

## 白藜芦醇激活超氧化物歧化酶 2 减轻失血性休克大鼠的肠屏障损伤

方海宏 危思维 李露兰 陆嘉茵 胡振华 徐薇 曾振华

510515 广东广州, 南方医科大学南方医院麻醉科(方海宏), 重症医学科(危思维、李露兰、陆嘉茵、徐薇、曾振华); 450003 河南郑州, 河南省人民医院麻醉科(胡振华)

通讯作者: 曾振华, Email: zhenhuazeng.2008@163.com

DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2017.02.020

**【摘要】目的** 探讨白藜芦醇改善失血性休克肠损伤的作用机制。**方法** SPF级雄性SD大鼠64只, 按随机数字表法分为假手术组(Sham组, 麻醉后仅行动静脉置管术)、失血性休克模型组(模型组, 大鼠麻醉后行动静脉置管术, 休克后给予0.3 mL溶剂)、白藜芦醇组(大鼠麻醉后行动静脉置管术, 休克后给予白藜芦醇15 mg/kg)、超氧化物歧化酶2(SOD<sub>2</sub>)特异性抑制剂(2-ME)组(在白藜芦醇组基础上加用2-ME, 浓度为0.1 mmol/L)。采用股动脉放血的方法复制大鼠失血性休克模型。大鼠给药后分成两批, 一批用以观察各组24 h存活率和存活时间; 另一批在休克2 h后取血测定血清D-乳酸含量, 取小肠组织观察病理学改变和Chiu评分, 并比较小肠组织紧密连接蛋白Occludin、Claudin、ZO-1的蛋白表达水平和氧化应激相关指标SOD<sub>2</sub>活性及还原型谷胱甘肽(GSH)、氧化型谷胱甘肽(GSSG)、丙二醛(MDA)含量的差异。**结果** 与Sham组比较, 模型组大鼠存活率、SOD<sub>2</sub>活性、GSH、GSH/GSSG均降低, 生存时间缩短, D-乳酸、Chiu评分和MDA含量均明显升高, 小肠组织紧密连接蛋白表达减少。与模型组比较, 白藜芦醇组大鼠存活率明显升高[75.0%(6/8)比37.5%(3/8)], 生存时间显著延长(h: 21.0±4.3比10.4±5.8,  $P<0.05$ ), 血D-乳酸含量、小肠组织病理评分明显降低[D-乳酸( $\mu\text{g/L}$ ): 380.18±70.59比500.88±97.53, Chiu评分(分): 1.75±0.71比4.00±0.53, 均 $P<0.05$ ], 紧密连接蛋白表达、SOD<sub>2</sub>活性、GSH和GSH/GSSG明显升高[Occludin蛋白(灰度值): 0.89±0.10比0.43±0.07, Claudin蛋白(灰度值): 0.78±0.06比0.33±0.05, ZO-1蛋白(灰度值): 0.83±0.06比0.34±0.07, SOD<sub>2</sub>(kU/L): 0.85±0.12比0.51±0.11, GSH( $\mu\text{mol/L}$ ): 7.25±1.01比3.86±0.54, GSH/GSSG: 6.39±1.14比1.56±0.25, 均 $P<0.05$ ], MDA显著降低(ng/g: 5.00±1.31比8.63±0.92,  $P<0.05$ )。与白藜芦醇组比较, 2-ME组大鼠存活率明显降低[50.0%(4/8)比75.0%(6/8)], 生存时间再度缩短(h: 12.2±5.7比21.0±4.3,  $P<0.05$ ), D-乳酸含量增加( $\mu\text{g/L}$ : 463.88±60.16比380.18±70.59)和Chiu评分评分升高(分: 3.13±0.99比1.75±0.71,  $P<0.05$ ), 紧密蛋白表达降低[Occludin蛋白(灰度值): 0.55±0.04比0.89±0.10, Claudin蛋白(灰度值): 0.38±0.05比0.78±0.06, ZO-1蛋白(灰度值): 0.41±0.04比0.83±0.06, 均 $P<0.05$ ], SOD<sub>2</sub>活性、GSH、GSH/GSSG下降[SOD<sub>2</sub>活性(kU/L): 0.58±0.13比0.85±0.12, GSH( $\mu\text{mol/L}$ ): 4.49±0.52比7.25±1.01, GSH/GSSG: 1.57±0.39比6.39±1.14], MDA含量增加(ng/g: 6.25±1.04比5.00±1.31,  $P<0.05$ )。Sham组小肠组织基本正常未见明显病理学改变; 模型组小肠上皮绒毛倒塌, 黏膜屏障破坏明显; 白藜芦醇组小肠绒毛和小肠屏障的破坏明显减轻; 2-ME组病理学改变较白藜芦醇组明显。**结论** 白藜芦醇能改善失血性休克大鼠的肠屏障损伤, 其机制可能与激活SOD<sub>2</sub>有关。

**【关键词】** 白藜芦醇; 超氧化物歧化酶2; 休克, 失血性; 肠屏障; 紧密连接蛋白

**基金项目:** 广东省自然科学基金(2016A030310389); 河南省医学科技攻关项目(201602252)

### Resveratrol ameliorates intestinal barrier injury in rats with hemorrhagic shock through superoxide dismutase 2 activation

Fang Haihong, Wei Siwei, Li Lulan, Lu Jiayin, Hu Zhenhua, Xu Wei, Zeng Zhenhua  
Department of Anesthesiology, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong, China (Fang HH); Department of Critical Care Medicine, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong, China (Wei SW, Li LL, Lu JY, Xu W, Zeng ZH); Department of Anesthesiology, Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou 450003, Guangdong, China (Hu ZH)

Corresponding author: Zeng Zhenhua, Email: zhenhuazeng.2008@163.com

**【Abstract】Objective** To explore the protective effect of resveratrol (RSV) on intestine barrier injury induced by hemorrhagic shock and its mechanism in rats. **Methods** According to random number table method, sixty-four SPF grade male Sprague-Dawley (SD) rats were divided into four groups: Sham operation group (only the catheters were indwelled in arterial and venous passages after anesthesia), hemorrhagic shock model group (model group, the catheters were indwelled in arterial and venous passages after anesthesia, and 0.3 mL solvent was administrated after hemorrhagic shock), RSV group (the catheters were indwelled in arterial and venous passages after anesthesia, 15 mg/kg RSV was administered after hemorrhagic shock), superoxide dismutase 2 (SOD<sub>2</sub>) specific inhibitor, 2-Methoxyoestradiol (2-ME) group (on the basic treatment of RSV group, 0.1 mmol/L 2-ME was administered). The hemorrhagic shock model was reproduced by femoral artery bleeding. After drug administration, all rats were divided into two parts. One part was used for observations on 24-hour survival rate and survival time, while in the other part, 2 hours after the hemorrhagic shock, the blood was collected for determination of the content of serum D-lactic acid, and afterward the rats were executed to obtain small intestine tissues for the examination of histopathological changes and Chiu's score. Moreover, differences of expression levels of tight junction proteins (Occludin, Claudin, ZO-1) of small intestine tissue and the oxidative stress related indexes SOD<sub>2</sub> activity and reduced glutathione (GSH), oxidized glutathione (GSSH), malonaldehyde (MDA)

contents were compared among the groups. **Results** Compared with the sham group, the model group demonstrated decreased survival rate, SOD<sub>2</sub> activity, GSH content, GSH/GSSG ratio, reduced survival time, significantly increased serum D-lactic acid activity, Chiu's score and MDA content, and decreased expressions of tight junction proteins in small intestine tissue. Compared with model group, the RSV group showed significant increased survival rate [75.0% (6/8) vs. 37.5% (3/8)] and prolonged survival time (hours: 21.0±4.3 vs. 10.4±5.8,  $P < 0.05$ ), significantly decreased serum D-lactic acid ( $\mu\text{g/L}$ : 380.18±70.59 vs. 500.88±97.53) and Chiu's score (1.75±0.71 vs. 4.00±0.53) in small intestine (both  $P < 0.05$ ), obviously increased expressions of tight junction proteins, SOD<sub>2</sub> activity, GSH and GSH/GSSG [Occludin (gray value): 0.89±0.10 vs. 0.43±0.77, Claudin (gray value): 0.78±0.06 vs. 0.33±0.05, ZO-1 (gray value): 0.83±0.06 vs. 0.34±0.07, all  $P < 0.05$ ], and the elevated SOD<sub>2</sub> activity (kU/L: 0.85±0.12 vs. 0.51±0.11,  $P < 0.05$ ), as well as increased GSH content and GSH/GSSG ratio [GSH ( $\mu\text{mol/L}$ ): 7.25±1.01 vs. 3.86±0.54, GSH/GSSG: 6.39±1.14 vs. 1.56±0.25, both  $P < 0.05$ ] in the small intestine, and markedly reduced MDA content (ng/g: 5.00±1.31 vs. 8.63±0.92,  $P < 0.05$ ). Compared with RSV group, the 2-ME group demonstrated significantly decreased survival rate [50.0% (4/8) vs. 75.0% (6/8)] and further shorter survival time (hours: 12.2±5.7 vs. 21.0±4.3), increased serum D-lactic acid ( $\mu\text{g/L}$ : 463.88±60.16 vs. 380.18±70.59), obviously elevated Chiu's score (3.13±0.99 vs. 1.75±0.71,  $P < 0.05$ ), decreased expressions of tight junction proteins [Occludin (gray value): 0.55±0.04 vs. 0.89±0.10, Claudin (gray value): 0.38±0.05 vs. 0.78±0.06, ZO-1 (gray value): 0.41±0.04 vs. 0.83±0.06, all  $P < 0.05$ ]; moreover, the activity of SOD<sub>2</sub>, GSH content, GSH/GSSG ratio were greatly reduced [SOD<sub>2</sub> activity (kU/L): 0.58±0.13 vs. 0.85±0.12, GSH ( $\mu\text{mol/L}$ ): 4.49±0.52 vs. 7.25±1.01, GSH/GSSG: 1.57±0.39 vs. 6.39±1.14, all  $P < 0.05$ ], and increased MDA content (ng/g: 6.25±1.04 vs. 5.00±1.31,  $P < 0.05$ ). The small intestine tissue was basically normal in Sham group, and no significant pathological changes were seen; in the model group, the small intestine epithelial microvilli were collapsed and the mucosal barrier was destroyed obviously; in the RSV group the damages of small intestine microvilli and barrier were markedly alleviated; in 2-ME group the pathological changes were more evident compared with those in the RSV group. **Conclusion** RSV can improve intestinal barrier injury following hemorrhagic shock in rats; its mechanism may be related to SOD<sub>2</sub> activation.

**【Key words】** Resveratrol; Superoxide dismutase 2; Hemorrhagic shock; Intestinal barrier; Tight junction protein

急性肠损伤是失血性休克再灌注后的主要并发症之一,其发病机制尚未完全明确且缺乏特异性的作用靶点<sup>[1-2]</sup>。有研究表明,肠屏障细胞的紧密连接对于维持肠道正常生理功能起关键作用,肠屏障功能的破坏可加重多器官损伤<sup>[3]</sup>。已知白藜芦醇可通过激活超氧化物歧化酶 2(SOD<sub>2</sub>)减轻失血性休克后的肠损伤,但具体机制尚未完全明确<sup>[4]</sup>。本研究旨在探讨白藜芦醇激活 SOD<sub>2</sub>减少肠屏障损伤的作用机制,报告如下。

## 1 材料与方法

**1.1 实验分组和失血性休克动物模型的复制:**选择 6~8 周龄 SPF 级雄性 SD 大鼠 64 只,体质量 200~220 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。将动物按随机数字表法分为假手术组(Sham 组,麻醉后仅行动静脉置管术)、失血性休克模型组〔模型组,大鼠麻醉后行动静脉置管术,制模后给予 0.3 mL 溶剂(70%乙醇、20%丙二醇、10%的 NaHCO<sub>3</sub>)〕、白藜芦醇组〔大鼠麻醉后行动静脉置管术,制模后给予白藜芦醇(购自美国 Sigma 公司),给药剂量 15 mg/kg<sup>[4]</sup>〕、SOD<sub>2</sub> 特异性抑制剂(2-ME)组(在白藜芦醇组基础上加用 2-ME,浓度为 0.1 mmol/L<sup>[5]</sup>)。参照文献<sup>[4]</sup>采用股动脉放血的方法复制大鼠失血性休克模型。

本研究中动物处置方法符合动物伦理学标准。

## 1.2 观察指标及方法

**1.2.1 存活率和存活时间:**给药后每组取 8 只大

鼠观察 24 h 存活率和存活时间,以大鼠停止呼吸 1 min 或满 24 h 为终点。

**1.2.2 D-乳酸含量测定:**每组取 8 只大鼠分离血清,用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定 D-乳酸含量,试剂盒购自武汉华美生物工程有限公司。

**1.2.3 小肠组织病理学观察和 Chiu 评分:**取部分小肠组织,用 4% 多聚甲醛水溶液固定,参照文献<sup>[6]</sup>的方法,病理切片后行苏木素-伊红(HE)染色,显微镜下观察小肠组织病理学改变,并行 Chiu 评分评价回肠黏膜损伤程度。

**1.2.4 蛋白质免疫印迹试验(Western Blot)测定**小肠组织紧密连接蛋白 Occludin、Claudin、ZO-1 的蛋白表达:取回盲部小肠组织,提取蛋白凝胶电泳,经转膜、脱脂奶粉封闭、加目的蛋白抗体和辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗等后,用图像分析系统测定灰度值,以目的蛋白与内参照 3-磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)的灰度比值表示目的蛋白表达量。

**1.2.5 小肠组织氧化应激相关指标超氧化物歧化酶 2(SOD<sub>2</sub>)活性和还原型谷胱甘肽(GSH)、氧化型谷胱甘肽(GSSG)、丙二醛(MDA)含量测定:**用 M5 酶标仪检测小肠组织 SOD<sub>2</sub> 活性及 GSH、GSSG、MDA 含量,操作按试剂盒说明书进行, SOD<sub>2</sub> 活性测定试剂盒购自日本东京同仁公司, GSH、GSSG、MDA 测定试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司,各处理组 SOD<sub>2</sub> 活性以其与 Sham 组的比值表示。

**1.3 统计学处理:**使用 SPSS 20.0 统计软件处理

数据,符合正态分布的计量资料以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,组间比较用单因素方差分析,方差不齐用 Dunnett's 检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 各组大鼠存活率和存活时间比较 (表 1):** 模型组大鼠存活率较 Sham 组明显降低,存活时间明显缩短;白藜芦醇组大鼠存活率较模型组明显升高,存活时间较模型组明显延长;2-ME 组存活率较白藜芦醇组明显降低,存活时间较白藜芦醇组明显缩短 (均  $P < 0.05$ )。说明白藜芦醇能提高失血性休克大鼠的 24 h 存活率,延长存活时间。

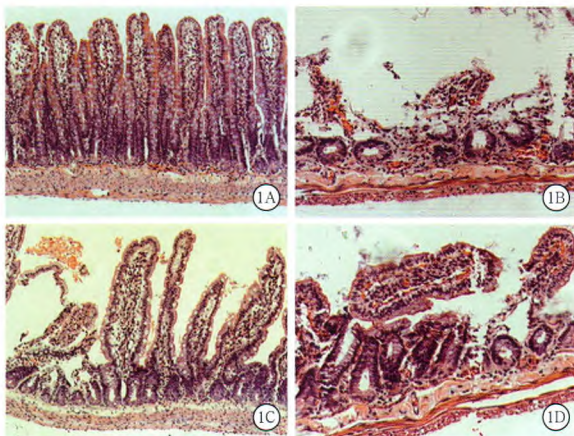
**表 1 各组大鼠存活率、存活时间和血清 D-乳酸水平及小肠组织 Chiu 评分比较 ( $\bar{x} \pm s$ )**

组别	动物数 (只)	24h 存活率 [% (只)]	存活时间 (h)	D-乳酸 ( $\mu\text{g/L}$ )	Chiu 评分 (分)
Sham 组	8	100.0 (8)	24.0 ± 0.0	176.88 ± 17.67	0.88 ± 0.64
模型组	8	37.5 (3) <sup>a</sup>	10.4 ± 5.8 <sup>a</sup>	500.88 ± 97.53 <sup>a</sup>	4.00 ± 0.53 <sup>a</sup>
白藜芦醇组	8	75.0 (6) <sup>b</sup>	21.0 ± 4.3 <sup>ab</sup>	380.18 ± 70.59 <sup>ab</sup>	1.75 ± 0.71 <sup>ab</sup>
2-ME 组	8	50.0 (4) <sup>b</sup>	12.2 ± 5.7 <sup>ac</sup>	463.88 ± 60.16 <sup>ac</sup>	3.13 ± 0.99 <sup>ac</sup>

注:与 Sham 组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与白藜芦醇组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$

**2.2 各组大鼠血清 D-乳酸水平比较 (表 1):** 模型组血清 D-乳酸水平较 Sham 组明显升高,白藜芦醇组 D-乳酸水平均较模型组明显降低,2-ME 组较白藜芦醇组明显升高 (均  $P < 0.05$ )。

**2.3 各组大鼠小肠组织病理学观察及 Chiu 评分比较 (图 1; 表 1):** Sham 组小肠组织基本正常未见明显病理学改变;模型组小肠上皮绒毛倒塌,黏膜屏障破坏明显,Chiu 评分较 Sham 组明显升高 ( $P < 0.05$ );白藜芦醇组小肠绒毛和小肠屏障的破坏明显减轻,Chiu 评分较模型组明显降低;2-ME 组病理学改变较白藜芦醇组明显增加,Chiu 评分较白藜芦醇组升高 ( $P < 0.05$ )。



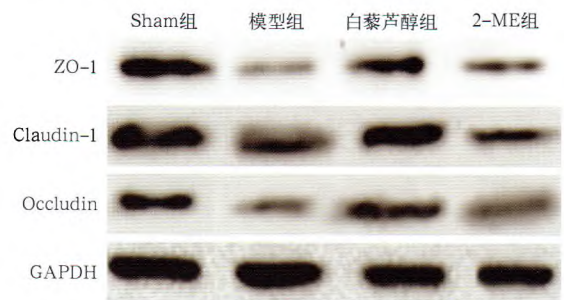
**图 1 制模后各组大鼠小肠组织病理学变化 (HE 染色 低倍放大)**

**2.4 各组大鼠小肠组织紧密连接蛋白 Occludin、Claudin、ZO-1 的蛋白表达水平比较 (表 2; 图 2):** 模型组小肠组织 Occludin、Claudin、ZO-1 的蛋白表达水平均较 Sham 组明显降低 ( $P < 0.05$ ),白藜芦醇组蛋白表达水平均较模型组升高 ( $P < 0.05$ ),说明白藜芦醇处理后一定程度上恢复了上述紧密连接蛋白的含量;2-ME 组上述指标的表达水平较白藜芦醇组明显降低 ( $P < 0.05$ ),说明 2-ME 的添加阻碍了白藜芦醇对紧密连接蛋白的保护作用。

**表 2 各组大鼠小肠组织紧密连接蛋白 Occludin、Claudin、ZO-1 的蛋白表达水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )**

组别	动物数 (只)	蛋白表达 (灰度值)		
		Occludin	Claudin	ZO-1
Sham 组	4	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
模型组	4	0.43 ± 0.07 <sup>a</sup>	0.33 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.34 ± 0.07 <sup>a</sup>
白藜芦醇组	4	0.89 ± 0.10 <sup>ab</sup>	0.78 ± 0.06 <sup>ab</sup>	0.83 ± 0.06 <sup>ab</sup>
2-ME 组	4	0.55 ± 0.04 <sup>ac</sup>	0.38 ± 0.05 <sup>ac</sup>	0.41 ± 0.04 <sup>ac</sup>

注:与 Sham 组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与白藜芦醇组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$



**图 2 Western Blot 检测各组大鼠小肠组织紧密连接蛋白的蛋白表达水平**

**2.5 各组大鼠小肠组织氧化应激指标 SOD<sub>2</sub> 活性和 GSH、GSH/GSSG、MDA 含量比较 (表 3):** 模型组小肠组织 SOD<sub>2</sub> 活性和 GSH 含量以及 GSH/GSSG 均较 Sham 组明显降低 (均  $P < 0.05$ ),MDA 含量较 Sham 组升高 ( $P < 0.05$ ),白藜芦醇组 SOD<sub>2</sub> 活性和 GSH 含量以及 GSH/GSSG 均较模型组明显升高,MDA 含量较模型组明显降低,2-ME 组 SOD<sub>2</sub> 活性和 GSH 含量以及 GSH/GSSG 均较白藜芦醇组明显降低,MDA 含量较白藜芦醇组升高 (均  $P < 0.05$ )。

**表 3 各组大鼠小肠组织 SOD<sub>2</sub> 活性和 GSH、GSH/GSSG、MDA 含量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )**

组别	动物数 (只)	SOD <sub>2</sub> 活性 (kU/L)	GSH ( $\mu\text{mol/L}$ )	GSH/GSSG	MDA (ng/g)
Sham 组	8	1.00 ± 0.18	8.79 ± 0.60	15.71 ± 4.96	3.38 ± 0.74
模型组	8	0.51 ± 0.11 <sup>a</sup>	3.86 ± 0.54 <sup>a</sup>	1.56 ± 0.23 <sup>a</sup>	8.63 ± 0.92 <sup>a</sup>
白藜芦醇组	8	0.85 ± 0.12 <sup>ab</sup>	7.25 ± 1.01 <sup>ab</sup>	6.39 ± 1.14 <sup>ab</sup>	5.00 ± 1.31 <sup>ab</sup>
2-ME 组	8	0.58 ± 0.13 <sup>ac</sup>	4.49 ± 0.52 <sup>ac</sup>	1.57 ± 0.39 <sup>ac</sup>	6.25 ± 1.04 <sup>ac</sup>

注:与 Sham 组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与白藜芦醇组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$

### 3 讨论

肠黏膜具有机械屏障、生物屏障和免疫屏障的作用<sup>[7]</sup>。失血性休克后,肠道血流量减少,肠黏膜组织供血供氧不足,组织代谢率升高,耗氧量增加,使肠黏膜组织缺氧,肠上皮细胞内酸中毒,三磷酸腺苷(ATP)合成减少,继而引起线粒体功能障碍,而再灌注治疗后进一步加剧了这些过程<sup>[6]</sup>。SOD 是清除超氧阴离子自由基损伤细胞的重要抗氧化酶<sup>[8]</sup>,有 SOD<sub>1</sub>、SOD<sub>2</sub>、SOD<sub>3</sub> 3 种类型,主要依靠位于线粒体的抗自由基酶 SOD<sub>2</sub> 来发挥作用<sup>[4,6]</sup>。本研究证实,制模后小肠上皮细胞存在明显的病理学损伤。尤其值得注意的是,肠屏障功能标志物 D-乳酸含量显著增加, SOD<sub>2</sub> 活性降低,采用激活 SOD<sub>2</sub> 的药物能够减轻小肠组织的氧化应激水平和组织损伤;而给予 SOD<sub>2</sub> 活性抑制则出现了相反的结果。结合既往文献和本研究结果,我们推测 SOD<sub>2</sub> 的活性降低促进了失血性休克后肠屏障损伤。

肠上皮细胞间紧密连接是维持肠黏膜屏障功能的基础,包括紧密连接、缝隙连接、桥粒连接等,其中以紧密连接最为重要<sup>[7]</sup>。细胞间紧密连接主要由紧密连接蛋白组成,包括咬合蛋白 Occludin、闭合蛋白 Claudin 家族、带状闭合蛋白 ZO 家族等,在维持肠黏膜通透性中发挥关键作用<sup>[9]</sup>。既往研究表明,肠道紧密连接蛋白的丢失可加重肠屏障破坏,促进失血性休克的多器官损伤<sup>[10-11]</sup>。本研究证实,模型组大鼠小肠组织上皮紧密连接蛋白(Occludin、Claudin、ZO-1)含量明显减少,间接支持失血性休克后存在广泛肠屏障功能破坏的理论。本研究通过靶向激活 SOD<sub>2</sub> 活性,减少氧化应激,有效恢复紧密连接蛋白表达量,提示保护肠紧密连接可能是防止细菌和各种肠道毒素的一项重要措施,可作为失血性休克后补救治疗的新选择。

白藜芦醇是一种作用靶点广泛的重要天然植物多酚<sup>[12]</sup>,可通过抗氧化作用治疗多个疾病模型<sup>[13]</sup>,然而白藜芦醇对失血性休克肠损伤的保护机制尚未完全明确<sup>[14]</sup>。既往研究表明,口服白藜芦醇可在肠道以白藜芦醇苷的形式吸收<sup>[15]</sup>。也有研究报道,白藜芦醇可通过激活 SOD<sub>2</sub> 保护小肠细胞线粒体功能来减少上皮细胞损伤<sup>[4]</sup>。然而,白藜芦醇对于肠屏障的作用尚未见报道。本研究发现,白藜芦醇显著增加了 SOD<sub>2</sub> 的蛋白活性,提示白藜芦醇的抗氧化作用与激活 SOD<sub>2</sub> 有关。表现为给予 SOD<sub>2</sub> 抑制剂 2-ME 后,白藜芦醇抑制休克后小肠氧化应激和上调紧密连接蛋白的作用显著降低,这些结果均表明

白藜芦醇对肠道的保护作用与激活 SOD<sub>2</sub> 有关。也有文献报道,白藜芦醇对 SOD<sub>2</sub> 的影响可能是源于对沉默信息调节因子 2 相关酶 1/3 的激活,间接激活 SOD<sub>2</sub> 起作用的<sup>[16]</sup>。本研究显示,白藜芦醇组肠道紧密连接蛋白的表达水平增加,提示白藜芦醇可以通过保护小肠上皮细胞和肠道紧密连接的方式保护肠屏障功能,这为白藜芦醇应用于肠屏障保护提供了新的依据。本研究也显示,小肠组织 SOD<sub>2</sub> 活性下降和肠紧密连接蛋白表达水平降低促进了失血性休克后的肠损伤,白藜芦醇可减轻肠损伤和恢复肠屏障功能,其肠保护作用机制与 SOD<sub>2</sub> 激活和紧密蛋白表达水平恢复有关。

本研究也存在一些不足,如没有观察白藜芦醇治疗失血性休克大鼠的最佳剂量及肠屏障保护对于全身炎症反应和远隔器官如肺脏的影响。此外,尚不明确 SOD<sub>2</sub> 和紧密连接蛋白是否存在直接作用关系,这将是后续的研究方向。

### 参考文献

- [1] 蒋龙元,杨炼红,钟娃,等.乌司他丁对失血性休克大鼠回肠黏膜细胞凋亡的影响[J].中华危重病急救医学,2006,18(9):542-545.
- [2] 常建星,陈双,符玉茹,等.大鼠失血性休克复苏早期肠黏膜损伤与修复的形态学观察[J].中华危重病急救医学,2004,16(8):477-480.
- [3] Mallick IH, Yang W, Winslet MC, et al. Ischemia-reperfusion injury of the intestine and protective strategies against injury [J]. Dig Dis Sci, 2004, 49(9): 1359-1377.
- [4] Zeng Z, Yang Y, Dai X, et al. Polydatin ameliorates injury to the small intestine induced by hemorrhagic shock via SIRT3 activation-mediated mitochondrial protection [J]. Expert Opin Ther Targets, 2016, 20(6): 645-652.
- [5] Chen Y, McMillan-Ward E, Kong J, et al. Oxidative stress induces autophagic cell death independent of apoptosis in transformed and cancer cells [J]. Cell Death Differ, 2008, 15(1): 171-182.
- [6] Zeng Z, Chen Z, Xu S, et al. Polydatin alleviates small intestine injury during hemorrhagic shock as a SIRT1 activator [J]. Oxid Med Cell Longev, 2015, 2015: 965961.
- [7] 付瑜,姜树民,黄煜.黄龙汤对脓毒症大鼠肠黏膜上皮 Claudin-1 和 Occludin 的 mRNA 及蛋白表达水平的影响[J].中国中西医结合急救杂志,2015,22(2):138-141.
- [8] 沈振亚,翁文浩,丁黎明,等.超氧化物歧化酶检测的临床应用评价[J].实用检验医师杂志,2011,3(3):162-164.
- [9] 王霄腾,陈超英,张梦,等.应激相关肠屏障功能损伤的研究进展[J].胃肠病学,2016,21(1):55-58.
- [10] 张连阳,王正国,朱佩芳,等.大鼠失血性休克复苏后肠屏障功能障碍[J].世界华人消化杂志,2001,9(7):767-770.
- [11] Chang Z, Li Y, He W, et al. Inhibition of histone deacetylase 6 restores intestinal tight junction in hemorrhagic shock [J]. J Trauma Acute Care Surg, 2016, 81(3): 512-519.
- [12] Gülçin İ. Antioxidant properties of resveratrol: a structure-activity insight [J]. Innovative Food Sci. Emerging Technol, 2010, 11(1): 210-218.
- [13] Farghali H, Kutinová CN, Lekić N. Resveratrol and related compounds as antioxidants with an allosteric mechanism of action in epigenetic drug targets [J]. Physiol Res, 2013, 62(1): 1-13.
- [14] Yu HP, Hwang TL, Hsieh PW, et al. Role of estrogen receptor-dependent upregulation of P38 MAPK/heme oxygenase 1 in resveratrol-mediated attenuation of intestinal injury after trauma-hemorrhage [J]. Shock, 2011, 35(5): 517-523.
- [15] Andlauer W, Kolb J, Siebert K, et al. Assessment of resveratrol bioavailability in the perfused small intestine of the rat [J]. Drugs Exp Clin Res, 2000, 26(2): 47-55.
- [16] Xu S, Gao Y, Zhang Q, et al. SIRT1/3 Activation by Resveratrol Attenuates Acute Kidney Injury in a Septic Rat Model [J]. Oxid Med Cell Longev, 2016, 2016: 7296092.

(收稿日期:2016-10-18)