

· 基础研究 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2025.01.007

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.r.20241227.1553.002\(2024-12-30\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.r.20241227.1553.002(2024-12-30))

# 白藜芦醇通过抑制铁死亡减轻肠缺血再灌注损伤的机制研究\*

许宏森<sup>1</sup>, 贺 俭<sup>1</sup>, 赵伟成<sup>2△</sup>

(1. 佛山市第一人民医院麻醉科, 广东佛山 528000; 2. 佛山市中医院科教科, 广东佛山 528000)

**[摘要]** **目的** 观察白藜芦醇对肠缺血再灌注(IIR)损伤的作用及与铁死亡的相关性。**方法** 构建小鼠 IIR 损伤模型, 采用随机数字表法将小鼠分为假手术组(S 组)、IIR 损伤组(D 组)、IIR 损伤+白藜芦醇组(R 组)、IIR 损伤+铁死亡诱导剂组(F 组)、IIR 损伤+白藜芦醇+铁死亡诱导剂组(R+F 组), 各组采用不同的药物剂量及方法。取小肠组织切片行苏木精-伊红(HE)染色并在光镜下观察病理改变情况, 使用 ELISA 测定丙二醛(MDA)、亚铁离子( $Fe^{2+}$ )、谷胱甘肽(GSH)和超氧化物歧化酶(SOD)水平, Western blot 检测谷胱甘肽过氧化物酶 4(GPX4)和长链酯酰辅酶 A 合成酶 4(ACSL4)蛋白表达。**结果** 与 S 组比较, D 组、R 组、F 组及 R+F 组小鼠小肠组织损伤加重, Chiu's 评分、MDA、 $Fe^{2+}$  水平升高, GSH 和 SOD 水平降低( $P < 0.05$ ), ACSL4 蛋白表达上调, GPX4 蛋白表达下调, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。与 D 组比较, R 组小鼠小肠组织出现绒毛顶端上皮损伤, Chiu's 评分、MDA 和  $Fe^{2+}$  水平降低, GSH 和 SOD 水平升高, ACSL4 蛋白表达下调, GPX4 蛋白表达上调, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); F 组小鼠小肠组织出现绒毛脱落伴出血和溃疡形成, Chiu's 评分、MDA、 $Fe^{2+}$  水平升高, GSH 和 SOD 水平降低, ACSL4 蛋白表达上调, GPX4 蛋白表达下调, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。与 R 组比较, R+F 组小鼠小肠组织出现大量绒毛及固有膜破坏、脱落, Chiu's 评分、MDA 水平、 $Fe^{2+}$  水平升高, GSH 和 SOD 水平降低, ACSL4 蛋白表达上调, GPX4 蛋白表达下调, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论** 白藜芦醇可能通过抗氧化作用及抑制铁死亡减轻 IIR 引起的损伤。

**[关键词]** 小肠; 缺血再灌注损伤; 铁死亡; 白藜芦醇

**[中图法分类号]** R614.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2025)01-0037-06

## Mechanism of resveratrol alleviating intestinal ischemia reperfusion injury by inhibiting ferroptosis\*

XU Hongsen<sup>1</sup>, HE Jian<sup>1</sup>, ZHAO Weicheng<sup>2△</sup>

(1. Department of Anesthesiology, Foshan Municipal First People's Hospital, Foshan, Guangdong 528000, China; 2. Department of Research and Teaching, Foshan Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Foshan, Guangdong 528000, China)

**[Abstract]** **Objective** To observe the effect of resveratrol on intestinal ischemia reperfusion (IIR) injury and its correlation with ferroptosis. **Methods** The mice IIR injury model was constructed. The mice were divided into the sham operation group (group S), IIR injury group (group D), IIR injury + resveratrol group (group R), IIR injury + ferroptosis inducer group (group F), IIR injury treatment + resveratrol + ferroptosis inducer group (group R+F). The various groups adopted different drug doses and methods. The intestinal tissue sections were taken for performing the HE staining and the pathological changes were observed by the light microscope. ELISA was used to detect the levels of malondialdehyde (MDA), ferrous ion ( $Fe^{2+}$ ), glutathione (GSH) and super oxide dismutase (SOD). Western blot was used to detect the expression levels of glutathione peroxidase 4 (GPX4) and acyl-co synthetase family member 4 (ACSL4) protein. **Results** Compared with the group S, the small intestine tissue damage in the group D, R, F and R+F was aggravated, the Chiu's score, MDA and  $Fe^{2+}$  levels were increased, GSH and SOD levels were decreased ( $P < 0.05$ ), the ACSL4 protein expression was up-regulated, GPX4 protein expression was down-regulated, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). Compared with the group D, the small intestine tissue in the group R appeared subapical villous injury, Chiu's score, MDA and  $Fe^{2+}$  levels were decreased, the GSH and SOD levels

\* 基金项目: 广东省中医药局面上项目(20222212); 佛山市自筹经费类科技创新项目(2320001007565)。△ 通信作者, E-mail: zwchsums@126.com。

were increased, the ACSL4 protein expression was down-regulated and GPX4 protein expression was up-regulated, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ); the small intestine tissue in the group F appeared villi fall off accompanied by bleeding and ulcer formation, Chiu's score, MDA level and  $Fe^{2+}$  level were increased, GSH and SOD levels were decreased, ACSL4 protein expression level was up-regulated, GPX4 protein expression was down-regulated, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). Compared with the R group, the small intestine tissue in the R+F group appeared a large number of villi and lamina propria, which were damaged and fell off, Chiu's score, MDA and  $Fe^{2+}$  levels were increased, GSH and SOD levels were decreased, ACSL4 protein expression was up-regulated and GPX4 protein expression was down-regulated, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Resveratrol may alleviate intestinal injury caused by IIR through antioxidation action and inhibiting ferroptosis.

**[Key words]** small intestine; ischemic reperfusion injury; ferroptosis; resveratrol

肠缺血再灌注 (intestine ischemic reperfusion, IIR) 损伤是临床常见的危重症, 围手术期各种原因引起低灌注状态, 如失血性休克、体外心肺转流、感染性休克、严重的脑损伤和重大创伤等都可以诱发 IIR 损伤的发生。有研究显示, IIR 损伤约占机体器官缺血再灌注损伤总发病率的 1/3, 死亡率高达 60% ~ 80%<sup>[1-2]</sup>。IIR 损伤引起肠上皮细胞大量死亡, 导致肠黏膜屏障受损, 肠道内大量毒素被吸收入血, 严重情况下还会导致全身器官组织出现炎症及功能障碍<sup>[3]</sup>。细胞的死亡方式主要包括凋亡、自噬、坏死性凋亡、焦亡和铁死亡等多种方式, 但是在 IIR 损伤中, 细胞发生何种死亡方式目前并未明确<sup>[4-5]</sup>。铁死亡是一种铁依赖性的、以细胞内活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 过度堆积为特征的细胞死亡, 它不能被凋亡、焦亡、自噬和程序性坏死的抑制剂所抑制, 但可以被抗氧化剂和铁整合剂所抑制的新型程序性细胞死亡形式<sup>[6]</sup>。白藜芦醇是一种多酚类化合物, 主要存在于虎杖、葡萄、桑椹等植物中, 它是天然抗氧化剂, 通过清除体内自由基或抑制其生成、调节抗氧化酶类活性等机制, 较好地发挥抗氧化作用<sup>[7-8]</sup>。白藜芦醇对 IIR 损伤具有较好的保护作用<sup>[9]</sup>, 但是否通过铁死亡减轻 IIR 损伤尚不清楚。本研究拟构建小鼠 IIR 损伤模型, 观察白藜芦醇对 IIR 损伤的影响, 探讨铁死亡在其中的作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

SPF 级健康 C57BL/6 小鼠 40 只, 雄性, 6~8 周龄, 体重 22~25 g, 由广州晴乐生命有限公司提供, 动物许可证号: SCXK(粤)2020-0052。本研究经广东省医学实验动物中心实验动物伦理委员会批准(审批号: CS202309-40)。

### 1.2 主要试剂与仪器

白藜芦醇(化学物质登录号: 501-36-0, 美国 Sigma-Aldrich 公司), DMSO(批号: 710N0313, 北京索莱宝生物科技有限公司), 咪唑酮伊拉斯汀(imidazole ketone erastin, IKE; 货号: DC22092, 上海源溪生物科技有限公司), 超氧化物歧化酶(super oxide dis-

mutase, SOD) 测定试剂盒(货号: A001-3, 南京建成生物工程研究所), 谷胱甘肽(glutathione, GSH) 检测试剂盒(货号: S0053, 碧云天生物技术研究), 丙二醛(malondialdehyde, MDA) 比色法试剂盒(货号: E-BC-K025-M, 武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司), 亚铁比色法试剂盒(货号: E-BC-K773-M, 武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司); 长链酯酰辅酶 A 合成酶 4 (acyl-CoA synthetase long-chain family member 4, ACSL4) 一抗(货号: DF12141-50  $\mu$ L, 美国 Affinity 公司)、谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4) 一抗(货号: DF6701-50  $\mu$ L, 美国 Affinity 公司) 和  $\beta$ -actin 一抗(货号: AF7018-100  $\mu$ L, 美国 Affinity 公司) 稀释液, 辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔/鼠二抗(货号: S0001-100  $\mu$ L, 美国 Affinity 公司); 化学发光仪(型号: 12009077, 伯乐生命医学有限公司)。

## 1.3 方法

### 1.3.1 建模与分组

在实验开始前小鼠禁食 12 h, 自由饮水, 采用文献[10]的方法建立 IIR 模型。小鼠腹腔注射 1% 水硫酸妥钠 60 mg/kg 麻醉后, 仰卧位固定于小动物实验台上。腹部手术区域备皮, 沿腹部中线纵向开腹, 显露肠组织, 于左侧肾脏十一点方向定位并分离出肠系膜上动脉, 用无创血管夹夹闭后铺无菌纱布覆盖伤口, 夹闭时间为 45 min, 将无创血管夹移除后进行缝合, 再灌注 30 min。实验过程中将小鼠置于 37  $^{\circ}$ C 热垫上维持体温稳定。于再灌注 30 min 时经心脏使用生理盐水灌流后, 采用颈椎脱臼法处死小鼠, 取距回盲部 5 cm 以上的小肠, 并将部分小肠组织使用 10% 甲醛进行固定, 部分放入 -80  $^{\circ}$ C 冰箱保存。采用随机数字表法将小鼠分为假手术组(S 组)、IIR 损伤组(D 组)、IIR 损伤+白藜芦醇组(R 组)、IIR 损伤+铁死亡诱导剂组(F 组)、IIR 损伤+白藜芦醇+铁死亡诱导剂组(R+F 组), 每组 8 只。S 组仅分离肠系膜上动脉而不夹闭, 其余各组制备小鼠 IIR 损伤模型。参考文献[10-11]的药物使用剂量及方法, R 组及 R+F 组术前 5 d 腹腔注射 15 mg/kg 白藜芦醇, 1 次/d, 连续 5 d; S 组、D 组及 F 组术前 5 d 腹腔注射等容量 0.02%

DMSO。F 组及 R+F 组术前 90 min 腹腔注射 50 mg/kg IKE;S 组、D 组及 R 组术前 90 min 腹腔注射等容量的 0.02% DMSO。

### 1.3.2 苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色观察小鼠小肠组织病理改变

取 10% 甲醛固定 2 d 后的各组小鼠小肠组织进行石蜡包埋、切片,行 HE 染色,于光镜下观察肠壁损伤情况。采用 Chiu's 评分评价小鼠小肠组织病理学损伤情况:正常黏膜绒毛为 0 分;部分绒毛顶端出现上皮中空隙为 1 分;绒毛尖端上皮中空隙广泛存在为 2 分;广泛的上皮层与固有层分离,上皮细胞脱落坏死,局部绒毛顶端出现断裂为 3 分;大量绒毛及固有膜破坏、脱落,毛细血管扩张,固有膜细胞增加为 4 分;固有膜结构破坏,伴出血和溃疡为 5 分。

### 1.3.3 ELISA 检测小鼠小肠组织 SOD、GSH、MDA、 $Fe^{2+}$ 水平

取  $-80^{\circ}\text{C}$  的各组小鼠小肠组织,检测 SOD、GSH、MDA、 $Fe^{2+}$  水平,所有操作严格按照说明书书进行。

### 1.3.4 Western blot 检测小鼠小肠组织 ACSL4、GPX4 蛋白表达

取  $-80^{\circ}\text{C}$  各组小鼠小肠组织 100 mg,加入 RIPA 与磷酸酶抑制剂及蛋白酶抑制剂预先混合裂解液裂解后离心,取上清液,BCA 蛋白定量试剂盒检测蛋白浓度。十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodi-

um dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)后转至聚偏二氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜上,使用 5% 脱脂牛奶封闭后加入 ACSL4 一抗(稀释度 1:3 000)、GPX4 一抗(稀释度 1:3 000)和  $\beta$ -actin 一抗(稀释度:1:3 000), $4^{\circ}\text{C}$  摇床过夜。次日在室温下用 TBST 洗膜 5 次,封闭液 1:3 000 稀释辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔/鼠二抗,室温孵育 2 h。孵育完成后,再次使用 TBST 洗膜 5 次,随后将膜置于化学发光仪中进行曝光。使用 Image J 软件分析结果,计算蛋白条带灰度值与内参条带灰度值的比值。

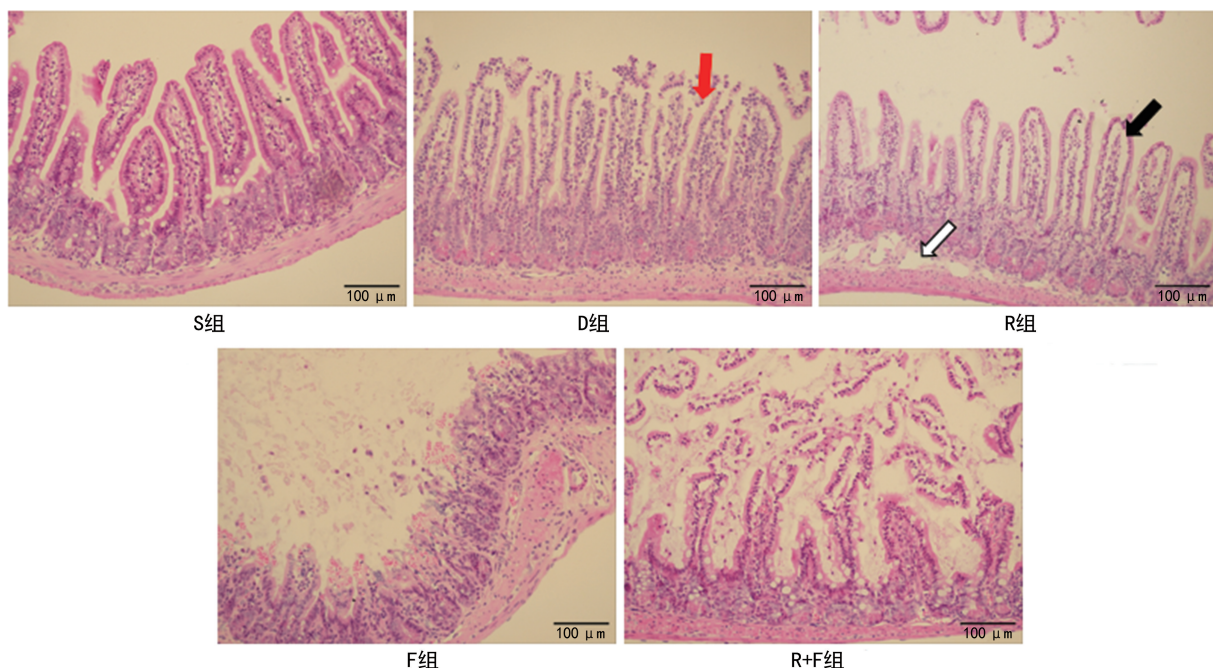
### 1.4 统计学处理

采用 SPSS25.0 软件进行统计分析。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,两两比较采用 LSD-*t* 检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

### 2.1 各组小鼠小肠组织病理变化

S 组小鼠小肠组织黏膜正常,腺体及绒毛结构完整;D 组小肠黏膜表现为大量肠上皮脱落,绒毛顶端出现断裂;R 组小肠黏膜出现损伤,可见绒毛顶端下皮损伤,同时伴有毛细血管充血;F 组小鼠小肠黏膜损伤表现为肠绒毛脱落,有出血灶和溃疡形成;R+F 组小鼠肠组织损伤表现为大量绒毛及固有膜破坏、脱落,见图 1。



红色箭头示绒毛顶端出现断裂;黑色箭头示绒毛顶端下皮损伤;白色箭头示毛细血管充血。

图 1 光镜下各组小鼠小肠组织病理学结果(HE 染色,  $40\times$ )

### 2.2 各组小鼠小肠组织 Chiu's 评分、MDA、SOD 水平比较

与 S 组比较,D 组、R 组、F 组小鼠及 R+F 组小

肠组织 Chiu's 评分、MDA 水平升高( $P < 0.05$ ), SOD 水平降低( $P < 0.05$ );与 D 组比较,R 组小鼠小肠组织 Chiu's 评分、MDA 水平降低( $P < 0.05$ ),

SOD 水平升高( $P < 0.05$ ),F 组小鼠小肠组织 Chiu's 评分、MDA 水平( $P < 0.05$ ),SOD 水平下降( $P < 0.05$ );与 R 组比较,R+F 组小鼠小肠组织 Chiu's 评分、MDA 水平升高( $P < 0.05$ ),SOD 水平降低( $P < 0.05$ ),见表 1。

表 1 各组小鼠小肠组织 Chiu's 评分、MDA 及 SOD 水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别    | <i>n</i> | Chiu's 评分 (分)                 | MDA ( $\mu\text{mol/gprot}$ )  | SOD (U/mgprot)                |
|-------|----------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| S 组   | 8        | 0.25 $\pm$ 0.43               | 8.25 $\pm$ 0.21                | 2.28 $\pm$ 0.23               |
| D 组   | 8        | 3.00 $\pm$ 0.50 <sup>a</sup>  | 19.97 $\pm$ 2.42 <sup>a</sup>  | 1.76 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>  |
| R 组   | 8        | 1.63 $\pm$ 0.70 <sup>ab</sup> | 14.71 $\pm$ 1.34 <sup>ab</sup> | 1.99 $\pm$ 0.06 <sup>ab</sup> |
| F 组   | 8        | 4.25 $\pm$ 0.66 <sup>ab</sup> | 24.59 $\pm$ 5.16 <sup>ab</sup> | 1.19 $\pm$ 0.20 <sup>ab</sup> |
| R+F 组 | 8        | 3.88 $\pm$ 0.60 <sup>ac</sup> | 23.35 $\pm$ 4.27 <sup>ac</sup> | 1.29 $\pm$ 0.38 <sup>ac</sup> |

<sup>a</sup>: $P < 0.05$ ,与 S 组比较;<sup>b</sup>: $P < 0.05$ ,与 D 组比较;<sup>c</sup>: $P < 0.05$ ,与 R 组比较。

### 2.3 各组小鼠小肠组织 GSH、Fe<sup>2+</sup> 水平比较

与 S 组比较,D 组、R 组、F 组及 R+F 组小鼠小肠组织 Fe<sup>2+</sup> 水平升高、GSH 水平降低( $P < 0.05$ );与 D 组比较,R 组小鼠小肠组织 Fe<sup>2+</sup> 水平降低、GSH 水平升高( $P < 0.05$ ),F 组小鼠小肠组织 Fe<sup>2+</sup> 水平升高、GSH 水平下降( $P < 0.05$ );与 R 组比较,R+F 组

小鼠小肠组织 Fe<sup>2+</sup> 水平升高、GSH 水平降低( $P < 0.05$ ),见表 2。

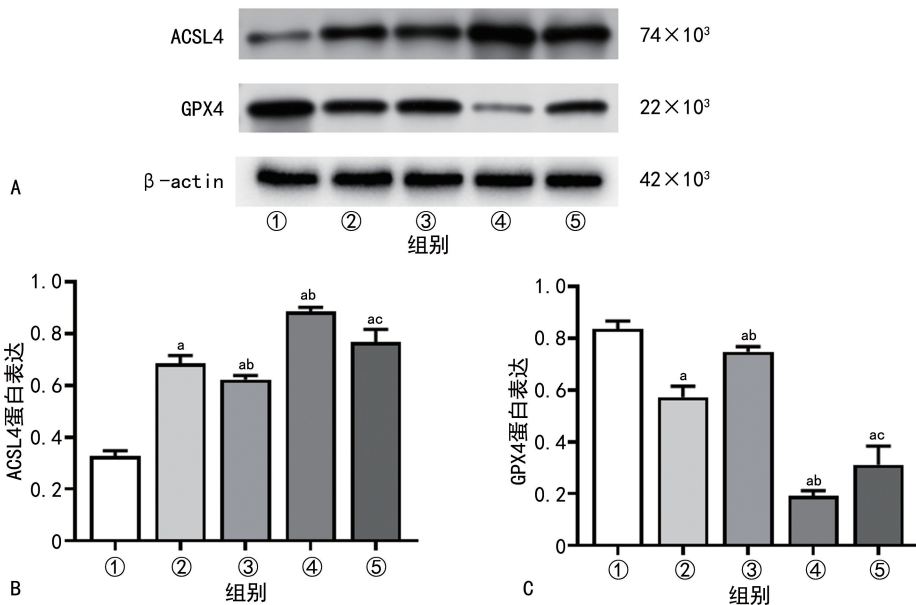
表 2 各组小鼠小肠组织 Fe<sup>2+</sup>、GSH 水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别    | <i>n</i> | Fe <sup>2+</sup> ( $\mu\text{mol/gprot}$ ) | GSH ( $\mu\text{mol/gprot}$ )    |
|-------|----------|--|----------------------------------|
| S 组   | 8        | 3.59 $\pm$ 0.70                            | 177.67 $\pm$ 44.85               |
| D 组   | 8        | 6.13 $\pm$ 0.26 <sup>a</sup>               | 86.51 $\pm$ 12.77 <sup>a</sup>   |
| R 组   | 8        | 5.27 $\pm$ 0.32 <sup>ab</sup>              | 117.36 $\pm$ 10.51 <sup>ab</sup> |
| F 组   | 8        | 7.25 $\pm$ 0.74 <sup>ab</sup>              | 53.61 $\pm$ 17.81 <sup>ab</sup>  |
| R+F 组 | 8        | 6.88 $\pm$ 0.32 <sup>ac</sup>              | 55.20 $\pm$ 15.07 <sup>ac</sup>  |

<sup>a</sup>: $P < 0.05$ ,与 S 组比较;<sup>b</sup>: $P < 0.05$ ,与 D 组比较;<sup>c</sup>: $P < 0.05$ ,与 R 组比较。

### 2.4 各组小鼠小肠组织 ACSL4、GPX4 蛋白表达比较

与 S 组比较,D 组、R 组、F 组及 R+F 组小鼠小肠组织 ACSL4 蛋白表达上调、GPX4 蛋白表达下调( $P < 0.05$ );与 D 组比较,R 组小鼠小肠组织 ACSL4 蛋白表达下调、GPX4 蛋白表达上调( $P < 0.05$ ),F 组小鼠小肠组织 ACSL4 蛋白表达上调、GPX4 蛋白表达下调( $P < 0.05$ );与 R 组比较,R+F 组小鼠小肠组织 ACSL4 蛋白表达上调、GPX4 蛋白表达下调( $P < 0.05$ ),见图 2。



A: 蛋白条带图;B: 各组小鼠小肠组织 ACSL4 蛋白表达比较;C: 各组小鼠小肠组织 GPX4 蛋白表达比较;<sup>a</sup>: $P < 0.05$ ,与 ① 比较;<sup>b</sup>: $P < 0.05$ ,与 ② 比较;<sup>c</sup>: $P < 0.05$ ,与 ③ 比较;①: S 组;②: D 组;③: R 组;④: F 组;⑤: R+F 组。

图 2 各组小鼠小肠组织 ACSL4、GPX4 蛋白表达比较

## 3 讨论

IIR 损伤主要是由于血栓或者失血性休克等原因导致的小肠低灌注状态。IIR 损伤产生局部组织损伤并损害肠黏膜的屏障功能,从而导致肠道内部的细菌和内毒素进入血液中,进而引起炎症细胞活化并释放大量氧化应激产物、细胞因子、炎症介质等,在加重肠

道组织损伤的同时也会诱发全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS),更有甚者还会发展为多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS),具有较高的致残率和死亡率<sup>[12-13]</sup>。虽然 IIR 损伤的机制仍未完全明确,但是各种介质如机体中清除 ROS 的关键

酶类 SOD 及脂质进行过氧化反应的最终产物 MDA 已被证实与器官缺血再灌注损伤有关<sup>[14-15]</sup>。本研究采用无创血管夹夹闭 45 min 后恢复灌注 30 min 的方法制备小鼠 IIR 损伤模型,结果显示与 S 组比较,D 组小鼠小肠组织病理学损伤严重,SOD 水平降低,Chiu's 评分和 MDA 水平升高,提示模型制备成功。然而与既往研究的模型比较,损伤程度有所减轻,与 LI 等<sup>[16]</sup>研究相比,本研究 IIR 损伤模型 Chiu's 评分较低,小肠组织少有出现明显的溃疡、出血等表现,损伤程度与缺血时间有关,缺血时间在 30~60 min 会出现 IIR 损伤,虽然回肠、空肠均属于小肠,但是它们对缺氧的耐受程度存异,且夹闭肠系膜上动脉可导致空回肠的血流下降 71%,因此可能影响 IIR 损伤程度,从而造成损伤评分与既往研究不一致<sup>[17]</sup>。

铁死亡是依赖于  $\text{Fe}^{2+}$  的细胞死亡形式,其生化特征表现为  $\text{Fe}^{2+}$  的增加、脂质过氧化物堆积及 GPX4 减少,形态特征上表现为线粒体缩小、线粒体嵴减少,甚至消失<sup>[18]</sup>。ACSL4 能够促进多不饱和脂肪酸激活为长链酰基 CoA,后者在溶血磷脂酰胆碱酰基转移酶 3 (lysophosphatidylcholine acyltransferase 3, LPCAT3) 的作用下被插入细胞膜的磷脂中,并在生物膜上累积,改变了生物膜的成分比例,造成生物膜结构和功能变化,使得细胞膜的脂质双分子层的通透性、流动性都发生了一定的改变,从而引起细胞死亡<sup>[19-20]</sup>。从脂质过氧化的角度来说,其降解产物 MDA 和 4-羟基壬烯酸(4-hydroxynonenal, 4-HNE) 等有毒醛类具有一定的细胞毒性,可以对核酸及蛋白质的结构及功能进行一定的共价修饰,最终导致细胞由于铁过载而坏死<sup>[21]</sup>。而 GPX4 是重要的含硒抗氧化蛋白,其主要作用是促进过氧化氢分解,并将其转化为脂质醇,从而达到防止细胞出现氧化损伤,抑制脂质 ROS 生成的目的,有助于维持质膜流动性,以保护细胞免受脂质攻击,是铁死亡的负性调控因子<sup>[22]</sup>。既往研究观察到铁死亡参与 IIR 损伤过程,然而 IIR 损伤引起肠组织的铁死亡增加可能存在两种作用,一是铁死亡增加促进 IIR 损伤,二是铁死亡增加是机体应对 IIR 损伤的一种负反馈机制,它的增加是为了避免进一步由 IIR 引起损伤。为了进一步评估铁死亡在 IIR 损伤中的作用,本研究在模型构建前 90 min 采用腹腔注射 50 mg/kg 铁死亡诱导剂 IKE<sup>[11]</sup>。结果显示,与 D 组相比,小鼠使用铁死亡诱导剂后,小肠组织出现溃疡、出血,损伤明显加重,MDA 水平明显升高,SOD 水平明显降低,提示 IIR 损伤加重;同时  $\text{Fe}^{2+}$  水平明显上升,GSH 水平明显降低,ACSL4 蛋白表达上调,GPX4 蛋白表达下调,提示诱导铁死亡将加重 IIR 损伤。

白藜芦醇属多酚化合物,在抗氧化、抗炎等方面发挥作用<sup>[23]</sup>。本文参照文献<sup>[10]</sup>选择于造模前 5 d,每天腹腔注射 1 次白藜芦醇 15 mg/kg。SOD 水平的高低间接反映了机体清除氧自由基的能力,而 MDA

水平的高低又间接反映了机体受氧自由基攻击的严重程度。本研究显示,与 D 组相比,R 组小鼠小肠组织 Chiu's 评分降低,光镜下表现为上皮间隙增宽,降低了小肠中氧自由基的最终产物 MDA 水平,同时提高了机体内抗氧化物 SOD 水平。表明白藜芦醇通过其抗氧化作用减轻 IIR 损伤。

LI 等<sup>[24]</sup>研究表明,白藜芦醇能够调控铁死亡进而发挥保护心脏的作用。本研究发现,白藜芦醇降低了  $\text{Fe}^{2+}$  水平及 ACSL4 蛋白表达,升高了 GSH 水平及 GPX4 蛋白表达,提示白藜芦醇可能通过抑制铁死亡参与减轻 IIR 损伤。为了进一步明确藜芦醇是否通过铁死亡调控 IIR 损伤,在白藜芦醇预处理后使用铁死亡诱导剂发现,与 R 组相比,R+F 组小肠组织光镜下表现为大量绒毛及固有膜破坏、脱落,小肠组织 Chiu's 评分、 $\text{Fe}^{2+}$  及 MDA 水平升高,SOD 及 GSH 水平降低,ACSL4 蛋白表达上调,GPX4 蛋白表达下调,表明诱导铁死亡能够减弱白藜芦醇对 IIR 损伤的保护作用。

综上所述,白藜芦醇可能通过抗氧化作用及抑制铁死亡进而减轻 IIR 引起的肠损伤。

## 参考文献

- [1] DENG F, LIN Z B, SUN Q S, et al. The role of intestinal microbiota and its metabolites in intestinal and extraintestinal organ injury induced by intestinal ischemia reperfusion injury[J]. *Int J Biol Sci*, 2022, 18(10): 3981-3992.
- [2] HUANG Z, BAI Y, CHEN Y, et al. Attenuation of intestinal ischemia-reperfusion-injury by anesthetics: a potentially protective effect of anesthetic management in experimental studies[J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1367170.
- [3] LI W, YANG K, LI B, et al. Corilagin alleviates intestinal ischemia/reperfusion-induced intestinal and lung injury in mice via inhibiting NLRP3 inflammasome activation and pyroptosis [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 1060104.
- [4] SHI Y, JIANG B, ZHAO J. Induction mechanisms of autophagy and endoplasmic reticulum stress in intestinal ischemia-reperfusion injury, inflammatory bowel disease, and colorectal cancer [J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 170: 115984.
- [5] LUAN X, CHEN P, MIAO L, et al. Ferroptosis in organ ischemia-reperfusion injuries: recent advancements and strategies [J/OL]. *Mol Cell Biochem*. [2024-08-18]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38556592/>.

- [6] DIXON S J, OLZMANN J A. The cell biology of ferroptosis[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2024, 25(6):424-442.
- [7] POURBAGHER-SHAHRI A M, FARKHONDEH T, JAFARI-NOZAD A M, et al. Nrf2 mediates effect of resveratrol in ischemia-reperfusion injury[J]. *Curr Mol Pharmacol*, 2024, 17: e18761429246578.
- [8] DANIŞMAN B, ERCAN K S, ASLAN M. Resveratrol in neurodegeneration, in neurodegenerative diseases, and in the redox biology of the mitochondria[J]. *Psychiatry Clin Psychopharmacol*, 2023, 33(2):147-155.
- [9] PARLAR A, ARSLAN S O. Resveratrol normalizes the deterioration of smooth muscle contractility after intestinal ischemia and reperfusion in rats associated with an antioxidative effect and modulating tumor necrosis factor alpha activity[J]. *Ann Vasc Surg*, 2019, 61: 416-426.
- [10] 王靖, 赵伟成, 彭伟龙, 等. 白藜芦醇对肠缺血再灌注大鼠急性肺损伤时 NADPH 氧化酶活性的影响[J]. *中华麻醉学杂志*, 2017, 37(9): 1139-1141.
- [11] ZHANG Y, TAN H, DANIELS J D, et al. Imidazole ketone erastin induces ferroptosis and slows tumor growth in a mouse lymphoma model[J]. *Cell Chem Biol*, 2019, 26(5): 623-633.
- [12] DUGBARTEY G J, NANTEER D, OSAE I. Nitric oxide protects intestinal mucosal barrier function and prevents acute graft rejection after intestinal transplantation: a mini-review[J]. *Nitric Oxide*, 2024, 149:1-6.
- [13] HU J, DENG F, ZHAO B, et al. *Lactobacillus murinus* alleviate intestinal ischemia/reperfusion injury through promoting the release of interleukin-10 from M2 macrophages via Toll-like receptor 2 signaling[J]. *Microbiome*, 2022, 10(1):38.
- [14] XU K, GAO X, XIA G, et al. Rapid gut dysbiosis induced by stroke exacerbates brain infarction in turn [J/OL]. *Gut*. [2024-08-18]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33558272/>.
- [15] MEI Z, DU L, LIU X, et al. Diosmetin alleviated cerebral ischemia/reperfusion injury in vivo and in vitro by inhibiting oxidative stress via the SIRT1/Nrf2 signaling pathway[J]. *Food Funct*, 2022, 13(1):198-212.
- [16] LI Y, FENG D, WANG Z, et al. Ischemia-induced ACSL4 activation contributes to ferroptosis-mediated tissue injury in intestinal ischemia/reperfusion[J]. *Cell Death Differ*, 2019, 26(11):2284-2299.
- [17] SHI Y, ZHANG X, WAN Z, et al. Mesenchymal stem cells against intestinal ischemia-reperfusion injury: a systematic review and meta-analysis of preclinical studies[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13(1):216.
- [18] STOCKWELL B R. Ferroptosis turns 10: emerging mechanisms, physiological functions, and therapeutic applications[J]. *Cell*, 2022, 185(14):2401-2421.
- [19] SHAH R, SHCHEPINOV M S, PRATT D A. Resolving the role of lipoxygenases in the initiation and execution of ferroptosis[J]. *ACS Cent Sci*, 2018, 4(3):387-396.
- [20] DOLL S, PRONETH B, TYURINA Y Y, et al. ACSL4 dictates ferroptosis sensitivity by shaping cellular lipid composition[J]. *Nat Chem Biol*, 2017, 13(1):91-98.
- [21] CHEN X, TSVETKOV A S, SHEN H M, et al. International consensus guidelines for the definition, detection, and interpretation of autophagy-dependent ferroptosis[J]. *Autophagy*, 2024, 20(6): 1213-1246.
- [22] JIANG Y, GLANDORFF C, SUN M. GSH and ferroptosis: side-by-side partners in the fight against tumors[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2024, 13(6):697.
- [23] XU J, ZHANG Y, YAO X, et al. Intestinal targeted nanogel with broad-spectrum autonomous ROS scavenging performance for enhancing the bioactivity of trans-resveratrol[J]. *Int J Nanomedicine*, 2024, 19:5995-6014.
- [24] LI T, TAN Y, OUYANG S, et al. Resveratrol protects against myocardial ischemia-reperfusion injury via attenuating ferroptosis [J]. *Gene*, 2022, 808:145968.