

子宫内膜炎患牛唾液生化变化的初步研究

李蕊, 马玉忠, 李睿文, 汪恩强*

(河北农业大学动物医学院, 河北 保定 071000)

摘要: [目的] 探究子宫内膜炎患牛唾液生物标志物特点, [方法] 研究收集试验组子宫内膜炎患牛和对照组健康奶牛唾液, 针对所选 10 种生物标志物使用相关试剂盒在自动生化分析仪上进行检测, 并将所得数据进行对比分析。[结果] 相比健康奶牛, 子宫内膜炎患牛唾液生物标志物的升高项为 α 唾液淀粉酶、皮质醇、乳酸和尿酸, 而腺苷脱氨酶、乙酰胆碱酯酶水平、pH 值、钠钾比则下降明显。[结论] 说明应激、炎症和氧化应激在患子宫内膜炎奶牛体内的存在, 营养状况略受影响。

关键词: 唾液; 牛子宫内膜炎; 淀粉酶; 皮质醇; 钠钾比

中图分类号: S823

文献标识码: A

文章编号: 1001-9111(2020)03-0016-03

唾液是龈沟液、黏膜渗出液、唾液腺腺泡超渗液的混合体, 由口腔腺体分泌产生, 具有清洁、杀菌、排泄等多种功能^[1]。最新科研成果表明, 唾液成分的变化与机体病理生理状态密切相关, 唾液成分的变化可以作为疾病发生时的提示信息^[2], 帮助临床进行疾病诊断和对病理情况的掌控。并由于其采集方式较方便易行, 非侵入性采集的方法可以减少对动物体的伤害, 使其在越来越多的应用于临床的同时, 也具有广泛的使用前景。

目前, 在对牛唾液的研究中, 已经有对发热过程中急性相蛋白和氧化应激标记物的变化的初步研究^[3], 但是还没有在以子宫内膜炎为模型下对奶牛唾液生物标准物变化的研究。子宫内膜炎是由于饲养卫生条件差, 营养缺乏, 激素分泌异常, 病原微生物感染等因素导致的疾病, 严重危害奶牛的生产繁殖性能, 是阻碍畜牧业发展的重要产科疾病, 给我国畜牧养殖业带来巨大经济损失。所以本试验以子宫内膜炎奶牛为模型, 观察在炎症发生时奶牛唾液生物标志物的变化, 评价应激、炎症和氧化应激在奶牛炎症反应中所选择的唾液生物标志物的可能变化。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验动物 试验奶牛选自保定唐县某牛场, 选取三胎次奶牛 40 头, 分为试验组和对照组, 每组

20 头。试验组为 20 头典型性临床型子宫内膜炎患牛, 对照组为 20 头健康奶牛。两组奶牛均每日清早未进食前收集唾液, 每日饲喂 2 次, 饲喂时间为 8:00 和 17:00, 饲料精粗比 1:4, 自由饮水。

1.1.2 主要试剂 唾液淀粉酶试剂盒、腺苷脱氨酶试剂盒、溶菌酶检测试剂盒, 均购自南京建成生物工程研究所; 皮质醇试剂盒, 购自上海瓦兰生物科技有限公司; 总抗氧化能力试剂盒, 购自上海酶联生物科技有限公司; 尿酸检测试剂盒、乳酸检测试剂盒、乙酰胆碱酯酶试剂盒, 均购自北京索莱宝科技有限公司; 酸度计, 购自北京赛多利斯科学仪器有限公司。

1.1.3 主要仪器 PF640 火焰光度计, 购自上海仪电科学仪器股份有限公司。

1.2 方法

1.2.1 试验动物选取 按照奶牛子宫内膜炎诊断方法, 依据临床症状与发情情况以及直肠检查结果进行确诊, 选取 20 头典型性临床型子宫内膜炎患牛作为试验组奶牛。为排除奶牛患隐形子宫内膜炎可能性的干扰, 选择 30 头未见临床型子宫内膜炎特征的奶牛, 无菌采集子宫分泌物, 进行致病菌分离培养、革兰氏染色、镜检, 选取 20 头未分离培养出致病菌的健康奶牛作为对照组。

1.2.2 试验动物样品采集 将奶牛头部保定, 试验人员佩戴无菌长臂手套伸出牛舌, 使唾液自然流出, 用 50 mL 离心管收集, 并编号, 放入冰盒低温保存,

收稿日期: 2020-01-20 修回日期: 2020-01-23

基金项目: 河北省科技计划重点研发项目“河北科技攻关计划”(19226611D)

作者简介: 李蕊(1996—), 女, 硕士研究生, 主要从事兽医临床研究。

* 通讯作者: 汪恩强(1965—), 男, 河南商丘人, 教授, 主要从事兽医临床研究。

迅速送回试验室进行检测。

1.2.3 各标志物测定 按照相关试剂盒指示步骤进行检测的项目有:α 唾液淀粉酶、皮质醇、腺苷脱氨酶、乙酰胆碱酯酶、溶菌酶、总抗氧化能力、pH 值、总蛋白含量、乳酸和尿酸含量。所有分析均在自动生化分析仪上进行。钠钾比的检测使用 PF640 型火焰光度计。

1.2.4 数据统计分析 根据表格数据,对数据进行初步分析。使用统计学软件 SPSS 20.0 对各标志物前后变化数据进行处理, $P < 0.01$ 时表示差异极显著, $P < 0.05$ 时表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 试验动物情况

选取的试验动物分为试验组($n = 20$)和对照组($n = 20$),各组奶牛具体情况对比见表 1。两组试验动物平均年龄均为 4 岁,平均胎次均为 3 胎;产后天数相差较小;两组试验奶牛中难产头数差异明显,试验组难产头数为 16 头,而对照组健康奶牛中难产头数为 2 头;两组试验奶牛胎衣不下头数差异明显,试验组为 14 头,对照组为 1 头,两组数据进行对比分析,差异极显著($P < 0.01$)。

表 1 试验组和对照组奶牛信息对比

奶牛信息	试验组($n = 20$)	对照组($n = 20$)	P
年龄	4(3~5)	4(3~5)	0.81
胎次/次	3	3	0.77
产后天数/d	11(3~19)	9(2~16)	0.56
难产头数/头	16	2	< 0.01
胎衣不下头数/头	14	1	< 0.01

2.2 各标志物测定结果

对照组($n = 20$)与试验组($n = 20$)奶牛唾液被检生物标志物及其结果见表 2 和表 3,表 2 数据均为总体样本平均数。结果表明:在被检测的各项唾液生化指标中,试验组与对照组两组数据对比,差异极显著($P < 0.01$)的生化指标为胆碱酯酶,差异显

著($P < 0.05$)的生化指标为乳酸。相比对照组,试验组的升高项生化指标为尿酸、皮质醇、乳酸、唾液淀粉酶,下降项生化指标为 pH 值、胆碱酯酶、抗氧化性、腺苷脱氨酶及总蛋白。由表 3 可知,相比对照组,试验组子宫内膜炎患牛钠钾比含量有所下降。

表 2 对照组与试验组奶牛唾液各项生物标志物变化情况

生物标志物	对照组	试验组	P
pH 值	7.8~8.4	7.3~8.0	0.26
胆碱酯酶/($\text{nmol} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$)	25.6 ± 6.32	12.9 ± 6.89	< 0.01
抗氧化性/mm	0.061 ± 0.04	0.049 ± 0.035	0.21
尿酸/($\text{mg} \cdot \text{dL}^{-1}$)	0.11 ± 0.03	0.14 ± 0.027	0.07
皮质醇/($\text{mg} \cdot \text{dL}^{-1}$)	0.51 ± 0.15	0.77 ± 0.22	0.11
乳酸/($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	0.84 ± 0.11	1.15 ± 0.27	< 0.05
唾液淀粉酶/($\text{IU} \cdot \text{L}^{-1}$)	2.93 ± 0.57	4.17 ± 0.44	0.14
腺苷脱氨酶/($\text{IU} \cdot \text{L}^{-1}$)	24.9 ± 12.5	20.2 ± 12.1	0.23
总蛋白/($\text{mg} \cdot \text{dL}^{-1}$)	215.4 ± 55.9	209.1 ± 58.3	0.86

表 3 对照组和试验组奶牛唾液中钠钾比对比

处理	n	Na/($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	K/($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	Na/K
对照组	20	82.31 ± 19.27	15.92 ± 11.33	5.17
试验组	20	63.49 ± 22.34	14.63 ± 14.46	4.34

3 结 论

研究收集试验组子宫内膜炎患牛和对照组健康奶牛唾液,针对所选 10 种生物标志物使用相关试剂盒在自动生化分析仪上进行检测,并将所得数据进行对比分析,得出结论,被测各项指标中,相比对照组健康奶牛,试验组子宫内膜炎患牛的升高项为尿

酸、皮质醇、乳酸、唾液淀粉酶,下降项生化指标为 pH 值、胆碱酯酶、抗氧化性、腺苷脱氨酶及总蛋白,钠钾比下降 0.83,说明钠营养状况受到该病影响。

4 讨 论

尿酸一直被认为是一种抗氧化化合物,唾液中尿酸含量的增加可以体现机体在子宫内膜炎过程中

产生了氧化应激反应^[3]。据报道称,唾液中的尿酸含量可作为诊断代谢综合征的潜在生物标志物^[4],子宫内膜炎患牛唾液尿酸含量的上升,可以提示奶牛患病后机体的代谢功能受到一定的影响。

唾液淀粉酶和皮质醇含量上升,可以体现交感神经和肾上腺素的激活^[3]。皮质醇可作为人类临床上很多内分泌腺体异常的辅助诊断,唾液淀粉酶的升高和降低可作为慢性胰腺炎的诊断依据,同时人类对内毒素的反应也可以引起唾液淀粉酶的含量升高。而在炎症当中,唾液淀粉酶的增加则可能是炎症症状使唾液腺交感神经受到了刺激和激活^[5]。

前有报道称,炎症和氧化应激病例中都会出现乳酸增加的现象,可能是由于氧债或低氧灌注导致的厌氧糖酵解^[3]。应急反应的激活也可以导致乳酸含量升高,尤其是肾上腺素系统的激活,会导致厌氧糖酵解^[6]。

在试验组的数据当中笔者发现胆碱酯酶活性的降低。人类的胆碱酯酶的降低后多出现乙酰胆碱过剩而聚集,引起胆碱能兴奋过度,类似有机磷中毒的现象^[7]。目前还没有对动物炎症情况下胆碱酯酶活性降低原因的相关研究和报道,该部分还需要深入试验和探讨。

腺苷脱氨酶也是试验组奶牛唾液指标的降低项之一。它是一种与机体细胞免疫活性有重要关系的核酸代谢酶,也是反应肝脏损伤的明显指标^[8],同时炎症的发生是引起肝脏损伤的诱因之一,这可能意味着患子宫内膜炎奶牛唾液的腺苷脱氨酶与炎症反应和肝损伤之间存在着某些相关性,有待进一步研究。

总蛋白和钠钾比的降低主要提示炎症奶牛有营养不良的现象出现。人类唾液总蛋白含量降低多提示肝脏、肾脏病变,营养不良及慢性消耗病^[9],也是抑制口腔龋齿发病的一项内容^[10],但炎性奶牛唾液总蛋白含量的降低及其原因,至今未见过相关报道。据有效记载,反刍动物唾液中离子浓度 Na 和 K 之

比是反映动物体内 Na 营养状况的最佳指标。部分学者认为绵羊唾液钠钾比应不小于 10,另外反刍动物唾液钠钾比只有达到 4,才能算是 Na 营养缺乏^[11]。因此,澳大利亚制定的反刍动物饲养标准指出:反刍动物腮腺唾液 Na/K 小于 5 则为钠营养缺乏;在比值 5~14 之间为临界范围;比值大于 14,则表明钠营养状况良好^[12]。本试验当中的试验组奶牛钠钾比为 4.34,比对照组奶牛有所降低,按照澳大利亚反刍动物饲养标准的规定来看,属于钠营养缺乏的范畴。因此,在子宫内膜炎奶牛的饲养过程中,有必要有针对性地对蛋白和钠做出适当补充。

参考文献:

- [1] 程兴群,周学东,徐欣.唾液的诊断应用研究[J].华西口腔医学杂志,2016,34(6):647-653.
- [2] 封建凯,李杰.唾液在临床疾病诊断中的研究进展[J].医学综述,2012,18(21):3594-3596.
- [3] CONTRERAS-AGUILAR M D, MONKEVICIENE I, CERON J J, et al. Biochemical changes in saliva of cows with inflammation: A pilot study[J]. Vet. Res., 2019, 124:383-386.
- [4] 杨健,严开斌,张立平.代谢综合征患者唾液尿酸测定的意义[J].临床检验杂志,2014,32(10):761-762.
- [5] KULLMANN J S, GRIGOLEIT J S, LICHT P, et al. Neural response to emotional stimuli during experimental human endotoxemia[J]. Human Brain Mapping, 2013, 34(9):2217-2227.
- [6] GARCIA-ALVAREZ M, MARIK P, BELLOMO R. Stress hyperlactataemia: Present understanding and controversy[J]. Lancet Diabetes Endocrinology, 2014, 2(4):339-347.
- [7] 蓝继雄.有机磷农药中毒“反跳”现象的观察[J].中外健康文摘,2011,8(4):363-364.
- [8] 方倩,李兴武,梅传忠.腺苷脱氨酶的临床价值及其应用进展[J].现代肿瘤医学,2014,22(2):476-478.
- [9] 彭容.慢性肾脏病蛋白能量消耗发生机制及干预进展[J].国际泌尿系统杂志,2017,37(3):471-474.
- [10] 张来虎,汪月月.唾液钙和总蛋白与龋齿的关系[J].国际口腔医学杂志,1997,24(1):48-49.
- [11] 刘宝汉,王海明.互助县山羊唾液中 5 种无机离子浓度的测定[J].青海畜牧兽医杂志,2005,35(3):13-14.
- [12] 张才俊,康承伦,董永森,等.青海省环湖地区绵羊钠和钾营养状况的研究[J].青海大学学报(自然科学版),1998,16(增刊):9-12.

A Preliminary Study on the Biochemical Changes of Saliva in Cows with Endometritis

LI Rui, MA Yu-zhong, LI Rui-wen, WANG En-qiang*

(Hebei Agricultural University, Baoding, Hebei 071000)

Abstract: [Objective] To explore the characteristics of saliva biomarkers in cattle with endometritis, [Methods] the saliva of cows with endometritis in the experimental group and healthy cows in the control group was collected in this study, and the 10 selected biomarkers were detected on the automatic biochemical analyzer with relevant kits, and the obtained data were compared and analyzed. [Results] Compared with healthy cows, the increased salivary biomarkers of endometritis were salivary amylase, cortisol, lactic acid and uric acid, while the levels of adenosine deaminase, acetylcholinesterase, pH value and sodium-potassium ratio decreased significantly. [Conclusion] It was suggested that stress, inflammation and oxidative stress existed in cows with endometritis, and the nutritional status of sodium was slightly affected.

Key words: saliva; bovine endometritis; amylase; cortisol; potassium sodium ratio