG T, YAO W, LI J, et al. Dietary garcinol supplementation improves diarrhea and intestinal barrier function associated with its modulation of gut microbiota in weaned piglets [J]. *J Anim Sci Biotechnol*, 2020, 11 (1): 1–13.
- [22] ZHU C, WU Y, JIANG Z, et al. Dietary soy isoflavone attenuated growth performance and intestinal barrier functions in weaned piglets challenged with lipopolysaccharide [J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 28 (1): 288–294.
- [23] FOSSUM C. Cytokines as markers for infections and their effect on growth performance and well-being in the pig [J]. *Domest Anim Endocrinol*, 1998, 15 (5): 439–444.
- [24] KALAHASTHI R, PRADYUONNA A, NARENDRAN P, et al. Evaluation of the relationship between pro-inflammatory cytokines and health hazards in workers involved in hazardous waste sites at Karnataka, India [J]. *J Res Health Sci*, 2010, 10 (1): 7–14.
- [25] HU C H, XIAO K, LUAN Z S, et al. Early weaning increases intestinal permeability, alters expression of cytokine and tight junction proteins, and activates mitogen-activated protein kinases in pigs [J]. *J Anim Sci*, 2013, 91 (3): 1094–1101.
- [26] QIU Y, NIE X, YANG J, et al. Effect of resveratrol supplementation on intestinal oxidative stress, immunity and gut microbiota in weaned piglets challenged with deoxynivalenol [J]. *Antioxidants*, 2022, 11 (9): 1775.
- [27] ZHU L H. Impact of weaning and an antioxidant blend on intestinal barrier function and antioxidant status in pigs [J]. *J Anim Sci*, 2013, 91 (3): 1522.
- [28] PI J, ZHANG Q, FU J, et al. ROS signaling, oxidative stress and Nrf2 in pancreatic beta-cell function [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2010, 244 (1): 77–83.
- [29] ULKER O C, PANIERI E, SUZEN S, et al. Short overview on the relevance of microRNA-reactive oxygen species (ROS) interactions and lipid peroxidation for modulation of oxidative stress-mediated signalling pathways in cancer treatment [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2022, 74 (4): 503–515.
- [30] ZHUANG Y, WU H, WANG X X, et al. Resveratrol attenuates oxidative stress-induced intestinal barrier injury through PI3K/Akt-mediated Nrf2 signaling pathway [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019 (12): 7591840.
- [31] 张佳琦, 熊玮, 黎智华, 等. 芦丁对断奶仔猪生长、肠道抗氧化及脂代谢的影响 [J]. *南京农业大学学报*, 2022, 45 (2): 368–376.
- [32] XIAO Y, HUANG R, WANG N, et al. Ellagic acid alleviates oxidative stress by mediating Nrf2 signaling pathways and protects against paraquat-induced intestinal injury in piglets [J]. *Antioxidants*, 2022, 11 (2): 252.
- [33] ZHANG H, CHEN Y, CHEN Y, et al. Comparison of the protective effects of resveratrol and pterostilbene against intestinal damage and redox imbalance in weanling piglets [J]. *J Anim Sci Biotechnol*, 2020, 11 (1): 1–16.
- [34] KANNAN K, JAIN S K. Oxidative stress and apoptosis [J]. *Pathophysiology*, 2000, 7 (3): 153–163.
- [35] BRIEHL M M, BAKER A F. Modulation of the antioxidant defence as a factor in apoptosis [J]. *Cell Death Differ*, 1996, 3 (1): 63–70.