

姜黄素通过抑制脓毒症大鼠肠上皮细胞凋亡 保护肠黏膜屏障功能

何丹¹ 邱敏珊² 王珊³ 尹海燕³

¹ 衡阳市妇幼保健院麻醉科, 湖南衡阳 421001; ² 东莞市第一人民医院重症医学科, 广东东莞 523000; ³ 暨南大学附属第一医院重症医学科, 广东广州 510220

通信作者: 尹海燕, Email: yinhaiyan1867@126.com

【摘要】 目的 观察姜黄素对脓毒症大鼠肠上皮细胞凋亡的影响及肠黏膜屏障的保护作用。**方法** 选择 87 只 3 月龄雄性 SD 大鼠, 按随机数字表法分为假手术组、模型组、姜黄素组, 每组 29 只。采用盲肠结扎穿孔术 (CLP) 复制脓毒症大鼠模型; 术后 10 min 假手术组和模型组经腹腔注射二甲亚砷 4 mL, 姜黄素组经腹腔注射姜黄素 200 mg/kg (用 4 mL 二甲亚砷溶解)。每组随机取其中 15 只大鼠, 于术后 2、12、24 h 采血, 用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测血清降钙素原 (PCT)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、D-乳酸、二胺氧化酶 (DAO) 含量; 术后 12 h、24 h 取大鼠回肠组织, 计算回肠组织含水率, 并在光镜下观察大鼠回肠组织的病理学变化; 采用原位末端标记法 (TUNEL) 检测回肠上皮细胞凋亡情况; 同时观察每组剩余 14 只大鼠术后 7 d 的存活情况。**结果** 与假手术组比较, 模型组术后各时间点 PCT、TNF- α 、D-乳酸、DAO 含量均升高, PCT、TNF- α 含量于术后 2 h 起与假手术组出现统计学差异 [PCT ($\mu\text{g/L}$): 1.89 ± 0.17 比 0.10 ± 0.02 , TNF- α (ng/L): 216.51 ± 1.47 比 85.25 ± 8.20 , 均 $P < 0.01$], 而 D-乳酸、DAO 含量于术后 12 h 起与假手术组出现统计学差异 [D-乳酸 (mg/L): 40.53 ± 7.76 比 11.29 ± 1.28 , DAO (ng/L): 1120.40 ± 302.35 比 330.02 ± 81.28 , 均 $P < 0.01$]。与模型组比较, 姜黄素组术后各时间点 PCT、TNF- α 、D-乳酸、DAO 含量均降低, 并均于术后 12 h 起与模型组出现统计学差异 [PCT ($\mu\text{g/L}$): 5.37 ± 0.44 比 8.67 ± 0.64 , TNF- α (ng/L): 211.12 ± 4.31 比 313.30 ± 18.46 , D-乳酸 (mg/L): 29.74 ± 1.41 比 40.53 ± 7.76 , DAO (ng/L): 810.71 ± 201.41 比 1120.40 ± 302.35 , 均 $P < 0.05$], 术后 12 h、24 h 回肠组织含水率均明显降低 [分别为 $(68.34 \pm 0.68)\%$ 比 $(70.55 \pm 0.87)\%$ 和 $(69.41 \pm 0.59)\%$ 比 $(71.69 \pm 0.87)\%$, 均 $P < 0.05$]。光镜下可见, 假手术组术后 12 h 和 24 h 回肠组织绒毛结构基本正常; 模型组术后 12 h 回肠绒毛萎缩、增宽水肿、高度下降, 术后 24 h 绒毛水肿、萎缩进一步加重; 姜黄素组术后 12 h 和 24 h 回肠绒毛水肿、高度等结构受损程度较模型组减轻。模型组回肠组织绒毛上皮细胞凋亡数较假手术组明显增加 (个: 25.48 ± 6.10 比 4.00 ± 2.04), 姜黄素组细胞凋亡计数较模型组明显减少 (个: 15.48 ± 3.75 比 25.48 ± 6.10), 差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。姜黄素组 7 d 累积生存率较模型组下降 [42.9% (6/14) 比 50.0% (7/14)], 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。**结论** 姜黄素可通过抑制脓毒症大鼠肠上皮细胞凋亡, 从而保护肠黏膜屏障功能。

【关键词】 姜黄素; 肠黏膜屏障; 肠上皮细胞; 脓毒症; 凋亡

基金项目: 国家自然科学基金 (82072232); 湖南省医药卫生科研课题 (202104112215); 湖南省衡阳市科技计划项目 (S2018N9031034364)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20210105-00008

Protection of curcumin to intestinal mucosal barrier by inhibiting enterocyte apoptosis in septic rats

He Dan¹, Qiu Minshan², Wang Shan³, Yin Haiyan³

¹Department of Anesthesiology, Hengyang Women and Children's Hospital, Hengyang 421001, Hunan, China; ²Department of Critical Care Medicine, the First People's Hospital of Dongguan, Dongguan 523000, Guangdong, China; ³Department of Critical Care Medicine, the First Hospital Affiliated to Jinan University, Guangzhou 510220, Guangdong, China
Corresponding author: Yin Haiyan, Email: yinhaiyan1867@126.com

【Abstract】 Objective To study the effect of curcumin on enterocyte apoptosis and its protective effect on intestinal mucosal barrier in septic rats. **Methods** Eighty-seven 3-month male Sprague-Dawley (SD) rats were divided into Sham group, model group and curcumin group by random number table method, with 29 rats in each group. The septic rat model was reproduced by cecal ligation and puncture (CLP). 4 mL dimethyl sulfoxide solution were intraperitoneally injected in both Sham group and model group, 200 mg/kg curcumin dissolved by 4 mL dimethyl sulfoxide solution were intraperitoneally injected in curcumin group 10 minutes after operation. The blood samples (15 rats in each group) were collected 2, 12, 24 hours after operation, and the levels of serum procalcitonin (PCT), tumor necrosis factor- α (TNF- α), D-lactic acid and diamine oxidase (DAO) were tested by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). The ileum tissues were collected 12 hours, 24 hours after operation in three groups, water content was tested by weighting, pathologic structure was observed by light microscope, the enterocyte apoptosis was tested by terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP-nick end labeling method (TUNEL). The 7-day survival rate was observed in three groups (14 rats in each group). **Results** The serum levels of PCT, TNF- α , D-lactic acid and DAO were

higher in model group at 2, 12, 24 hours after operation than those in Sham group, PCT, TNF- α levels were significantly higher in model group than those in Sham group 2 hours after operation [PCT ($\mu\text{g/L}$): 1.89 ± 0.17 vs. 0.10 ± 0.02 , TNF- α (ng/L): 216.51 ± 1.47 vs. 85.25 ± 8.20 , both $P < 0.01$], D-lactic acid, DAO levels were significantly higher in model group than those in Sham group 12 hours after operation [D-lactic acid (mg/L): 40.53 ± 7.76 vs. 11.29 ± 1.28 , DAO (ng/L): $1\ 120.40 \pm 302.35$ vs. 330.02 ± 81.28 , both $P < 0.01$]. Compared with model group, the levels of serum PCT, TNF- α , D-lactic acid and DAO were lower in curcumin group 2, 12, 24 hours after operation, the statistical difference appeared from 12 hours after operation [PCT ($\mu\text{g/L}$): 5.37 ± 0.44 vs. 8.67 ± 0.64 , TNF- α (ng/L): 211.12 ± 4.31 vs. 313.30 ± 18.46 , D-lactic acid (mg/L): 29.74 ± 1.41 vs. 40.53 ± 7.76 , DAO (ng/L): 810.71 ± 201.41 vs. $1\ 120.40 \pm 302.35$, all $P < 0.05$], curcumin group had lower water content in ileum tissues 12 hours, 24 hours after operation [$(68.34 \pm 0.68)\%$ vs. $(70.55 \pm 0.87)\%$, $(69.41 \pm 0.59)\%$ vs. $(71.69 \pm 0.87)\%$, both $P < 0.05$]. The pathologic structures of intestinal villus were normal in Sham group, however, in model group intestinal villus were atrophic, edematous and shorten 12 hours after operation, it was further exacerbated 24 hours after operation. Compared with model group, the pathologic structures of intestinal villus in curcumin group were relived 12 hours, 24 hours after operation. The number of apoptotic enterocytes were significantly increased in model group compared with Sham group 24 hours after operation (cells: 25.48 ± 6.10 vs. 4.00 ± 2.04 , $P < 0.05$), and the number of apoptotic enterocytes was lower in curcumin group than that in model group at the same time (cells: 15.48 ± 3.75 vs. 25.48 ± 6.10), the difference was statistically significant (both $P < 0.05$). Seven-day survival rate was significantly lower in curcumin than that in model group [42.9% (6/14) vs. 50.0% (7/14)], however, the difference was not statistically significant ($P > 0.05$). **Conclusion** Curcumin can protect the intestinal mucosal barrier by inhibiting enterocyte apoptosis in septic rats.

[Key words] Curcumin; Intestinal mucosal barrier; Enterocyte; Sepsis; Apoptosis

Fund program: National Natural Science Foundation of China (82072232); Medical and Health Research Project of Hunan Province of China (202104112215); Hengyang Science and Technology Planning Project of Hunan Province of China (S2018N9031034364)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20210105-00008

脓毒症是宿主对感染反应失调导致的危及生命的多器官功能障碍综合征 (multiple organ dysfunction syndrome, MODS), 是临床最常见的急危重症之一, 如得不到及时救治, 随着病情进展而恶化, 逐渐发展成脓毒性休克, 最终出现多器官功能衰竭 (multiple organ failure, MOF)^[1]。据统计, 全球每年脓毒症的发病患者数为 1 800 万例, 平均每例患者的治疗费用为 14.5 万美元, 病死率为 20% ~ 40%^[2]。尽管近年来对脓毒症发病机制和病理生理过程的研究与认识不断地深入, 但其发病率及病死率仍居高不下, 且缺乏靶向性的治疗药物, 因此, 脓毒症仍是目前研究的热点与难点^[3]。肠道被认为是脓毒症发病的始动器官, 在脓毒症早期肠道即出现病理生理学改变, 表现为肠蠕动功能异常, 肠黏膜水肿, 肠上皮细胞膜结构改变, 上皮细胞坏死脱落, 最终形成溃疡, 造成肠黏膜屏障通透性增加, 肠屏障功能受损^[4]; 同时, 肠屏障功能障碍又进一步导致肠道细菌及肠腔毒素进入血液及淋巴系统, 发生菌群移位, 出现全身炎症反应综合征 (systemic inflammatory response syndrome, SIRS) 及抗炎反应综合征 (compensatory anti-inflammatory response syndrome, CARS) 失衡, 严重时引起 MODS 或死亡^[5]。脓毒症与肠屏障功能障碍之间相互影响、相互促进, 最终导致病情不断加重和恶化。因此, 从肠屏障功能角度研究脓毒症可能是一个极为重要而有效的方向。

姜黄素是一种相对分子量较小的多酚类化学物质^[6]。研究表明, 姜黄素对心血管疾病、神经精神疾病、胃肠道疾病、糖尿病、肿瘤、风湿病等均有一定保护作用^[7]。也有研究显示, 姜黄素可能通过抗炎、抗氧化应激、抗菌、抗细胞凋亡、调节肠道菌群及免疫反应等作用机制对肠黏膜屏障功能起保护作用^[8-9]。目前在脓毒症、肠缺血 / 再灌注 (ischemia/reperfusion, I/R) 损伤等肠屏障功能障碍保护方面的研究较少涉及姜黄素, 且姜黄素作用的精确分子靶点及调控机制仍处于初步探索中。因此, 本研究从姜黄素对脓毒症大鼠肠黏膜屏障功能的影响方面探讨姜黄素是否有保护肠黏膜屏障功能的作用, 以为脓毒症肠功能障碍的研究及治疗提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物: 选取 3 月龄 SPF 级雄性 SD 大鼠 87 只, 体重 250 ~ 300 g, 购自南方医科大学实验动物中心, 动物合格证号: SCXK (粤) 2011-0015。

1.2 实验分组: 大鼠均给予适应性喂养 1 周, 正常光照, 室温 24 °C。1 周后开始复制动物模型, 术前禁食 12 h, 自由饮水。取其中 45 只大鼠按随机数字表法分为假手术组、模型组、姜黄素组, 每组 15 只。

1.3 模型的制备及处理: 用 2% 戊巴比妥钠 (40 mg/kg) 腹腔注射麻醉大鼠后, 采用盲肠结扎穿孔术 (cecal ligation and puncture, CLP) 复制脓毒症动物模型, 模型复制方法参照 Mishra 和 Choudhury^[10] 及 Song 等^[11]

的方法;假手术组仅开腹后取出盲肠,然后回纳、关腹,不结扎和穿孔盲肠。术后 10 min 假手术组和模型组腹腔注射二甲亚砷 4 mL;而姜黄素组腹腔注射姜黄素 200 mg/kg(用 4 mL 二甲亚砷溶解)。

1.4 伦理学:本实验中动物处置方法符合动物伦理学标准,并已通过衡阳市妇幼保健院伦理委员会批准(审批号:2021-01-13)。

1.5 检测指标及方法

1.5.1 降钙素原(procalcitonin, PCT)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、D-乳酸、肠上皮细胞损伤指标二胺氧化酶(diamine oxidase, DAO)含量测定:制模成功 2、12、24 h,每组选择 15 只大鼠麻醉后取肾动脉血 3 mL,离心分离血清,置于 -20 °C 冰箱保存待检。取一部分采用酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)检测血清 PCT、TNF- α 含量,操作严格按试剂盒(由上海钰博生物科技有限公司和武汉博士德生物工程有限公司生产)说明书进行。另一部分用 ELISA 检测血清中肠黏膜通透性指标 D-乳酸、DAO 含量,操作按试剂盒(由北京博胜经纬科技有限公司生产)使用说明书进行。

1.5.2 回肠组织含水率测定:于距回盲部近端 2 cm 处剪取长度为 5 cm 的回肠组织,清除回肠周围系膜及血管,沿肠管纵行剖开,冰生理盐水冲洗干净肠腔内容物,用滤纸吸干表面水分称其质量,即肠组织的湿质量($W_{\text{湿}}$);然后将回肠组织置于 70 °C 烤箱中烘烤为 24 h,称其质量,即肠组织的干质量($W_{\text{干}}$)。肠组织含水率计算公式为:含水率(%)=($W_{\text{湿}} - W_{\text{干}}$)/ $W_{\text{湿}} \times 100\%$ 。

1.5.3 回肠组织病理学观察:于制模成功后 12 h、24 h 收集回肠组织,用中性甲醛水溶液固定,采用苏木素-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色,光镜下观察回肠组织病理学改变。

1.5.4 细胞凋亡情况观察:制模后 24 h 取回肠组织,制成石蜡切片,采用原位末端缺刻标记试验(terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick-end labeling method, TUNEL)检测细胞凋亡情况,荧光显微镜下观察回肠上皮细胞凋亡程度,然后每一标本选取 5 个高倍视野,计算回肠上皮细胞凋亡数量。

1.5.5 大鼠存活率分析:取每组另外 14 只大鼠,采用 Kaplan-Meier 法分析各组小鼠累积生存率。

1.6 统计学方法:使用 SPSS 17.0 统计软件分析数据。符合正态分布和方差齐的计量资料以均数 $\pm$

标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析,组间比较采用两样本 t 检验;采用 Kaplan-Meier 法分析大鼠 7 d 累积生存率。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠术后不同时间点血清 PCT、TNF- α 水平比较(表 1):与假手术组比较,模型组和姜黄素组各时间点血清 PCT、TNF- α 水平均明显升高(均 $P < 0.01$);但姜黄素组各时间点上上述指标水平均较模型组降低,术后 12 h 起出现统计学差异(均 $P < 0.05$)。

表 1 各组大鼠术后不同时间点血清 PCT、TNF- α 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	PCT($\mu\text{g/L}$)		
		术后 2 h	术后 12 h	术后 24 h
假手术组	15	0.10 $\pm$ 0.02	0.13 $\pm$ 0.03	0.12 $\pm$ 0.03
模型组	15	1.89 $\pm$ 0.17 ^a	8.67 $\pm$ 0.64 ^a	10.24 $\pm$ 0.83 ^a
姜黄素组	15	1.69 $\pm$ 0.21 ^a	5.37 $\pm$ 0.44 ^{abc}	6.34 $\pm$ 0.49 ^{abc}

组别	动物数 (只)	TNF- α (ng/L)		
		术后 2 h	术后 12 h	术后 24 h
假手术组	15	85.25 $\pm$ 8.20	80.32 $\pm$ 1.28	82.26 $\pm$ 1.34
模型组	15	216.51 $\pm$ 1.47 ^a	313.30 $\pm$ 18.46 ^{ab}	260.85 $\pm$ 1.15 ^{ab}
姜黄素组	15	191.74 $\pm$ 4.37 ^a	211.12 $\pm$ 4.31 ^{abc}	180.17 $\pm$ 1.53 ^{abc}

注:PCT 为降钙素原, TNF- α 为肿瘤坏死因子- α ;与假手术组比较,^a $P < 0.01$;与本组术后 2 h 比较,^b $P < 0.05$;与模型组比较,^c $P < 0.05$

2.2 各组大鼠术后不同时间点回肠组织含水率比较(表 2):与假手术组比较,模型组、姜黄素组各时间点回肠组织含水率均明显升高(均 $P < 0.01$);但姜黄素组术后 12 h、24 h 回肠含水率均较模型组明显降低(均 $P < 0.05$)。

表 2 各组大鼠术后不同时间点回肠组织含水率比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	回肠组织含水率(%)	
		术后 12 h	术后 24 h
假手术组	15	65.34 $\pm$ 0.83	65.34 $\pm$ 0.65
模型组	15	70.55 $\pm$ 0.87 ^a	71.69 $\pm$ 0.87 ^{ab}
姜黄素组	15	68.34 $\pm$ 0.68 ^{ac}	69.41 $\pm$ 0.59 ^{abc}

注:与假手术组比较,^a $P < 0.01$;与本组术后 12 h 比较,^b $P < 0.05$;与模型组比较,^c $P < 0.05$

2.3 各组大鼠术后不同时间点血清 D-乳酸、DAO 水平比较(表 3):术后 2 h 各组 D-乳酸、DAO 水平比较差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。与假手术组比较,模型组、姜黄素组术后 12 h、24 h 血清 D-乳酸、DAO 均明显升高(均 $P < 0.01$);但姜黄素组术后 12 h、24 h 血清 D-乳酸、DAO 均较模型组明显降低(均 $P < 0.05$)。

表 3 各组大鼠术后不同时间点 D-乳酸、DAO 比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	D-乳酸(mg/L)		
		术后 2 h	术后 12 h	术后 24 h
假手术组	15	11.74 ± 3.65	11.29 ± 1.28	11.61 ± 1.37
模型组	15	12.51 ± 4.32	40.53 ± 7.76 ^{ab}	52.56 ± 2.80 ^{ab}
姜黄素组	15	12.14 ± 2.87	29.74 ± 1.41 ^{abc}	39.88 ± 2.62 ^{abc}

组别	动物数 (只)	DAO(ng/L)		
		术后 2 h	术后 12 h	术后 24 h
假手术组	15	320.78 ± 91.65	330.02 ± 81.28	3 216.49 ± 91.37
模型组	15	336.70 ± 103.76	1 120.40 ± 302.35 ^{ab}	1 421.90 ± 392.61 ^{ab}
姜黄素组	15	330.94 ± 29.87	810.71 ± 201.41 ^{abc}	1 087.10 ± 302.62 ^{abc}

注: DAO 为二胺氧化酶; 与假手术组比较, ^a $P < 0.01$; 与本组术后 2 h 比较, ^b $P < 0.05$; 与模型组比较, ^c $P < 0.05$

2.4 各组回肠组织绒毛病理学观察(图 1): 假手术组术后 12 h 和 24 h 回肠绒毛结构基本正常。模型组术后 12 h 可见回肠绒毛结构不均匀、增宽水肿、绒毛萎缩、高度下降; 术后 24 h 可见绒毛水肿、萎缩进一步加重。姜黄素组术后 12 h、24 h 回肠绒毛水肿程度等均较模型组明显减轻。

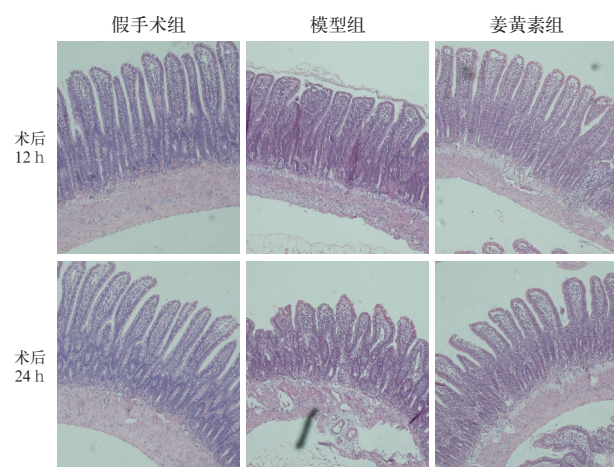


图 1 光镜下观察各组大鼠术后不同时间点回肠组织病理学改变假手术组术后 12 h、24 h 回肠绒毛结构基本正常; 模型组术后 12 h 可见回肠绒毛水肿、萎缩、绒毛间隙变窄, 术后 24 h 绒毛水肿、萎缩进一步加重; 姜黄素组术后相同时间点肠绒毛水肿、萎缩、结构受损程度均明显轻于模型组 HE 染色 低倍放大

2.5 各组回肠组织上皮细胞凋亡情况比较(图 2): 与假手术组比较, 模型组回肠上皮细胞凋亡数明显增加(个: 25.48 ± 6.10 比 4.00 ± 2.04); 但姜黄素组回肠上皮细胞凋亡数较模型组明显减少(个: 15.48 ± 3.75 比 25.48 ± 6.10 , $P < 0.05$)。

2.6 各组大鼠 7 d 累积生存率比较(图 3): 模型组 7 d 累积生存率较假手术组明显下降[50.0% (7/14) 比 100.0% (14/14), $P < 0.05$]; 但姜黄素组 7 d 累积生存率与模型组比较差异无统计学意义[42.9% (6/14) 比 50.0% (7/14), $P > 0.05$]。3 组大鼠死亡时间主要分布在术后前 3 d。

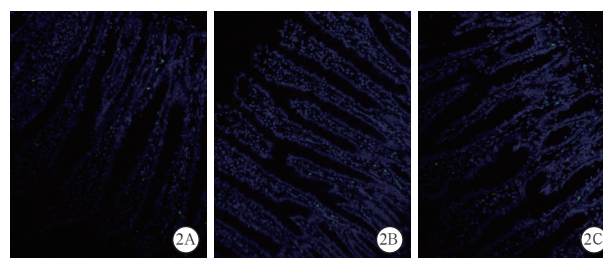


图 2 光镜下观察各组大鼠术后 24 h 回肠组织上皮细胞凋亡情况 绿色荧光代表凋亡的回上皮细胞核。假手术组(A)可见少数几个回肠上皮细胞凋亡; 模型组(B)回肠上皮细胞凋亡数量明显增加; 姜黄素组(C)回肠上皮细胞凋亡数量较模型组明显减少 原位末端缺刻标记试验(TUNEL) 中倍放大

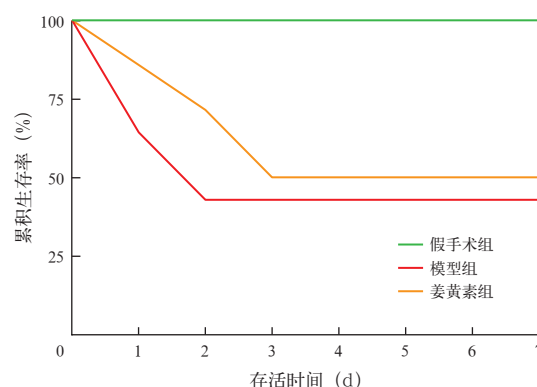


图 3 各组大鼠大鼠 7 d Kaplan-Meier 生存曲线

3 讨论

在脓毒症患者中, 肠道是最容易受打击的器官^[12]。脓毒症相关肠功能障碍的原因有: ①炎症反应导致肠机械屏障受损; ②肠道免疫细胞减少, 免疫抑制导致肠道免疫屏障受损; ③肠道微生态失调导致肠道生物屏障功能障碍; ④肠黏膜层受损、肠相关激素分泌障碍导致化学屏障功能障碍。而机械屏障是肠屏障功能的核心部分, 它主要由肠上皮细胞及上皮细胞间紧密连接结构组成, 发生脓毒症时, 在病原微生物的作用下, 肠黏膜内巨噬细胞、中性粒细胞、树突状细胞大量激活, 通过 Toll 样受体(toll-like receptor, TLR)激活炎症反应, 炎性因子大量释放, 导致肠黏膜上皮细胞凋亡, 细胞间紧密连接结构受损, 最终导致肠机械屏障功能障碍, 肠道菌群移位, 使脓毒症进一步恶化^[13-15]。

PCT 是脓毒症诊断中重要的生物标志物之一, 可用于鉴别细菌或病毒感染, 目前 PCT 已成为识别细菌感染的理想指标; 且 PCT 含量可反映抗菌药物的疗效, 其含量高低可用于预测脓毒症患者病情严重程度及病死率, 临床上已广泛开展 PCT 的检测^[16]。

研究已经证实, 脓毒症发病早期病原微生物即可通过激活巨噬细胞、中性粒细胞、树突状细胞

等导致 TNF- α 等的大量释放,进而出现 SIRS 和 MODS^[17]。因此,TNF- α 有助于脓毒症的早期诊断、鉴别、治疗及预后判断。

D-乳酸是肠腔内大肠、乳酸杆菌发酵产生的代谢产物,由于哺乳动物普遍缺乏 D-乳酸脱氢酶,故 D-乳酸不能被代谢。在肠道出现缺血缺氧、感染时,肠黏膜屏障功能受损,由细菌发酵产生的大量 D-乳酸便可通过损伤的肠上皮细胞和细胞间紧密连接结构进入血液循环,使循环中 D-乳酸水平迅速升高。因此,D-乳酸是反映早期肠屏障功能障碍的一个有效的生物标志物^[18]。

DAO 在空肠及回肠绒毛中含量最高,活性最强,而在其他组织中含量及活性较低。当肠绒毛上皮细胞受损、凋亡或坏死后,DAO 被释放进入血液循环或随坏死脱落的肠黏膜上皮细胞进入肠腔,导致血浆和肠腔内 DAO 水平升高。由于 DAO 水平在血液循环中保持稳定,因此,可早期通过其变化来反映肠黏膜上皮的损伤程度^[19]。本研究显示,脓毒症组大鼠 DAO 从术后 12 h 开始即显著升高,表明早期肠绒毛上皮细胞即出现受损、凋亡或坏死。

姜黄素的药理学作用机制与肠黏膜屏障功能保护有关,其可能通过抗炎、抗氧化应激、抗凋亡、调节肠道微生态及免疫反应等作用保护肠黏膜屏障功能^[20]。研究表明,姜黄素可以直接或间接作用于炎性因子及其信号通路,保护肠黏膜^[21]。本研究表明,姜黄素可抑制脓毒症大鼠的炎症反应,表现为血清 PCT、TNF- α 含量较模型组明显下降;姜黄素也可以保护肠黏膜屏障功能,表现为回肠组织含水率、D-乳酸、DAO 含量较模型组明显下降;肠组织病理学观察也发现,姜黄素可减轻肠绒毛损伤,减少炎性细胞浸润,改善肠绒毛结构。

本实验虽然姜黄素组大鼠 7 d 累积存活率与模型组比较差异无统计学意义,但模型组大鼠死亡时间主要分布在 2 d 内,而姜黄素组死亡时间分布在 4 d 内,表明姜黄素可能延长脓毒症大鼠存活时间。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3) [J]. JAMA, 2016, 315 (8): 801-810. DOI: 10.1001/jama.2016.0287.
- [2] Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock: 2016 [J]. Intensive Care Med, 2017, 43 (3): 304-377. DOI: 10.1007/s00134-017-4683-6.
- [3] 黄伟. 2017 重症医学临床研究回顾与展望 [J]. 中华危重病急救医学, 2018, 30 (1): 1-7. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.

- 2018.01.001.
- Huang W. 2017 clinical breakthroughs in critical care medicine [J]. Chin Crit Care Med, 2018, 30 (1): 1-7. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2018.01.001.
- [4] Assimakopoulos SF, Triantos C, Thomopoulos K, et al. Gut-origin sepsis in the critically ill patient: pathophysiology and treatment [J]. Infection, 2018, 46 (6): 751-760. DOI: 10.1007/s15010-018-1178-5.
- [5] Haak BW, Wiersinga WJ. The role of the gut microbiota in sepsis [J]. Lancet Gastroenterol Hepatol, 2017, 2 (2): 135-143. DOI: 10.1016/S2468-1253(16)30119-4.
- [6] Howitz KT, Sinclair DA. Xenohormesis: sensing the chemical cues of other species [J]. Cell, 2008, 133 (3): 387-391. DOI: 10.1016/j.cell.2008.04.019.
- [7] Marchiani A, Rozzo C, Fadda A, et al. Curcumin and curcumin-like molecules: from spice to drugs [J]. Curr Med Chem, 2014, 21 (2): 204-222. DOI: 10.2174/092986732102131206115810.
- [8] Esatbeyoglu T, Huebner P, Ernst IM, et al. Curcumin: from molecule to biological function [J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2012, 51 (22): 5308-5332. DOI: 10.1002/anie.201107724.
- [9] 何丹,王珊,胡海,等.姜黄素对肠黏膜屏障功能保护作用的研究进展 [J]. 中华烧伤杂志, 2019, 35 (2): 157-160. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2019.02.013.
- He D, Wang S, Hu H, et al. Advances in the research of protective effect of curcumin on intestinal mucosal barrier function [J]. Chin J Burns, 2019, 35 (2): 157-160. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2019.02.013.
- [10] Mishra SK, Choudhury S. Experimental protocol for cecal ligation and puncture model of polymicrobial sepsis and assessment of vascular functions in mice [J]. Methods Mol Biol, 2018, 1717: 161-187. DOI: 10.1007/978-1-4939-7526-6_14.
- [11] Song LL, Zou YJ, Cao ZP. Comparison of two different models of sepsis induced by cecal ligation and puncture in rats [J]. J Surg Res, 2018, 229: 277-282. DOI: 10.1016/j.jss.2018.03.058.
- [12] Padar M, Starkopf J, Uusvel G, et al. Gastrointestinal failure affects outcome of intensive care [J]. J Crit Care, 2019, 52: 103-108. DOI: 10.1016/j.jccr.2019.04.001.
- [13] Sánchez de Medina F, Romero-Calvo I, Mascaraque C, et al. Intestinal inflammation and mucosal barrier function [J]. Inflamm Bowel Dis, 2014, 20 (12): 2394-2404. DOI: 10.1097/MIB.0000000000000204.
- [14] 丁丞章,蒋建华,张宝,等.益生菌制剂对行肠内营养支持危重症患者胃肠功能和营养状况及炎症反应的影响 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2019, 26 (4): 455-458. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2019.04.020.
- Ding CZ, Jiang JH, Zhang B, et al. Effects of probiotics on gastrointestinal function, nutrition status and inflammatory reaction in critically ill patients with enteral nutrition support [J]. Chin J TCM WM Crit Care, 2019, 26 (4): 455-458. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2019.04.020.
- [15] Cavaillon JM. Exotoxins and endotoxins: inducers of inflammatory cytokines [J]. Toxicon, 2018, 149: 45-53. DOI: 10.1016/j.toxicon.2017.10.016.
- [16] Vijayan AL, Vanimaya, Ravindran S, et al. Procalcitonin: a promising diagnostic marker for sepsis and antibiotic therapy [J]. J Intensive Care, 2017, 5: 51. DOI: 10.1186/s40560-017-0246-8.
- [17] Xia ZF, Huang LQ, Yin P, et al. L-Arginine alleviates heat stress-induced intestinal epithelial barrier damage by promoting expression of tight junction proteins via the AMPK pathway [J]. Mol Biol Rep, 2019, 46 (6): 6435-6451. DOI: 10.1007/s11033-019-05090-1.
- [18] Junyuan Z, Hui X, Chunlan H, et al. Quercetin protects against intestinal barrier disruption and inflammation in acute necrotizing pancreatitis through TLR4/MyD88/p38 MAPK and ERS inhibition [J]. Pancreatology, 2018, 18 (7): 742-752. DOI: 10.1016/j.pan.2018.08.001.
- [19] Zhao L, Luo L, Jia WK, et al. Serum diamine oxidase as a hemorrhagic shock biomarker in a rabbit model [J]. PLoS One, 2014, 9 (8): e102285. DOI: 10.1371/journal.pone.0102285.
- [20] Wang J, Ghosh SS, Ghosh S. Curcumin improves intestinal barrier function: modulation of intracellular signaling, and organization of tight junctions [J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2017, 312 (4): C438-C445. DOI: 10.1152/ajpcell.00235.2016.
- [21] Fadus MC, Lau C, Bikhchandani J, et al. Curcumin: an age-old anti-inflammatory and anti-neoplastic agent [J]. J Tradit Complement Med, 2016, 7 (3): 339-346. DOI: 10.1016/j.jtcme.2016.08.002.

(收稿日期: 2021-01-05)