

马钱苷对脓毒症大鼠炎症反应及肠道屏障损伤的影响^Δ

王 灿^{1,2*}, 李岩涛^{1,2}, 周 正^{2,3}, 王璐鹏^{2,4}, 高媛媛^{2,5}, 范少希^{2,6#} (1. 河北省中医院重症医学科, 石家庄 050011; 2. 河北中医药大学临床医学院, 石家庄 050011; 3. 河北省中医院药学部, 石家庄 050011; 4. 河北省中医院血管外科, 石家庄 050011; 5. 河北省中医院产科, 石家庄 050011; 6. 河北省中医院感染控制科, 石家庄 050011)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2025)05-0574-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2025.05.12



摘要 **目的** 探讨马钱苷通过调节Ras同源基因家族成员A(RhoA)/Rho相关卷曲螺旋形成蛋白激酶1(ROCK1)信号通路对脓毒症大鼠炎症反应及肠道屏障损伤的影响及机制。**方法** 采用盲肠结扎和穿刺法建立脓毒症大鼠模型,并随机分为脓毒症组、马钱苷低剂量组(50 mg/kg 马钱苷,灌胃)、马钱苷高剂量组(200 mg/kg 马钱苷,灌胃)、阳性对照组(0.2 mg/kg 阿托伐他汀,腹腔注射)、马钱苷高剂量+溶血磷脂酸(LPA)组(200 mg/kg 马钱苷,灌胃+10 mg/kg RhoA激活剂LPA,腹腔注射),另设假手术组,每组10只,每6 h给药1次,连续给药4次。末次给药24 h后,检测大鼠血清中炎症因子白细胞介素6(IL-6)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、IL-1 β 水平;观察大鼠回肠组织病理学变化并进行Chiu's肠黏膜损伤评分;检测大鼠回肠组织中D-乳酸、D-氨基酸氧化酶(DAO)、内毒素水平,闭锁小带蛋白(ZO-1)、闭锁蛋白(Occludin)阳性染色面积百分比以及RhoA、ROCK1的蛋白相对表达水平。**结果** 与脓毒症组比较,马钱苷低剂量组、马钱苷高剂量组大鼠的ZO-1、Occludin阳性染色面积百分比均显著升高,IL-6、TNF- α 、IL-1 β 、DAO、D-乳酸、内毒素水平和Chiu's肠黏膜损伤评分以及RhoA、ROCK1蛋白的相对表达水平均显著降低($P<0.05$),大鼠回肠组织的破坏程度得到缓解,组织水肿及炎性浸润均明显减轻,且马钱苷高剂量组的改善效果均优于马钱苷低剂量组($P<0.05$);与马钱苷高剂量组比较,RhoA激活剂LPA可显著逆转上述指标的变化趋势($P<0.05$)。**结论** 马钱苷能减轻脓毒症大鼠炎症反应及肠道屏障损伤,其机制与抑制RhoA/ROCK1信号通路有关。

关键词 马钱苷;脓毒症;RhoA/ROCK1信号通路;炎症反应;肠道屏障损伤

Effects of loganin on inflammatory response and intestinal barrier damage in septic rats

WANG Can^{1,2}, LI Yantao^{1,2}, ZHOU Zheng^{2,3}, WANG Lupeng^{2,4}, GAO Yuanyuan^{2,5}, FAN Shaoxi^{2,6} (1. Dept. of Critical Care Medicine, Hebei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang 050011, China; 2. Clinical Medical College, Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050011, China; 3. Dept. of Pharmacy, Hebei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang 050011, China; 4. Dept. of Vascular Surgery, Hebei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang 050011, China; 5. Dept. of Obstetrics, Hebei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang 050011, China; 6. Dept. of Infection Control, Hebei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang 050011, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To investigate the effects of loganin on inflammatory response and intestinal barrier damage in septic rats by regulating the Ras homolog gene family member A (RhoA)/Rho-associated coiled-coil forming protein kinase 1 (ROCK1) signaling pathway. **METHODS** A sepsis rat model was established by cecal ligation and puncture, and randomly divided into sepsis group, loganin low-dose group (50 mg/kg loganin, gavage), loganin high-dose group (200 mg/kg loganin, gavage), positive control group (0.2 mg/kg atorvastatin, intraperitoneal injection), and loganin high-dose + lysophosphatidic acid (LPA) group (200 mg/kg loganin gavage and intraperitoneal injection of 10 mg/kg RhoA activator LPA). An additional sham surgery group was established. Each group consisted of 10 rats, and medications were administered once every 6 hours for 4 times. After 24 hours of the last intervention, the levels of serum inflammatory factors interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- α (TNF- α), and IL-1 β were detected. The pathological changes of ileal tissue were observed and Chiu's intestinal mucosal injury score was also performed. The levels of intestinal function-lactate dehydrogenase (D-lactate), D-amino acid oxidase (DAO) and endotoxin, the percentages of zonula occludens-1 protein (ZO-1) and Occludin positive staining area, as well as protein expressions of RhoA, and ROCK1 were all detected. **RESULTS** Compared with the sepsis group, the percentages

^Δ 基金项目 河北省中医药类科研计划课题(No. 2022065, No. 2020103)

* 第一作者 讲师。研究方向:重症医学。E-mail: mga829@163.com

通信作者 讲师。研究方向:感染控制。E-mail: lkrc06@163.com

of ZO-1 and Occludin positive areas increased significantly in loganin low-dose and high-dose groups; while the levels of IL-6, TNF- α , IL-1 β , DAO, D-lactate and endotoxin, Chiu's intestinal mucosal injury score as well as protein expressions of RhoA and ROCK1 decreased significantly ($P<0.05$); the destruction of rat ileal tissue was alleviated, and tissue edema and inflammatory infiltration were significantly reduced; moreover, the improvement effect in loganin high-dose group was superior to that in loganin low-dose group ($P<0.05$). Compared with loganin high-dose group, RhoA activator LPA reversed the trend of changes in the above indicators ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** Loganin can alleviate inflammatory response and intestinal barrier damage in septic rats, the mechanism of which may be associated with inhibiting RhoA/ROCK1 signaling pathway.

KEYWORDS loganin; sepsis; RhoA/ROCK1 signaling pathway; inflammatory response; intestinal barrier damage

脓毒症是宿主对感染的异常反应引发的危重疾病,进展迅速且死亡率高,可导致多器官功能障碍,已成为公认的全球健康问题,且尚无特异性疗法。脓毒症可引发肠道屏障损伤进而发生细菌易位,加剧全身炎症反应,并导致多器官功能障碍^[1],因此关注肠道屏障损伤是治疗脓毒症的关键。肠道屏障功能的完整性可以通过上皮紧密连接蛋白的表达来评估,Ras同源基因家族成员A(Ras homolog gene family member A,RhoA)/Rho相关卷曲螺旋形成蛋白激酶1(Rho-associated coiled-coil forming protein kinase 1,ROCK1)信号通路已被证明在调节肠道细胞间紧密连接中起关键作用^[2],同时也被证实脓毒症急性肺损伤等并发症中发挥着调控作用^[3]。马钱苷是一种具有强大药理作用的环烯醚萜类化合物,研究表明,通过其抗炎、抗凋亡作用可明显改善烧伤后引发的肠道屏障损伤和肠道功能障碍,发挥肠道保护作用^[4]。但马钱苷是否通过调节RhoA/ROCK1信号通路来改善脓毒症大鼠的肠道屏障损伤尚不可知。本研究通过建立脓毒症大鼠模型,旨在探讨马钱苷对脓毒症大鼠炎症反应、肠道屏障损伤的影响及其潜在机制。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括Multiskan MK3型酶标仪(美国Thermo Scientific公司);DM4B型光学显微镜(德国Leica公司);Enduro GDS型凝胶成像系统(北京兰博康科技有限公司)。

1.2 主要药品与试剂

马钱苷对照品(纯度99.7%,批号yb-2148)购自成都普瑞法科技开发有限公司;RhoA激活剂溶血磷脂酸(lysophosphatidic acid,LPA;批号SAB2107510)购自美国Sigma公司;阿托伐他汀对照品(纯度98.0%,批号T3116)购自南京赛泓瑞生物科技有限公司;白细胞介素1 β (interleukin-1 β ,IL-1 β)试剂盒(批号27193)购自深圳市科润达生物工程有限公司;内毒素试剂盒(批号SBJR0392)、山羊血清(批号SBJ012)均购自南京森贝伽生物科技有限公司;D-乳酸试剂盒、D-氨基酸氧化酶(D-amino acid oxidase,DAO)试剂盒、鼠源闭锁小带蛋白(zonula occludens-1,ZO-1)抗体、鼠源闭锁蛋白(Occludin)抗体、鼠源RhoA抗体、鼠源ROCK1抗体(批号依次

为ab197004、ab273325、ab307799、ab216327、ab187027、ab134181)均购自英国Abcam公司;IL-6试剂盒(批号QN-PS1726)购自上海岑特生物科技有限公司;肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α ,TNF- α)试剂盒(批号ER006)购自上海吉泰依科赛生物科技有限公司。

1.3 实验动物

SPF级大鼠,雄性,体重(190 $\pm$ 20)g,购自广州明迅生物科技有限责任公司,实验动物生产许可证号为SCXK(粤)2024-0070。大鼠在无特异性病原体的标准环境中适应性喂养1周,自由摄食、饮水。本研究通过河北中医药大学实验动物管理和伦理委员会批准(编号:DWLL202306019)。

2 方法

2.1 脓毒症大鼠模型的制备及干预

大鼠禁食8h后,按照随机数字表法分为造模组($n=50$)及假手术组($n=10$)。造模组大鼠腹腔注射30mg/kg戊巴比妥钠进行麻醉,采用盲肠结扎和穿刺法建立脓毒症模型^[5]。假手术组大鼠接受相同的手术,不包括盲肠结扎和穿刺。术后监测大鼠平均动脉压,当平均动脉压下降30%,提示脓毒症大鼠模型构建成功。将造模成功的大鼠随机分为脓毒症组、马钱苷低剂量组、马钱苷高剂量组、阳性对照组、马钱苷高剂量+LPA组,每组10只。马钱苷低、高剂量组大鼠分别灌胃50、200mg/kg的马钱苷^[6];阳性对照组大鼠腹腔注射0.2mg/kg的阿托伐他汀^[7];马钱苷高剂量+LPA组大鼠灌胃200mg/kg的马钱苷,并腹腔注射10mg/kg的LPA^[8];脓毒症组和假手术组大鼠灌胃与马钱苷等体积的生理盐水,每6h给药1次,连续给药4次。

2.2 血清炎症因子指标分析

末次给药24h后,麻醉并处死各组大鼠,从其心脏抽取血液,并以3000 $\times$ g离心15min,取上清液,用酶联免疫吸附测定试剂盒测定IL-6、TNF- α 、IL-1 β 水平。

2.3 回肠组织病理学变化观察

对各组大鼠血液收集完毕后,分离其回肠组织,取部分组织用4%多聚甲醛固定、石蜡包埋,制成切片(5 μ m),经脱蜡、脱水后,行苏木精和伊红染色,用光学显微镜观察回肠组织病理学变化,依据组织学损伤变化进行Chiu's肠黏膜损伤评分^[9]。

2.4 回肠组织中肠功能指标的检测

取“2.3”项下各组大鼠的回肠组织,以5 000×g离心10 min进行匀浆,取上清液,用酶联免疫吸附法检测肠道黏膜屏障功能指标DAO、D-乳酸及内毒素的水平。

2.5 回肠组织中ZO-1、Occludin的阳性表达检测

取“2.3”项下各组大鼠的回肠组织切片,常规脱蜡并用梯度乙醇水合,用抗原修复溶液,冷却后,滴加山羊血清封片,随后加入ZO-1、Occludin抗体(稀释比例分别为1:1 000、1:2 000),在4℃下孵育过夜;次日加入相应二抗(稀释比例为1:5 000),室温避光孵育2 h后,以DAB显色、苏木精再染色、梯度乙醇脱水、二甲苯透明和中性树脂封片,用显微镜观察ZO-1、Occludin的阳性染色面积。采用Image J软件计算阳性染色面积百分比。

2.6 回肠组织中RhoA、ROCK1的蛋白表达检测

取“2.3”项下各组大鼠的回肠组织,提取总蛋白,于98℃水浴中煮沸10 min进行变性,经电泳分离并湿法转膜后加入脱脂牛奶,封闭过夜,次日加入RhoA、ROCK1、 β -肌动蛋白(β -actin)抗体(稀释比例均为1:1 000),在4℃下孵育过夜;洗膜后,次日加入相应二抗(稀释比例为1:200),室温孵育1.5 h;使用Super ECL试剂盒呈色,采用凝胶成像系统和Image J软件分析,以目的蛋白与内参蛋白的灰度值比值表示目的蛋白的相对表达水平。

2.7 统计学分析

使用SPSS 27.0软件分析数据。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用SNK-*q*检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 马钱苷对大鼠血清中IL-6、TNF- α 、IL-1 β 水平的影响

与假手术组比较,脓毒症组大鼠血清中IL-6、TNF- α 、IL-1 β 水平均显著升高($P<0.05$);与脓毒症组比较,马钱苷低、高剂量组和阳性对照组大鼠血清中IL-6、TNF- α 、IL-1 β 水平均显著降低($P<0.05$),且马钱苷高剂量组显著低于马钱苷低剂量组($P<0.05$);与马钱苷高剂量组比较,马钱苷高剂量+LPA组大鼠血清中IL-6、TNF- α 、IL-1 β 水平均显著升高($P<0.05$)。结果见表1。

表1 各组大鼠血清中IL-6、TNF- α 、IL-1 β 水平比较($\bar{x} \pm s, n=10, \text{pg/mL}$)

组别	IL-6	TNF- α	IL-1 β
假手术组	59.21 $\pm$ 6.03	25.63 $\pm$ 2.59	38.52 $\pm$ 3.92
脓毒症组	124.25 $\pm$ 12.58 ^a	68.52 $\pm$ 6.94 ^a	95.61 $\pm$ 9.63 ^a
马钱苷低剂量组	86.52 $\pm$ 8.72 ^b	47.64 $\pm$ 4.81 ^b	67.52 $\pm$ 6.81 ^b
马钱苷高剂量组	62.05 $\pm$ 6.22 ^{bc}	26.85 $\pm$ 2.73 ^{bc}	42.06 $\pm$ 4.22 ^{bc}
阳性对照组	61.34 $\pm$ 6.19 ^{bc}	26.53 $\pm$ 2.71 ^{bc}	42.75 $\pm$ 4.31 ^{bc}
马钱苷高剂量+LPA组	87.15 $\pm$ 8.76 ^d	48.06 $\pm$ 4.83 ^d	66.85 $\pm$ 6.71 ^d

a:与假手术组比较, $P<0.05$;b:与脓毒症组比较, $P<0.05$;c:与马钱苷低剂量组比较, $P<0.05$;d:与马钱苷高剂量组比较, $P<0.05$ 。

3.2 马钱苷对大鼠回肠组织病理学的影响

假手术组大鼠回肠组织无坏死、水肿等现象,组织

结构完整;脓毒症组大鼠回肠组织绒毛排列紊乱,黏膜下间质水肿及炎性浸润显著,组织破坏严重,Chiu's肠黏膜损伤评分[(5.17 $\pm$ 0.53)分]较假手术组(0分)显著升高($P<0.05$);与脓毒症组比较,马钱苷低、高剂量组和阳性对照组大鼠回肠组织的破坏程度得到缓解,组织水肿及炎性浸润均明显减轻,Chiu's肠黏膜损伤评分[分别为(3.34 $\pm$ 0.37)、(2.06 $\pm$ 0.22)、(2.18 $\pm$ 0.23)分]均显著降低($P<0.05$);与马钱苷高剂量组比较,马钱苷高剂量+LPA组大鼠回肠组织损伤加重,Chiu's肠黏膜损伤评分[(3.42 $\pm$ 0.36)分]显著升高($P<0.05$)。结果见图1。

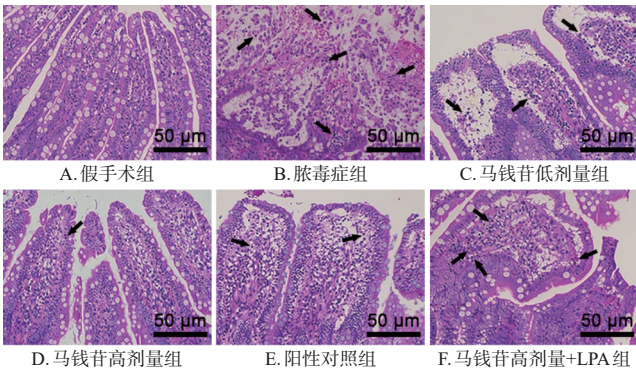


图1 各组大鼠回肠组织病理学变化的显微图(苏木精和伊红染色)

3.3 马钱苷对大鼠回肠组织中DAO、D-乳酸及内毒素水平的影响

与假手术组比较,脓毒症组大鼠回肠组织中DAO、D-乳酸及内毒素水平均显著升高($P<0.05$);与脓毒症组比较,马钱苷低、高剂量组和阳性对照组大鼠回肠组织中DAO、D-乳酸及内毒素水平均显著降低,且马钱苷高剂量组显著低于马钱苷低剂量组($P<0.05$);与马钱苷高剂量组比较,马钱苷高剂量+LPA组大鼠回肠组织中DAO、D-乳酸及内毒素水平均显著升高($P<0.05$)。结果见表2。

表2 各组大鼠回肠组织中DAO、D-乳酸及内毒素水平比较($\bar{x} \pm s, n=10, \text{pg/mL}$)

组别	DAO	D-乳酸	内毒素
假手术组	67.85 $\pm$ 6.82	578.36 $\pm$ 58.06	51.06 $\pm$ 5.19
脓毒症组	128.61 $\pm$ 12.92 ^a	978.64 $\pm$ 98.11 ^a	93.08 $\pm$ 9.37 ^a
马钱苷低剂量组	90.05 $\pm$ 9.08 ^b	764.37 $\pm$ 76.57 ^b	70.54 $\pm$ 7.10 ^b
马钱苷高剂量组	69.05 $\pm$ 7.08 ^{bc}	582.45 $\pm$ 58.34 ^{bc}	52.16 $\pm$ 5.31 ^{bc}
阳性对照组	68.49 $\pm$ 6.91 ^{bc}	586.27 $\pm$ 58.76 ^{bc}	52.03 $\pm$ 5.27 ^{bc}
马钱苷高剂量+LPA组	89.76 $\pm$ 9.06 ^d	759.86 $\pm$ 76.02 ^d	69.86 $\pm$ 7.06 ^d

a:与假手术组比较, $P<0.05$;b:与脓毒症组比较, $P<0.05$;c:与马钱苷低剂量组比较, $P<0.05$;d:与马钱苷高剂量组比较, $P<0.05$ 。

3.4 马钱苷对大鼠回肠组织中ZO-1、Occludin阳性表达的影响

与假手术组比较,脓毒症组大鼠回肠组织中ZO-1、Occludin阳性染色面积百分比均显著降低($P<0.05$);与脓毒症组比较,马钱苷低、高剂量组和阳性对照组大鼠回肠组织中ZO-1、Occludin阳性染色面积百分比均显著

升高,且马钱苷高剂量组显著高于马钱苷低剂量组($P<0.05$);与马钱苷高剂量组比较,马钱苷高剂量+LPA组大鼠回肠组织中ZO-1、Occludin阳性染色面积百分比均显著降低($P<0.05$)。结果见图2、图3、表3。

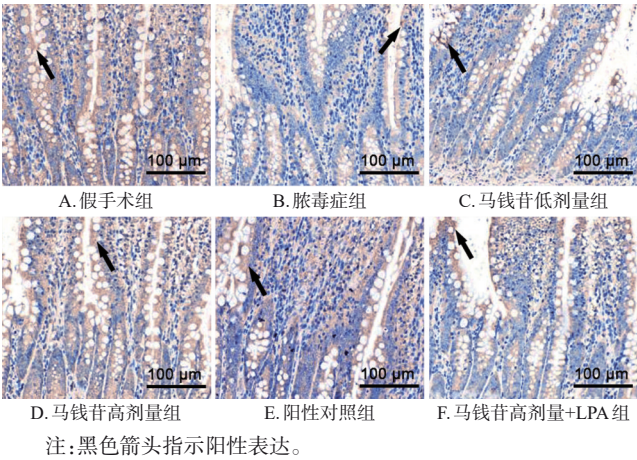


图2 各组大鼠回肠组织中ZO-1阳性表达的显微图

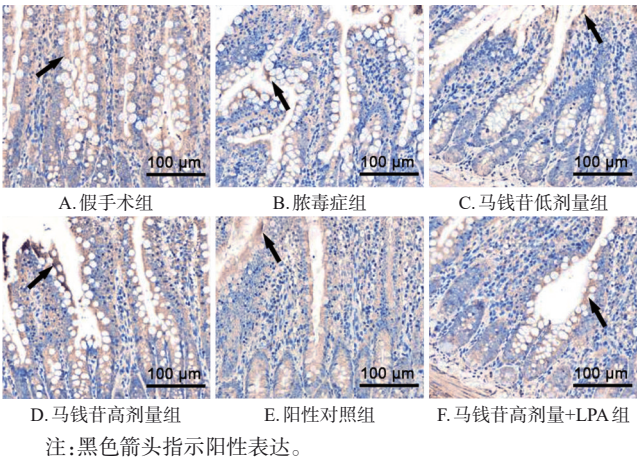


图3 各组大鼠回肠组织中Occludin阳性表达的显微图

表3 各组大鼠回肠组织中ZO-1、Occludin阳性染色面积百分比比较($\bar{x} \pm s, n=10, \%$)

组别	ZO-1	Occludin
假手术组	24.57±2.51	22.61±2.33
脓毒症组	8.61±0.91 ^a	7.64±0.81 ^a
马钱苷低剂量组	15.64±1.61 ^b	13.52±1.39 ^b
马钱苷高剂量组	22.08±2.28 ^{bc}	21.06±2.15 ^{bc}
阳性对照组	22.19±2.31 ^{bc}	20.54±2.11 ^{bc}
马钱苷高剂量+LPA组	15.34±1.59 ^d	13.28±1.39 ^d

a: 与假手术组比较, $P<0.05$; b: 与脓毒症组比较, $P<0.05$; c: 与马钱苷低剂量组比较, $P<0.05$; d: 与马钱苷高剂量组比较, $P<0.05$ 。

3.5 马钱苷对大鼠回肠组织中RhoA、ROCK1蛋白表达的影响

与假手术组比较,脓毒症组大鼠回肠组织中RhoA、ROCK1蛋白的相对表达水平均显著升高($P<0.05$);与脓毒症组比较,马钱苷低、高剂量组和阳性对照组大鼠回肠组织中RhoA、ROCK1蛋白的相对表达水平均显著降低,且马钱苷高剂量组显著低于马钱苷低剂量组($P<0.05$);与马钱苷高剂量组比较,马钱苷高剂量+LPA组大

鼠回肠组织中RhoA、ROCK1蛋白的相对表达水平均显著升高($P<0.05$)。结果见图4、表4。

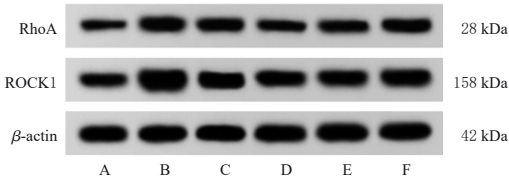


图4 各组大鼠回肠组织中RhoA、ROCK1蛋白表达的电泳图

表4 各组大鼠回肠组织中RhoA、ROCK1蛋白的相对表达水平比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	RhoA/β-actin	ROCK1/β-actin
假手术组	0.26±0.03	0.53±0.06
脓毒症组	0.81±0.09 ^a	1.43±0.15 ^a
马钱苷低剂量组	0.59±0.06 ^b	0.89±0.09 ^b
马钱苷高剂量组	0.31±0.04 ^{bc}	0.68±0.07 ^{bc}
阳性对照组	0.37±0.04 ^{bc}	0.62±0.07 ^{bc}
马钱苷高剂量+LPA组	0.52±0.06 ^d	0.82±0.09 ^d

a: 与假手术组比较, $P<0.05$; b: 与脓毒症组比较, $P<0.05$; c: 与马钱苷低剂量组比较, $P<0.05$; d: 与马钱苷高剂量组比较, $P<0.05$ 。

4 讨论

在脓毒症发生期间,机体炎症反应急剧增加,释放大量炎症因子,大量细菌和内毒素进入血液,加剧炎症反应并加速随后器官损伤的过程。肠道是受脓毒症影响的第一个器官。肠黏膜的完整性被破坏,会导致肠道屏障功能受损,引起宿主的过度炎症反应,诱发全身炎症反应综合征,而全身炎症反应综合征会再次损害肠道,两者互为因果、相互促进,最终造成脓毒症及多器官功能障碍^[10-11]。TNF-α在脓毒症的发病机制中起关键作用,IL-1β、IL-6则能启动脓毒症级联反应并反映炎症反应程度^[12]。本研究通过盲肠结扎和穿刺法建立脓毒症大鼠模型,结果显示,与假手术组比较,脓毒症组大鼠血清中IL-6、TNF-α、IL-1β水平均显著升高,回肠组织损伤严重,Chiu's评分显著升高,表明炎症反应可引发肠黏膜的损害。DAO是哺乳动物肠道黏膜中的一种高浓度酶,D-乳酸是肠道细菌的一种代谢产物,是肠道黏膜病变和屏障功能的敏感标志物^[13]。本研究结果显示,与假手术组比较,脓毒症组大鼠回肠组织中DAO、D-乳酸、内毒素水平均显著升高,提示脓毒症大鼠肠道屏障受损,此时迫切需要能调控该并发症的药物以改善疗效。

马钱苷具有抗炎、抗氧化等活性,对某些炎症性疾病具有明显的治疗作用,如结肠炎、严重烧伤引发的肠道损伤等^[4]。本研究结果显示,马钱苷能显著改善大鼠的炎症反应、肠道指标及组织损伤,与阳性对照药阿托伐他汀的改善效果无明显差异。这提示马钱苷可能对脓毒症引发的肠道损伤具有改善作用。

细胞间紧密连接对维持和调节肠道屏障功能具有重要性。Occludin、ZO-1是肠黏膜中紧密连接蛋白的成员, Occludin影响细胞间物质的通透性, ZO-1可结合多

种细胞骨架蛋白,二者在维持肠黏膜屏障功能方面至关重要^[14]。RhoA是Rho家族蛋白的一员,是细胞信号转导的转导分子之一,而ROCK1是RhoA的主要下游信号分子。Rho/ROCK1信号通路会影响细胞骨架及其紧密连接,进而改变肠黏膜屏障的通透性,在维持肠黏膜屏障完整性中发挥重要作用^[15]。本研究结果显示,与假手术组比较,脓毒症组大鼠回肠组织中RhoA、ROCK1蛋白的相对表达水平均显著升高,ZO-1、Occludin阳性染色面积百分比均显著降低,提示激活RhoA/ROCK1信号通路可能影响脓毒症大鼠的肠道屏障功能;但经马钱苷干预后,大鼠回肠组织中RhoA、ROCK1蛋白的相对表达水平均显著降低,ZO-1、Occludin阳性染色面积百分比均显著升高,推断马钱苷对脓毒症引发的肠道损伤具有改善作用,这可能与抑制RhoA/ROCK1信号通路有关。为了验证上述推断,本研究还将RhoA激活剂LPA纳入实验,设置了马钱苷高剂量+LPA组,结果显示,LPA可显著逆转高剂量马钱苷对脓毒症致肠道损伤的改善作用,提示马钱苷可通过降低RhoA/ROCK1信号通路的活性来减轻脓毒症大鼠肠道屏障损伤及炎症反应。

综上所述,马钱苷可减轻脓毒症大鼠炎症反应和肠道屏障损伤,其机制与抑制RhoA/ROCK1信号通路有关。但由于脓毒症并发肠道屏障损伤的发病机制复杂,具有多方面的发病机制及通路,因此后续实验将针对其他机制进行进一步的研究。

参考文献

- [1] LIU X, LIU Y W, SU X Y, et al. Geranylgeranylacetone mitigates sepsis-associated intestinal injury through CHIP-dependent anti-inflammation and anti-oxidative effect[J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 135: 112263.
- [2] HUANG B Y, WANG J J, GU A X, et al. Zearalenone-induced mechanical damage of intestinal barrier via the RhoA/ROCK signaling pathway in IPEC-J2 cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(20): 12550.
- [3] 吴清松, 饶平, 符史健, 等. 脓毒症急性肺损伤患者RhoA/ROCK1和NF- κ B/NLRP3信号通路及其下游信号分子的变化[J]. *中华医院感染学杂志*, 2022, 32(19): 2886-2890.
WU Q S, RAO P, FU S J, et al. Changes in RhoA/ROCK1 and NF- κ B/NLRP3 signaling pathways and downstream signaling molecules in patients with sepsis induced acute lung injury[J]. *Chin J Hospital Infect*, 2022, 32(19): 2886-2890.
- [4] YUAN J H, CHENG W P, ZHANG G Y, et al. Protective effects of iridoid glycosides on acute colitis via inhibition of the inflammatory response mediated by the STAT3/NF- κ B pathway[J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 81: 106240.
- [5] 曾静, 杨舒雅, 钱娴静, 等. 藤黄酸对脓毒症大鼠肠道损伤的保护作用[J]. *南昌大学学报(医学版)*, 2024, 64(2): 23-27, 34.
ZENG J, YANG S Y, QIAN X J, et al. Effect of gambogic acid on intestinal injury in septic rats[J]. *J Nanchang Univ Med Sci*, 2024, 64(2): 23-27, 34.
- [6] 温海玲, 孟祥熙, 杨景哲, 等. 马钱苷通过内质网应激途径抑制烧伤大鼠肠上皮细胞凋亡发挥肠黏膜结构保护作用的机制[J]. *实用医学杂志*, 2022, 38(11): 1353-1358.
- WEN H L, MENG X X, YANG J Z, et al. Loganin inhibits the apoptosis of intestinal epithelial cells in burned rats and protects the intestinal mucosal structure through the ERS pathway[J]. *J Pract Med*, 2022, 38(11): 1353-1358.
- [7] 陈卫, 杨丽, 华丽, 等. 不同浓度人参总皂苷对脓毒症大鼠肺组织细胞凋亡、免疫球蛋白及bFGF蛋白的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2024, 44(8): 1917-1921.
CHEN W, YANG L, HUA L, et al. Effects of different concentrations of ginsenoside on apoptosis, immunoglobulin and bFGF protein in lung tissue of septic rats[J]. *Chin J Gerontol*, 2024, 44(8): 1917-1921.
- [8] 张涛, 毛治尉, 豆倩云, 等. 基于RhoA/ROCK通路探讨赤芍总苷对心肌梗死大鼠心肌凋亡的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2023, 43(5): 1138-1142.
ZHANG T, MAO Z W, DOU Q Y, et al. Effect of total glucosides of paeony on myocardial apoptosis in rats with myocardial infarction based on RhoA/ROCK pathway[J]. *Chin J Gerontol*, 2023, 43(5): 1138-1142.
- [9] CHIU C J, MCARDLE A H, BROWN R, et al. Intestinal mucosal lesion in low-flow states. I. A morphological, hemodynamic, and metabolic reappraisal[J]. *Arch Surg*, 1970, 101(4): 478-483.
- [10] ZHU L, DOU Z M, WU W, et al. Ghrelin/GHSR axis induced M2 macrophage and alleviated intestinal barrier dysfunction in a sepsis rat model by inactivating E2F1/NF- κ B signaling[J]. *Can J Gastroenterol Hepatol*, 2023, 2023: 1629777.
- [11] CAO Y Y, WANG Z H, PAN Y J, et al. The dual effects of dexmedetomidine on intestinal barrier and intestinal motility during sepsis[J]. *Surgery*, 2024, 176(2): 379-385.
- [12] LEI X Z, TENG W B, FAN Y, et al. The protective effects of HIF-1 α activation on sepsis induced intestinal mucosal barrier injury in rats model of sepsis[J]. *PLoS One*, 2022, 17(5): e0268445.
- [13] 李国臣, 王为为, 田正云, 等. 调理中焦气机法对脓毒症大鼠肠道屏障损伤及炎症因子的影响[J]. *中国中医急症*, 2022, 31(10): 1713-1716, 1721.
LI G C, WANG W W, TIAN Z Y, et al. Effects of conditioning Zhongjiao Qi mechanism on intestinal barrier damage and inflammatory factors in septic rats[J]. *J Emerg Tradit Chin Med*, 2022, 31(10): 1713-1716, 1721.
- [14] LIU X F, ZHU H Q. Curcumin improved intestinal epithelial barrier integrity by up-regulating ZO-1/Occludin/claudin-1 in septic rats[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022, 2022: 2884522.
- [15] ZHANG X Y, ZHAO H M, LIU Y, et al. Sishen pill maintained colonic mucosal barrier integrity to treat ulcerative colitis via Rho/ROCK signaling pathway[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 2021: 5536679.

(收稿日期:2024-09-30 修回日期:2025-02-24)

(编辑:邹丽娟)