

磺胺二甲氧嘧啶钠对斑点叉尾鲴血清生化指标和组织的影响

杨晓 张娟 陈加平 熊善柏

华中农业大学食品科技学院/湖北省水产品加工工程技术研究中心/
国家大宗淡水鱼加工技术研发分中心(武汉), 武汉 430070

摘要 采用灌喂方法,研究不同剂量磺胺二甲氧嘧啶钠(SMS)100、200、400 mg/kg对斑点叉尾鲴门冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、碱性磷酸酶(ALP)、乳酸脱氢酶(LDH)、肌酐(CRE)、尿素(UREA)等血清生化指标以及肝脏和肾脏组织的影响。结果表明:连续灌药5 d后,对照组与给药组斑点叉尾鲴血清中的AST、ALT、ALP、LDH和UREA均无显著性变化,按400 mg/kg体质量给药组的肌酐存在显著性变化($P < 0.05$)。连续灌药10 d后,与对照组相比,给药组AST、ALT、ALP、LDH、CRE、UREA均有显著性变化。SMS可导致肝细胞核溶解或细胞溶解,肾脏肾小管上皮细胞局部坏死,且浓度越高,损害越大。试验表明,100 mg/kg的剂量对斑点叉尾鲴在较长时间的使用过程中毒副作用较小,在5 d内使用是安全的;200 mg/kg的剂量在较短时间内使用是安全的,但是不能长时间使用,否则会对肝脏及肾脏造成损伤;而高剂量的400 mg/kg对斑点叉尾鲴在较短时间内仍具有较大的毒副作用,表现在肾脏上的损伤。

关键词 磺胺二甲氧嘧啶钠; 斑点叉尾鲴; 血清; 组织切片; 血清生化指标

中图分类号 S 948 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2012)01-0112-04

磺胺类药物是具有对氨基苯磺酰胺结构的一类物质,具有抗菌谱广、抗菌作用强、价格低廉且容易获得等特点,在预防和治疗细菌性疾病时有一定的疗效^[1],一直被广泛应用于水产养殖动物疾病的防治^[2-3]。斑点叉尾鲴由于易患细菌性疾病,磺胺类药物也用于对其进行预防和治疗,如磺胺嘧啶、磺胺甲基嘧啶等用于治疗斑点叉尾鲴肠型败血症^[3]。

磺胺类药物进入动物体内后能广泛分布于动物全身,代谢产物特别是氧化产物可以发生全身毒性反应,如随着磺胺嘧啶的给药水平增高及给药时间延长,甲鱼肾脏的颜色呈现病变样的灰白色^[4]。磺胺类药物还能导致猪肾脏的肾小球囊腔扩张、血管球萎缩等^[5]。因此,深入研究磺胺类药物对斑点叉尾鲴生理生化以及组织的影响,对制定药物使用剂量和用药周期标准以及提高养殖水产品的质量是十分必要的。本文以斑点叉尾鲴为研究对象,采用灌喂方法,研究不同剂量磺胺二甲氧嘧啶钠(SMS)100、200、400 mg/kg对斑点叉尾鲴门冬氨酸氨基转

移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、碱性磷酸酶(ALP)、乳酸脱氢酶(LDH)、肌酐(CRE)、尿素(UREA)等血清生化指标以及肝脏和肾脏组织的影响,从而为SMS对斑点叉尾鲴进行治疗时的使用剂量提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

斑点叉尾鲴(*Ictalurus punctatus*),购于农副产品市场,体质量为 (200 ± 20) g/尾。试验前暂养5 d。暂养及试验过程中投喂斑点叉尾鲴专用饲料,24 h不间断充氧。磺胺二甲氧嘧啶钠(SMS)购于张家港市爱华化工有限公司,纯度为99%;斑点叉尾鲴专用饲料购于武汉海大饲料厂。试验共分2个平行,水族箱8个($97 \text{ cm} \times 77 \text{ cm} \times 67 \text{ cm}$),其中对照组2箱,3个试验组每组2箱,每箱10尾。室内常温,水温 $21 \sim 24$ °C,充氧泵24 h持续充氧,利用虹吸管吸出残饵及粪便。每天09:00和17:00各换

收稿日期: 2011-04-24

基金项目: 湖北省自然科学基金(2009CDB230)和现代农业产业技术体系建设专项资金(nycytx-49-23)

杨晓,硕士研究生。研究方向: 水产品及品质控制。E-mail: yangyang_327319@163.com

通讯作者: 陈加平,博士,副教授。研究方向: 水产品加工及品质控制。E-mail: chenjp@mail.hzau.edu.cn

水 1 次,每次换水 1/3,保持水质的清洁。

1.2 试验方法

1)毒性试验。试验分为 4 组,对照组斑点叉尾鲷按体质量灌喂不含 SMS 的蒸馏水。试验组每天按体质量分别进行食道人工灌喂 100、200、400 mg/kg 的 SMS 溶液。在给药后第 5 天和第 10 天用注射器经尾部取血,处理之后用于血液生化指标的测定。

2)血清生化指标的测定。将血液用 1%肝素钠抗凝后,在冷冻离心机中 4℃ 4 000 r/min 离心 10 min,取出血清在 -80℃ 下保存。AST、ALT、ALP、LDH、CRE、UREA 采用中生北控生物科技股份有限公司生产的相应试剂盒测定,测定方法参照试剂盒上的说明进行。在全自动生化分析仪中检测血清中各项指标。酶活用 U/L 表示。

3)组织切片的制作。将斑点叉尾鲷解剖,取出肝脏和后肾,组织固定于波恩氏液中,苏木精染色法染色。

1.3 数据分析

用 Microsoft Office(Excel)对数据进行处理,用 SPSS 软件对各组与对照组之间结果进行显著性分析, $P<0.05$ 为差异显著。

2 结果与分析

2.1 SMS 对血清生化指标的影响

鱼体的血清生化指标是反映鱼体健康状况的重

要指标,也是诊断和检测疾病的依据^[1]。通过检测血清生化指标,可以初步判断鱼体的健康状况或者正在使用的药物的副作用。给斑点叉尾鲷灌喂 SMS 5 d 后取血清,测定其血清生化指标,其结果见表 1。由表 1 可知,对照组与给药组斑点叉尾鲷血清中的 AST、ALT、ALP、LDH 和 UREA 均无显著性变化,对照组与按 400 mg/kg 体质量给药组的 CRE 存在显著性变化($P<0.05$)。由此可见,给斑点叉尾鲷灌喂 SMS 5 d 后,对肝脏组织无显著的影响。高剂量给药时对肾脏有一定的影响。给斑点叉尾鲷灌喂 SMS 10 d 后取血清,测定其血清生化指标,其结果见表 2。由表 2 可知,对照组与给药组斑点叉尾鲷血清中的 AST、ALT、ALP、LDH、UREA 和 CRE 均有显著性变化。由此可见,给斑点叉尾鲷灌喂 SMS 10 d 后,对肝脏和肾脏组织均有显著的影响。按体质量 400 mg/kg 给药组的血清生化指标除 ALP 稍高于按体质量 200 mg/kg 给药组,ALT、AST 和 CRE 比按体质量 200 mg/kg 给药组的要低,而 LDH 和 UREA 与按体质量 200 mg/kg 给药组无明显差别。

2.2 SMS 对斑点叉尾鲷肝脏和肾脏组织的影响

给斑点叉尾鲷灌喂磺胺二甲氧嘧啶钠后第 10 天剖解鱼体,观察其组织病理变化,发现部分给药后的斑点叉尾鲷肠道内有大量的淡黄色澄清的液体,肝脏颜色不均匀,胆囊充盈肿大,消化道无食糜。斑

表 1 以不同剂量给药 5 d 后斑点叉尾鲷血清生化指标的变化¹⁾

Table 1 Effects of sulfadimethoxine sodium on biochemical parameters in serum of channel catfish

| 血清生化指标 Serum biochemical parameters | 对照组 Control | 100 mg/kg | 200 mg/kg | 400 mg/kg |
|--|----------------|----------------|----------------|----------------|
| ALT/(U/L) | 32.29±6.34 a | 34.29±5.99 a | 35.00±5.19 a | 32.86±5.49 a |
| AST/(U/L) | 327.94±10.12 a | 332.70±14.56 a | 287.16±10.95 a | 312.11±8.17 a |
| ALP/(U/L) | 52.50±5.93 a | 48.50±5.78 a | 47.70±5.38 a | 51.90±6.33 a |
| LDH-L/(U/L) | 355.43±24.05 a | 407.43±25.24 a | 323.43±13.03 a | 429.00±14.35 a |
| UREA/(mmol/L) | 1.04±0.23 a | 1.31±0.35 a | 1.14±0.36 a | 1.21±0.23 a |
| CRE/(μmol/L) | 59.06±5.51 a | 67.11±6.96 ab | 67.02±7.25 ab | 70.87±7.10 b |

1)同行字母不同者表示差异显著, $P<0.05$,下同。Different letter following number show significantly different ($P<0.05$). The same as below.

表 2 以不同剂量给药 10 d 后鲷鱼血清生化指标的变化

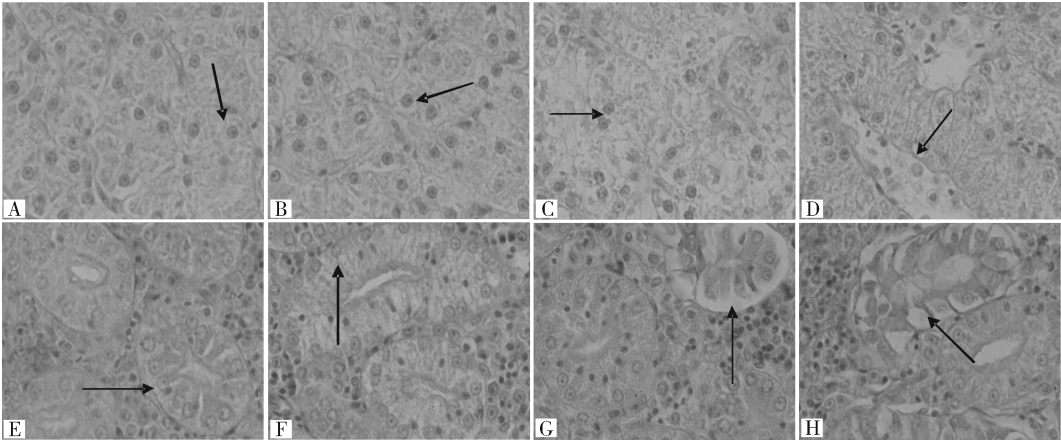
Table 2 Effects of sulfadimethoxine sodium on biochemical parameters in serum of channel catfish

| 血清生化指标 Serum biochemical parameters | 对照组 Control | 100 mg/kg | 200 mg/kg | 400 mg/kg |
|--|----------------|----------------|----------------|----------------|
| ALT/(U/L) | 16.83±3.37 a | 37.00±7.82 b | 37.33±5.19 b | 27.00±2.68 c |
| AST/(U/L) | 189.24±7.73 a | 292.48±5.79 ab | 360.35±6.54 b | 200.47±9.14 a |
| ALP/(U/L) | 45.00±2.39 a | 39.33±3.01 ab | 44.17±6.90 b | 49.00±7.10 ab |
| LDH-L/(U/L) | 252.83±16.42 a | 536.83±16.99 b | 588.33±18.65 b | 587.50±14.37 b |
| UREA/(mmol/L) | 0.74±0.23 a | 1.01±0.34 b | 1.08±0.11 b | 1.10±0.12 b |
| CRE/(μmol/L) | 53.22±2.21 a | 63.73±7.23 b | 64.28±2.86 b | 53.77±3.74 a |

点叉尾鲷肝脏组织切片见图 1-A、B、C、D。从图中可知,对照组肝脏组织结构清晰,细胞膜界限清晰,每一细胞有一细胞核,较圆,多位于细胞的中央,如图 1-A 中箭头所示。按 100 mg/kg 体质量给药的斑点叉尾鲷肝脏组织没有明显的变化,如图 1-B 中箭头所示,与对照组中细胞类似。按 200 mg/kg 体质量给药的斑点叉尾鲷肝脏组织局部有些变化,表现为细胞膜界限逐渐模糊,细胞形状变得不规则,有的细胞膜消失,细胞核偏离细胞中心,聚集在一起,如图 1-C 中所示。按 400 mg/kg 体质量给药的斑点叉尾鲷肝脏组织局部坏死,表现为肝细胞的核溶

解或细胞溶解,如图 1 中箭头所示。

斑点叉尾鲷肾脏组织切片见图 1-E、F、G、H。从图中可知,对照组肾小管上皮细胞结构清晰,分界较清楚,细胞核圆形,位于细胞中部,排列整齐,如图 1 中箭头所示。按 100 mg/kg 体质量给药的斑点叉尾鲷肾小管中的细胞核向外发生偏移,如图 1 中箭头所示。按 200 mg/kg 体质量给药的斑点叉尾鲷肾小管局部有些变化,表现为肾小管上皮细胞出现空泡变性,如图 1 中箭头所示。按 400 mg/kg 体质量给药的斑点叉尾鲷肾小管上皮细胞局部坏死,表现为细胞内发生核溶解脱落等,如图 1 中箭头所示。



A:对照组的肝脏细胞 The liver cells in the control group;B,C,D:按体质量给药 100、200、400 mg/kg 剂量的肝脏细胞 The liver cells after administered according to the weight 100、200、400 mg/kg;E:对照组的肾小管 The renal tubule in the control group;F,G,H:按体质量给药 100、200、400 mg/kg 剂量的肾小管 The renal tubule after administered according to the weight 100、200、400 mg/kg.

图 1 4 种不同给药剂量对肝脏细胞(A、B、C、D)、肾小管(E、F、G、H)的影响(×400)

Fig.1 The effect of drug at 4 different doses on the liver cells and the renal tubule(×400)

3 讨 论

在正常情况下血清中酶的活性较低,但是当心脏、肝脏等器官受到损伤时,酶会大量地释放到血液中,组织内的酶活性将降低,血清中酶活会升高^[6]。巩华等^[7]研究表明给鲤投喂恩诺沙星和氯霉素后,其血液中的 ALT、ALP、非蛋白氮和 CRE 均高于对照组,说明药物已对肝脏和肾脏造成了损伤。陈寅儿等^[8]报道鲈鱼患病后血液中 AST、ALT、LDH 和 ALP 酶活上升,表明鱼体肝脏组织受损,引起了血液中的酶活上升。上述报道与本试验结果相一致,本试验结果表明 3 个剂量组在较短时间对鱼体的毒副作用较小。长时间用较高剂量的药物能对鱼体肝脏产生影响,肝脏组织切片验证了该结果,肾病初期时血液中 CRE 的含量通常不增加,直到肾脏受到实质性损害时才会明显升高^[9]。周玉等^[10]报道欧

洲鳊鲈患“狂游病”后,血液中的酶活显著升高,认为是肝脏组织受到了损伤引起的,患病鱼体血液中的尿素氮、CRE 含量均比对照组高,说明肾脏存在一定的损伤。本试验中,给药 5 d 之后,高剂量能够在短期内对肾脏造成实质性的损害,而在给药 10 d 之后,100、200 mg/kg 组,CRE 显著高于对照组,说明在较长时间里较低剂量的 SMS 也能对肾脏造成实质性损伤,这与肾脏组织切片观察结果一致。从病理组织学观察推测,肝脏是药物的代谢器官,当药物大量存在时会对肝脏造成损害。大量磺胺结晶沉积影响尿液的生成和排出,从而影响肾脏组织。同时结晶对肾小管上皮细胞的机械刺激也会造成细胞变性、细胞膜破裂和脱落等^[11]。综上所述,100 mg/kg 的剂量对斑点叉尾鲷在较长时间的使用过程中毒副作用较小,在 5 d 内使用是安全的;200 mg/kg 的剂量在较短时间使用是安全的,但是不能长时间使

用,否则会对肝脏及肾脏造成损伤;而高剂量的 400 mg/kg 对斑点叉尾鲷在较短时间内仍具有较大的毒副作用,表现在肾脏上的损伤。

参 考 文 献

[1] 蒋定国,杨大进,王竹天,等. 畜禽肌肉、内脏及虾中磺胺二甲嘧啶残留量的检测技术研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2003, 15 (6):492-495.

[2] 艾晓辉,陈正望. 磺胺二甲嘧啶在银鲫体内的药动学及组织残留研究[J]. 淡水渔业, 2001, 31(6):52-54.

[3] 农业部《新编渔药手册》编撰委员会. 新编渔药手册[M]. 北京: 中国农业出版社, 2005.

[4] 李雪梅. 土霉素和磺胺甲恶唑在三种淡水鱼体内的药动学和残留研究[D]. 重庆:西南师范大学生命科学学院, 2005.

[5] 齐新永,孙泉云,刘佩红,等. 磺胺类药物对猪肾脏损害的病理学观察[J]. 中国兽药杂志, 2007, 41(3):24-26.

[6] 陈秀荣,罗宇良,曾令兵,等. 氧氟喹酮对草鱼肝微粒体 CYP3A 活性的影响[J]. 华中农业大学学报, 2010, 29(6):768-771.

[7] 巩华,李华,于毅,等. 恩诺沙星对鲤酯酶同工酶和血清生理生化指标的影响[J]. 大连水产学院学报, 2005, 20(1):29-33.

[8] 陈寅儿,金珊,王国良. 鲈鱼溶藻弧菌病的血液生理生化指标研究[J]. 台湾海峡, 2005, 24(1):104-108.

[9] 李伟,谭妮. 病原菌感染对鲫鱼乳酸脱氢酶(LDH)活性的影响[J]. 安徽农学通报, 2009, 15(12):25-26.

[10] 周玉,郭文场,杨振国,等. 欧洲鳗鲡“狂游病”血液生化指标研究[J]. 水生生物学报, 2002, 26(3):116-118.

[11] VANVLEET J F, FERRANS V J. Ultrastructural myocardial alterations in monensin toxicosis of cattle[J]. American Journal of Veterinary Research, 1983, 44(9):1629-1636.

Effects of sulfadimethoxine sodium on serum
biochemical parameters and the structure of liver and kidney
in channel catfish (*Ictalurus punctatus*)

YANG Xiao ZHANG Juan CHEN Jia-ping XIONG Shan-bai

College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University/Aquatic Product
Engineering and Technolgy Research Center of Hubei Province/National R &D Branch
Center For Conventional Freshwater Fish Processing (Wuhan), Wuhan 430070, China

Abstract Effects of dose administration(perfused at 100,200,400 mg/kg)of sulfadimethoxine sodium on the serum biochemical parameters including aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkalinephoshatase (ALP), lactate dehydrogenase (LDH), creatinine (CRE) and urea (UREA), and the structure of liver and kidney of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) were studied. No differences were found in the activities of AST, ALT, ALP, LDH and the content of UREA between the control group and the treated groups after consecutively perfused for 5 days. But the content of CRE increased significantly at the dose of 400 mg/kg. After consecutively perfused for 10 days, the activities of AST, ALT, ALP and LDH, and the contents of CRE and UREA changed obviously among the groups. From the tissue slices of liver and kidney in the 10th day, the livers and kidneys were damaged by SMS, inducing the cell lysis of liver and epithelial cell of tubular necrosed, and the higher the concentration, the greater the damage. Therefore, after long-term use of 100 mg/kg SMS, there was less toxic and side effects, and it was safe in 5 days. The dose of 200 mg/kg SMS was safe in a short time, otherwise the structure of liver and kidney would be damaged. The high dose of SMS had toxic damage on the structure of kidney in a short time.

Key words sulfadimethoxine sodium; channel catfish; serum; tissue slice; serum biochemical parameters

(责任编辑:陆文昌)