

# 大蒜素对脓毒症大鼠肠黏膜屏障的保护作用

高敏 肖雪飞 彭玥 肖献忠 杨明施

410013 长沙, 中南大学湘雅三院急危重症医学中心

通信作者: 杨明施, Email: xyym2004@163.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2016.02.006

**【摘要】目的** 研究大蒜素对脓毒症大鼠肠黏膜屏障功能的保护作用, 并初步探讨其机制。**方法** 24 只雄性 SD 大鼠随机 (随机数字法) 分为假手术组、脓毒症模型组、大蒜素治疗组, 每组 8 只。脓毒症模型采用盲肠结扎穿孔 (cecum ligation and puncture, CLP), 6 h 及 12 h 后用大蒜素 (30 mg/kg, ip) 干预, 假手术组及模型组于同时间点给予等量生理盐水。24 h 后处死大鼠检测血清 D-乳酸、二胺氧化酶 (diamine oxidase, DAO) 活性、荧光异硫氰酸盐葡聚糖 (fluorescence isothiocyanate dextran, FITC-Dextran, FD-40) 水平; 检测肠组织肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor alpha, TNF- $\alpha$ )、白介素-6 (interleukin-6, IL-6)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 水平及超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活性, 并取部分小肠组织进行组织病理学分析。统计方法采用单因素方差分析。**结果** 与假手术组比较, CLP 组大鼠血清 D-乳酸、DAO 活性及 FD-40 水平明显升高 [D-乳酸 (nmol/mL): (599.4  $\pm$  101.1) vs. (149.2  $\pm$  20.63),  $t = 11.84$ ,  $P < 0.01$ ; DAO (ng/mL): (302.1  $\pm$  64.56) vs. (76.57  $\pm$  14.76),  $t = 9.433$ ,  $P < 0.01$ ; FD-40 (ng/mL): (6664.0  $\pm$  1437.0) vs. (1446.0  $\pm$  205.0),  $t = 9.704$ ,  $P < 0.01$ ]; 病理切片示 CLP 组大鼠肠道形态学损伤明显; 肠组织中 TNF- $\alpha$ 、IL-6、MDA 水平明显升高 [TNF- $\alpha$  (pg/mL): (186.35  $\pm$  20.43) vs. (58.76  $\pm$  8.94),  $t = 17.23$ ,  $P < 0.01$ ; IL-6 (pg/mL): (763.25  $\pm$  85.23) vs. (125.36  $\pm$  14.37),  $t = 22.54$ ,  $P < 0.01$ ; MDA (nmol/mg prot): (29.36  $\pm$  3.27) vs. (7.24  $\pm$  0.85),  $t = 16.61$ ,  $P < 0.01$ ], SOD 活性降低 [SOD (U/mg prot): (35.75  $\pm$  6.53) vs. (73.26  $\pm$  8.35),  $t = 10.57$ ,  $P < 0.01$ ]。大蒜素显著减少脓毒症诱导的血清中 D-乳酸、DAO 活性及 FD-40 的升高 [D-乳酸 (nmol/mL): (330.1  $\pm$  81.77) vs. (599.4  $\pm$  101.1),  $t = 7.086$ ,  $P < 0.01$ ; DAO (ng/mL): (171.8  $\pm$  49.70) vs. (302.1  $\pm$  64.56),  $t = 5.45$ ,  $P < 0.01$ ; FD-40 (ng/mL): (3349.0  $\pm$  1167.0) vs. (6664.0  $\pm$  1437.0),  $t = 6.165$ ,  $P < 0.01$ ]; 病理切片显示大蒜素减轻肠道形态学损伤; 大蒜素明显抑制肠组织中 TNF- $\alpha$ 、IL-6、MDA 水平 [TNF- $\alpha$  (pg/mL): (95.37  $\pm$  12.68) vs. (186.35  $\pm$  20.43),  $t = 12.29$ ,  $P < 0.01$ ; IL-6 (pg/mL): (354.27  $\pm$  46.27) vs. (763.25  $\pm$  85.23),  $t = 14.45$ ,  $P < 0.01$ ; MDA (nmol/mg prot): (16.27  $\pm$  3.14) vs. (29.36  $\pm$  3.27),  $t = 9.831$ ,  $P < 0.01$ ], 增加 SOD 活性 [SOD (U/mg prot): (55.35  $\pm$  6.23) vs. (35.75  $\pm$  6.53),  $t = 5.522$ ,  $P < 0.01$ ]。**结论** 大蒜素对 CLP 诱导的肠黏膜屏障功能具有保护作用, 其机制可能与抑制炎症和氧化应激有关。

**【关键词】** 大蒜素; 脓毒症; 肠屏障功能; D-乳酸; 二胺氧化酶; 荧光异硫氰酸盐葡聚糖; 炎症; 氧化应激

**基金项目:** 国家自然科学基金 (81501710)

**Protective effect of Allicin on intestinal mucosal barrier of septic rats** Gao Min, Xiao Xuefei, Peng Yue, Xiao Xianzhong, Yang Mingshi.

Department of Emergency and Critical Care Medicine, The Third Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410013, China

Corresponding author: Yang Mingshi, Email: xyym2004@163.com

**【Abstract】Objective** To investigate the protective effect of allicin on intestinal mucosal barrier of septic rats so as to explore the possible mechanism. **Methods** Twenty-four male SD rats were randomly (random

number) divided into sham, septic model and allicin treatment group. Septic model was established by cecal ligation and puncture (CLP) in rats. Rats in the treatment group were administered with allicin (30 mg/kg, ip) at 6 h and 12 h after modeling, while those in the model and sham groups were treated with equal amount of saline instead. Rats were sacrificed at 24 h and the serum D-lactic acid, diamine oxidase (DAO) and fluorescence isothiocyanate-dextran (FITC-Dextran, FD-40) were determined to evaluate the intestinal mucosal barrier function. The levels of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-6 (IL-6), malondialdehyde (MDA), and the activity of superoxide dismutase (SOD) in intestinal tissue were measured. Histopathological changes of intestinal mucosa injury were assessed by Hematoxylin-eosin staining. **Results** Compared with the sham group, levels of serum D-lactic acid, DAO and FD-40 increased significantly in the CLP group (D-lactic acid: 599. 4  $\pm$  101. 1 vs. 149. 2  $\pm$  20. 63 nmol/mL,  $t = 11. 84$ ,  $P < 0. 01$ ; DAO: 302. 1  $\pm$  64. 5 vs. 76. 57  $\pm$  14. 76 ng/mL,  $t = 9. 433$ ,  $P < 0. 01$ ; FD-40: 6664. 0  $\pm$  1437. 0 vs. 1446. 0  $\pm$  205. 0 ng/mL,  $t = 9. 704$ ,  $P < 0. 01$ ); intestinal morphology damage occurred in the CLP group; intestinal levels of TNF- $\alpha$ , IL-6 and MDA increased greatly (TNF- $\alpha$ : 186. 35  $\pm$  20. 43 vs. 58. 76  $\pm$  8. 94 pg/mL,  $t = 17. 23$ ,  $P < 0. 01$ ; IL-6: 763. 25  $\pm$  85. 23 vs. 125. 36  $\pm$  14. 37 pg/mL,  $t = 22. 54$ ,  $P < 0. 01$ ; MDA: 29. 36  $\pm$  3. 27 vs. 7. 24  $\pm$  0. 85 nmol/mg prot,  $t = 16. 61$ ,  $P < 0. 01$ ), while SOD activity reduced (35. 75  $\pm$  6. 53 vs. 73. 26  $\pm$  8. 35 U/mg prot,  $t = 10. 57$ ,  $P < 0. 01$ ) in the CLP group. Allicin treatment greatly inhibited the increase of D-lactic acid, DAO and FD-40 levels in rat plasma caused by CLP (D-lactic acid: 330. 1  $\pm$  81. 77 vs. 599. 4  $\pm$  101. 1 nmol/mL,  $t = 7. 086$ ,  $P < 0. 01$ ; DAO: 171. 8  $\pm$  49. 70 vs. 302. 1  $\pm$  64. 56 ng/mL,  $t = 5. 45$ ,  $P < 0. 01$ ; FD-40: 3349. 0  $\pm$  1167. 0 vs. 6664. 0  $\pm$  1437. 0 ng/mL,  $t = 6. 165$ ,  $P < 0. 01$ ); intestinal morphology damage was improved in the allicin treatment group; allicin treatment greatly inhibited the intestinal levels of TNF- $\alpha$ , IL-6 and MDA and preserved the intestinal SOD activity compared with the CLP group (TNF- $\alpha$ : 95. 37  $\pm$  12. 68 vs. 186. 35  $\pm$  20. 43 pg/mL,  $t = 12. 29$ ,  $P < 0. 01$ ; IL-6: 354. 27  $\pm$  46. 27 vs. 763. 25  $\pm$  85. 23 pg/mL,  $t = 14. 45$ ,  $P < 0. 01$ ; MDA: 16. 27  $\pm$  3. 14 vs. 29. 36  $\pm$  3. 27 nmol/mg prot,  $t = 9. 831$ ,  $P < 0. 01$ ; SOD: 55. 35  $\pm$  6. 23 vs. 35. 75  $\pm$  6. 53 U/mg prot,  $t = 5. 522$ ,  $P < 0. 01$ ). **Conclusions** Allicin could inhibit local inflammation and oxidative stress in the intestine and exerts protective effect on intestinal mucosal barrier of septic rats.

**【Key words】** Allicin; Sepsis; Intestinal mucosal barrier; D-lactic acid; Diamine oxidase; Fluorescein isothiocyanate-dextran; Inflammation; Oxidative stress

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (81501710)

脓毒症是感染导致的炎症反应综合征 (systematic inflammatory response, SIRS), 是重症监护病房的首位死亡原因之一<sup>[1-2]</sup>。肠道在 SIRS 及脓毒症发生、发展中起关键作用, 被认为是 SIRS 及脓毒症的“启动器官”<sup>[3]</sup>。在多种应激因素作用下, 肠黏膜屏障功能破坏, 肠内细菌及内毒素移位, 最终导致多器官功能障碍综合征 (multiple organ dysfunction syndrome, MODS) 发生, 乃至死亡<sup>[4]</sup>。保护肠道功能是防御 MODS 和降低脓毒症病死率的关键之一, 目前已成为危重病研究的热点。

大蒜素 (allicin) 是从可食用植物大蒜球茎中分离出来的有机硫化合物 (diallyldisulfid-S-oxide), 具有广谱抗菌、抗炎、抗氧化、抗肿瘤等多种生物学活性<sup>[5]</sup>。近年来研究表明大蒜素可防治消化道溃疡及溃疡性结肠炎、改善和增强小鼠小

肠的消化吸收功能, 提高肠道的防御能力<sup>[6-8]</sup>; 但有关大蒜素是否能够维护脓毒症肠黏膜屏障功能尚不清楚。本研究采用大鼠盲肠结扎穿刺 (cecum ligation and puncture, CLP) 制备脓毒症动物模型, 通过观测肠黏膜形态学、肠黏膜屏障功能指标、肠炎症因子表达及氧化应激指标的变化, 旨在了解大蒜素对脓毒症大鼠肠黏膜屏障功能的影响, 并初步探讨其作用机制, 以期为临床更有效地治疗脓毒症和拓展大蒜素的药理学作用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂

大蒜素购自江苏清江药业有限公司 (中国南京); 10% 水合氯醛购自湘雅三医院 (中国长沙); 血清 D-乳酸试剂盒购自美国 BioVision 公司 (美国加州); 大鼠 ELISA 试剂盒购自优尔生有限公司

(中国武汉); 丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 及超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 试剂盒购自南京建成生物工程研究所 (中国南京); 荧光异硫氰酸盐葡聚糖 (fluorescence isothiocyanate dextran, FITC-Dextran, FD-40) 购自 Sigama 公司 (美国纽约); 余实验室常规试剂购自鼎国生物技术有限公司。

## 1.2 动物与分组

8 周龄 SPF 级雄性 SD 大鼠 24 只, 体质量 220 ~ 250 g, 由中南大学实验动物中心提供。按随机数字表随机分为假手术组、脓毒症模型组、大蒜素治疗组, 每组 8 只。

## 1.3 造模及给药

采用 CLP 制备脓毒症模型, 大鼠术前 12 h 禁水禁食。采用 10% 水合氯醛 30 mg/kg 腹腔麻醉, 取前腹正中切口, 备皮, 酒精消毒, 沿前腹正中线作长约 2 cm 切口, 游离肠系膜和盲肠, 4 号丝线在盲肠血管弓内距盲肠盲端 1 ~ 1.5 cm 处结扎, 16 号针头于盲肠末端对合穿孔 2 次, 挤出肠内容物少许, 酒精棉球拭净, 逐层关腹。术后皮下注射生理盐水 20 mL/kg。假手术对照组除不结扎盲肠及盲肠穿孔外, 余同 CLP 组。治疗组术后 6 h 及 12 h 后用大蒜素 (30 mg/kg, ip) 干预, 假手术组及模型组于同时间点给予等量生理盐水。

## 1.4 标本采集

于术后 24 h 麻醉大鼠, 抽取肠系膜上静脉血 1 mL 后心脏取血 3 mL, 离心后取上清液备用。留取小肠组织 (距盲肠根部 15 cm 处) 用于形态学观察及部分冻存于液氮。

## 1.5 指标检测

1.5.1 血清中 D-乳酸水平测定 采用酶偶联紫外分光光度法检测血清中 D-乳酸水平, 其原理是 D-乳酸可被 D-乳酸脱氢酶特异性氧化产生有色氧化产物, 可于 450 nm 处检测。具体操作按说明书进行, 采用 BioRad550 酶标仪 (美国加州) 进行测定, 绘制标准曲线, 计算出 D-乳酸浓度。

1.5.2 血清中 DAO 测定 采用 ELISA 法检测 DAO 水平, 具体操作按说明书进行, 采用 BioRad550 酶标仪于 450 nm 处进行吸光度测定, 绘制标准曲线, 计算出 DAO 的浓度。

1.5.3 小肠黏膜通透性检测 各组大鼠于 CLP 术后 18 h 时用 FD-40 给大鼠灌胃 (750 mg/kg), 灌胃 6 h 后收集肠系膜上静脉血, 分离血清, 采用

BECKMAN 荧光分光光度仪 (美国加州) 进行吸光度测定 (激发光及发射光分别为 490 及 520 nm), 绘制标准曲线, 计算出肠系膜上静脉血 FD-40 浓度。

## 1.5.4 小肠组织中 MDA 含量及 SOD 活性的检测

低温保存的小肠组织, 加入 1 mol/L 的 HCL, 碾磨制成组织匀浆, 3 000 r/min, 离心 10 min, 取上清液, 按试剂盒说明用硫代巴比妥酸比色法测定 MDA、黄嘌呤氧化法测定 SOD 的活性变化。

## 1.5.6 小肠组织中 TNF- $\alpha$ 及 IL-6 的检测

低温保存的小肠组织, 加入 1 mol/L 的 HCL, 碾磨制成组织匀浆, 3 000 r/min, 离心 10 min, 取上清液, 采用 ELISA 法检测 TNF- $\alpha$  及 IL-6 水平, 具体操作按说明书进行, 采用 BioRad550 酶标仪进行测定, 绘制标准曲线, 计算出 TNF- $\alpha$  及 IL-6 的浓度。

## 1.5.7 组织病理学检查

小肠组织经生理盐水冲洗 3 遍后用 4% 中性多聚甲醛固定、常规脱水后石蜡包埋、切片以及 HE 染色后用于小肠形态学观察。

## 1.6 统计学方法

应用 SPSS 16.0 统计软件包对数据进行统计分析。所有数据以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示。组间分析采用单因素方差分析 (One-way ANOVA)。如方差齐性, 两两比较采用 LSD-*t* 法, 若方差不齐, 则采用 Dunnett T3 检验。以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

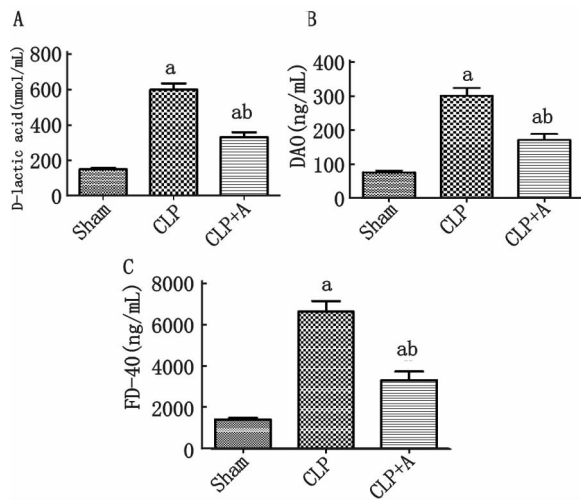
### 2.1 大蒜素对脓毒症大鼠肠黏膜屏障功能的影响

本研究检测了血 D-乳酸、DAO 及 FD-40 来反应脓毒症大鼠肠黏膜屏障功能的变化及大蒜素对其的影响。CLP 术后 6 h 及 12 h 分别予以大蒜素 (30 mg/kg) 治疗, 于术后 24 h 检测各组大鼠血清 D-乳酸及 DAO 水平。结果发现: 与假手术组比较, CLP 组大鼠血清 D-乳酸及 DAO 水平明显升高 [D-乳酸 (nmol/mL): 599.4  $\pm$  101.1 vs. 149.2  $\pm$  20.63,  $t = 11.84$ ,  $P < 0.01$ ; DAO (ng/mL): 302.1  $\pm$  64.56 vs. 76.57  $\pm$  14.76,  $t = 9.433$ ,  $P < 0.01$ ] (图 1A 和 1B); 而大蒜素治疗组可明显降低脓毒症引起的 D-乳酸及 DAO 水平升高 [D-乳酸 (nmol/mL): 330.1  $\pm$  81.77 vs. 599.4  $\pm$  101.1,  $t = 7.086$ ,  $P < 0.01$ ; DAO (ng/mL): 171.8  $\pm$  49.70 vs. 302.1  $\pm$  64.56,  $t = 5.45$ ,  $P < 0.01$ ] (图 1A 和 1B)。与假手术组比较, CLP 组大鼠肠系膜

上静脉血清 FD-40 水平明显升高 [FD-40 (ng/mL):  $6\ 664.0 \pm 1\ 437.0$  vs.  $1\ 446.0 \pm 205.0$ ,  $t=9.704$ ,  $P<0.01$ ] (图 1C); 而大蒜素治疗组肠系膜上静脉血清 FD-40 水平较 CLP 组明显降低 [FD-40 (ng/mL):  $3\ 349.0 \pm 1\ 167.0$  vs.  $6\ 664.0 \pm 1\ 437.0$ ,  $t=6.165$ ,  $P<0.01$ ] (图 1C)。

## 2.2 大蒜素对脓毒症大鼠小肠组织形态学的影响

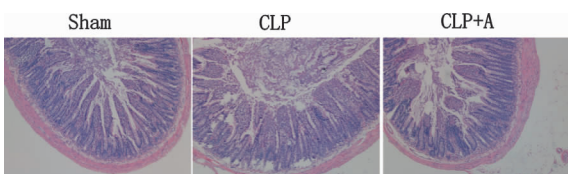
CLP 术后 6 h 及 12 h 分别予以大蒜素 (30 mg/kg) 治疗, 于术后 24h 检测各组小肠组织形态学变化。结果发现: 假手术组大鼠光镜下可见小肠结构正常, 组织无水肿, 肠绒毛结构正常, 微绒毛边缘清楚 (图 2)。CLP 组大鼠小肠肠壁变薄, 黏膜明显萎缩, 部分区域出现肠黏膜坏死、脱落, 绒毛断裂; 大量中性粒细胞及嗜酸性粒细胞细胞浸润 (图 2)。大蒜素治疗组仍有部分肠黏膜断裂、脱落, 但肠黏膜病变及炎性细胞浸润均相对轻微 (图 2)。



A, 血清 D-乳酸水平; B, 血清二胺氧化酶 (DAO) 活性; C, 肠系膜上静脉血清 FD-40 水平。与 sham 组比较, <sup>a</sup> $P<0.01$ ; #与 CLP 组比较, <sup>b</sup> $P<0.01$ 。Sham, 假手术组; CLP, 脓毒症模型组; CLP + A, 大蒜素治疗组

图 1 大蒜素对脓毒症大鼠肠黏膜屏障功能的影响

Fig 1 Effect of allicin on intestinal mucosal barrier of septic rats



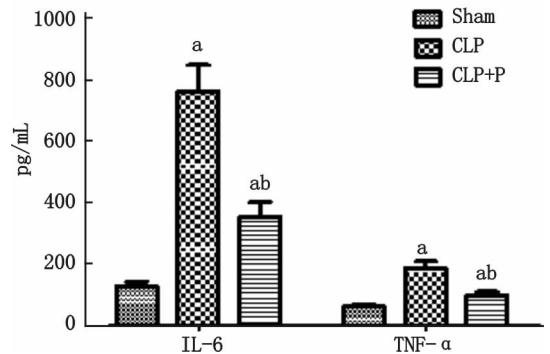
Sham, 假手术组; CLP, 脓毒症模型组; CLP + A, 大蒜素治疗组

图 2 大蒜素对脓毒症大鼠肠组织形态学的影响 (HE × 100)

Fig2 Effects of allicin on intestinal histology (HE × 100)

## 2.3 大蒜素对脓毒症大鼠小肠组织 TNF-α 及 IL-6 水平的影响

CLP 术后 6 h 及 12 h 分别予以大蒜素 (30 mg/kg) 治疗, 于术后 24 h 检测各组小肠组织炎症因子 TNF-α 及 IL-6 水平。结果发现: 与假手术组比较, CLP 组大鼠小肠组织 TNF-α 及 IL-6 水平明显升高 [TNF-α (pg/mL):  $186.35 \pm 20.43$  vs.  $58.76 \pm 8.94$ ,  $t=17.23$ ,  $P<0.01$ ; IL-6 (pg/mL):  $763.25 \pm 85.23$  vs.  $125.36 \pm 14.37$ ,  $t=22.54$ ,  $P<0.01$ ] (图 3); 而大蒜素治疗组可明显降低脓毒症引起的小肠中 TNF-α 及 IL-6 水平的升高 [TNF-α (pg/mL):  $95.37 \pm 12.68$  vs.  $186.35 \pm 20.43$ ,  $t=12.29$ ,  $P<0.01$ ; IL-6 (pg/mL):  $354.27 \pm 46.27$  vs.  $763.25 \pm 85.23$ ,  $t=14.45$ ,  $P<0.01$ ] (图 3)。



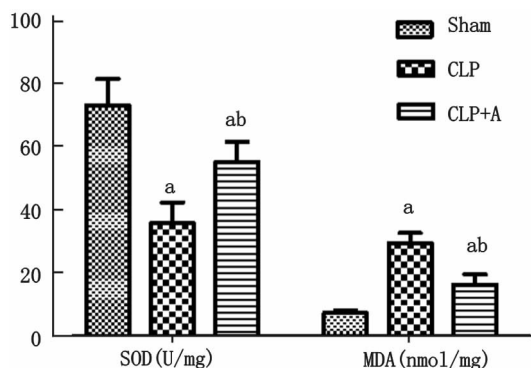
TNF-α: 肿瘤坏死因子-α; IL-6: 白介素-6; Sham: 假手术组; CLP: 脓毒症模型组; CLP + A: 大蒜素治疗组; 与 sham 组比较, <sup>a</sup> $P<0.01$ ; 与 CLP 组比较, <sup>b</sup> $P<0.01$

图 3 大蒜素对脓毒症大鼠肠组织 TNF-α 及 IL-6 水平的影响

Fig 3 Effect of allicin on intestinal expression of TNF-α and IL-6

## 2.4 大蒜素对脓毒症大鼠小肠组织 MDA 含量及 SOD 活性的影响

CLP 术后 6 h 及 12 h 分别予以大蒜素 (30 mg/kg) 治疗, 于术后 24 h 检测各组小肠组织氧化应激指标 MDA 含量及 SOD 活性。结果发现: 与假手术组比较, CLP 组大鼠小肠组织 MDA 含量明显升高 [MDA (nmol/mg):  $29.36 \pm 3.27$  vs.  $7.24 \pm 0.85$ ,  $t=16.61$ ,  $P<0.01$ ]、而 SOD 活性却明显下降 [SOD (U/mg):  $35.75 \pm 6.53$  vs.  $73.26 \pm 8.35$ ,  $t=10.57$ ,  $P<0.01$ ] (图 4); 而大蒜素治疗组可明显降低脓毒症引起的小肠中 MDA 含量的升高 [MDA (nmol/mg):  $16.27 \pm 3.14$  vs.  $29.36 \pm 3.27$ ,  $t=9.831$ ,  $P<0.01$ ]、逆转 SOD 活性的下降 [SOD (U/mg):  $55.35 \pm 6.23$  vs.  $35.75 \pm 6.53$ ,  $t=5.522$ ,  $P<0.01$ ] (图 4)。



MDA, 丙二醛; SOD, 超氧化物歧化酶; Sham: 假手术组; CLP: 脓毒症模型组; CLP + A: 大蒜素治疗组; 与 sham 组比较, <sup>a</sup> $P < 0.01$ ; 与 CLP 组比较, <sup>b</sup> $P < 0.01$

图 4 大蒜素对脓毒症大鼠肠组织 MDA 含量及 SOD 活性的影响  
Fig 4 Effect of allicin on MDA content and SOD activity in the intestinal tissue

### 3 讨论

脓毒症是 ICU 常见危重症, 病情进展快, 病死率高。脓毒症发病机制中肠黏膜功能障碍是导致 MODS 的启动因子<sup>[3]</sup>。脓毒症时可引起机体免疫功能发生一系列变化, 释放的炎症介质可导致肠黏膜损伤、肠黏膜屏障功能破坏、致肠腔内细菌和毒素大量入血、肠道细菌易位、引起远隔器官感染, 导致病情恶化<sup>[3-4]</sup>。肠黏膜受损致屏障功能障碍是肠功能衰竭发生的病理机制之一。D-乳酸浓度及 DAO 活性是肠黏膜损伤及肠黏膜屏障功能早期诊断的敏感指标<sup>[9-10]</sup>。FD-40 是用荧光标记的多聚糖大分子, 相对分子质量为 4.4 000, 用 FD-40 灌胃然后检测肠系膜上静脉血中的浓度是检测小肠黏膜通透性的经典指标。本研究发现, 脓毒症组大鼠血 D-乳酸浓度、DAO 活性及 FD-40 浓度均较假手术组显著上升, 大蒜素治疗可有效抑制这三个指标的上升, 这说明脓毒症大鼠肠黏膜屏障功能障碍, 大蒜素治疗对脓毒症大鼠肠黏膜屏障功能障碍有一定的保护作用。同时, 形态学结果也表明, 大蒜素治疗组小肠组织病理改变远较脓毒症组为轻。

炎症无疑在脓毒症肠道损伤的病理生理过程中起着重要作用。研究表明, 脂多糖 (lipopolysaccharides, LPS) 能降低上皮细胞的抵抗力, 促进细胞凋亡的产生并疏松紧密连接而增加上皮细胞通透性, 促进细菌易位, 损伤肠黏膜屏障, 引起肠道炎症改变, 包括固有层水肿和绒毛结构的破坏, 炎性细胞浸润<sup>[11-12]</sup>。LPS 还可激发各种炎症

介质如 TNF- $\alpha$ 、IL-1 和 IL-6 的连锁反应, 引起全身各器官的损害。其中 TNF- $\alpha$  起关键作用, 它可诱导其他细胞因子如 IL-1、IL-6 等的产生和释放, 使炎症信号进一步放大和加强, 产生“级联放大”作用, 最终导致过重的炎症反应及细胞损害<sup>[13-15]</sup>。大蒜素具有抗炎效应, 既往研究表明其能抑制 NF- $\kappa$ B 信号通路、抑制多种细胞因子及黏附分子的表达。本研究发现大蒜素治疗可明显降低小肠组织 TNF- $\alpha$  及 IL-6 水平, 有效减轻肠道炎症反应, 这与既往报道一致<sup>[7, 15]</sup>。

氧化应激是脓毒症肠黏膜屏障功能障碍及肠道损伤的另一关键因素<sup>[16]</sup>。机体在许多危重症病理状态下, 出现选择性内脏血管痉挛以保持心、肺及脑等重要脏器的血液供应, 结果导致肠道血供不足, 肠黏膜因代谢障碍而缺血、缺氧, 血管通透性增加, 黏膜上皮水肿, 细胞坏死或凋亡, 肠黏膜屏障功能减弱。此外, 因肠黏膜内富含黄嘌呤氧化酶, 在缺血再灌注时可催化产生大量氧自由基, 氧化生物膜, 产生大量过氧化反应产物如 MDA, 引发膜脂质过氧化反应, 使肠黏膜上皮细胞膜受损, 释放毒性代谢产物, 同时使炎症反应加重, 造成恶性循环。MDA 含量反映组织脂质过氧化的程度, 并间接反映细胞损伤程度。SOD 是生物抗氧化系统的重要酶类之一, 可间接反映组织的抗氧化能力。本研究发现大蒜素治疗组可明显降低小肠组织 MDA 水平, 逆转 SOD 活性下降, 表明大蒜素可通过抑制氧自由基的产生, 对脓毒症肠道损伤产生保护作用, 这与既往报道的大蒜素具有抗氧化效应相符<sup>[7]</sup>。

综上所述, 本研究表明大蒜素可保护脓毒症所致的大鼠肠黏膜屏障功能障碍, 其机制可能与大蒜素的抑制炎症反应、抑制氧化应激有关。但本研究仍存在一些局限: 本研究仅采用单一治疗剂量, 对于最佳治疗剂量还需进一步确定, 最佳给药时间及给药方式的治疗作用需进一步研究; 本研究虽表明大蒜素具有抗炎、抗氧化作用, 但其中是否还存在其他作用机制, 作用靶点以及信号通路尚不清楚。未来仍需要进一步探讨大蒜素作用机制以及临床试验, 以期临床防治脓毒症所致肠黏膜屏障功能障碍及大蒜素生物制品的应用提供理论依据。

### 参考文献

[1] Angus DC, Van der Poll T. Severe sepsis and septic shock [J]. N

- Engl J Med, 2013, 369 (9): 840-851. DOI: 10. 1056/NEJMra1208623.
- [2] 高戈, 冯拮, 常志刚, 等. 2012 国际严重脓毒症及脓毒性休克诊疗指南 [J]. 中华危重病急救医学, 2013, 8 (25): 501-505. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-4352. 2013. 08. 016.  
Gao G, Feng J, Chang ZG, et al. International guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012 [J]. Chin Crit Care Med, 2013, 8 (25): 501-505.
- [3] Clark JA, Coopersmith CM. Intestinal crosstalk; a new paradigm for understanding the gut as the "motor" of critical illness [J]. Shock, 2007, 28 (4): 384-393. DOI: 10. 1097/shk. 0b013e31805569df.
- [4] Deitch EA. Gut lymph and lymphatics; a source of factors leading to organ injury and dysfunction [J]. Ann N Y Acad Sci, 2010, 1207: E103-11. DOI: 10. 1111/j. 1749-6632. 2010. 05713. x.
- [5] Borlinghaus J, Albrecht F, Gruhlke MC, et al. chemistry and biological properties [J]. Molecules, 2014, 19 (8): 12591-12618. DOI: 10. 3390/molecules190812591.
- [6] 徐细明, 于皆平, 何小飞等. 大蒜素对大鼠溃疡性结肠炎 bcl-2、Bax 蛋白表达的影响 [J]. 医药导报, 2003, 22 (12): 835-838. DOI: 10. 3870/j. issn. 1004-0781. 2003. 12. 003.  
Xu XM, Yu JP, He XF, et al. The effect of allicin on apoptosis of the lymphocyte and the expression of its regulatory proteins in an experimental model of ulcerative colitis in the rat [J]. Herald Medicine, 2003, 22 (12): 835-838.
- [7] 何小飞, 徐细明, 于皆平, 等. 大蒜素对溃疡性结肠炎脂质过氧化损伤大鼠的保护 [J]. 医药导报, 2004, 23 (1): 6-8. DOI: 10. 3870/j. issn. 1004-0781. 2004. 01. 004.  
He XF, Xu XM, Yu JP, et al. The protective effect of garlicin on lipid peroxidation injury in ulcerative colitis of rat [J]. Herald of medicine, 2004, 23 (1): 6-8.
- [8] 伦伟健, 赵芯梅, 王焕景, 等. 大蒜素对三硝基苯磺酸诱导大鼠结肠炎的保护作用及其机制研究 [J]. 胃肠病学, 2012, 17 (7): 394-398. DOI: 10. 3969/j. issn. 1008-7125. 2012. 07. 003.  
Lun WJ, Zhao XM, Wang HJ, et al. Protective role and mechanism of diallyl trisulfide in trinitrobenzenesulfonic acid-induced colitis in rats [J]. Chin JG, 2012, 17 (7): 394-398.
- [9] Thompson JS, Vaughan WP, Forst CF, et al. The effect of the route of nutrient delivery on gut structure and diamine oxidase levels [J]. JPEN J Parenter Enteral Nutr, 1987, 11 (1): 28-32. DOI: 10. 1177/014860718701100128.
- [10] 王小周, 路小光, 康新, 等. 丙酮酸钠液腹腔复苏对失血性休克大鼠肠黏膜屏障的保护作用 [J]. 中华急诊医学杂志, 2014, 23 (10): 1120-1124. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1671-0282. 2014. 10. 012.  
Wang XZ, Lu XG, Kang X, et al. The protective effect of sodium pyruvate solution to intestinal barrier in hemorrhagic shock rats by intraperitoneal resuscitation [J]. Chin Emer Med, 2014, 23 (10): 1120-1124.
- [11] Qureshi FG, Leaphart C, Cetin S, et al. Increased expression and function of integrins in enterocytes by endotoxin impairs epithelial restitution [J]. Gastroenterology, 2005, 128 (4): 1012-1022. DOI: 10. 1053/j. gastro. 2005. 01. 052.
- [12] Chang RM, Wen LQ, Chang JX, et al. Repair of damaged intestinal mucosa in a mouse model of sepsis [J]. World J Emerg Med, 2013, 4 (3): 223-228. DOI: 10. 5847/wjem. j. issn. 1920-8642. 2013. 03. 012.
- [13] 付锐, 项和平, 杨琳琦, 等. 降钙素原、c 反应蛋白、肿瘤坏死因子、游离 DNA 对多发伤患者发生多器官功能障碍综合征的预测价值 [J]. 中华急诊医学杂志, 2013, 22 (8): 850-854. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1671-0282. 2013. 08. 010.  
Fu R, Xiang HP, Yang LQ, et al. The value of PCT, CRP, TNF- $\alpha$  and free DNA in predicting the development of MODS in patients with multiple trauma [J]. Chin Emer Med, 2013, 22 (8): 850-854.
- [14] 温前宽, 李彦, 杨建, 等. 严重脓毒症患者炎症因子的动态变化及预后意义 [J]. 中华急诊医学杂志, 2015, 24 (7): 779-783. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1671-0282. 2015. 07. 020.  
Wen QK, Li Y, Yang J, et al. Dynamic changes and prognostic significance of inflammatory factors in patients with severe sepsis [J]. Chin Emer Med, 2015, 24 (7): 779-783.
- [15] Lang A, Lahav M, Sakhnini E, et al. Allicin inhibits spontaneous and TNF-alpha induced secretion of proinflammatory cytokines and chemokines from intestinal epithelial cells [J]. Clin Nutr, 2004, 23 (5): 1199-208. DOI: 10. 1016/j. clnu. 2004. 03. 011.
- [16] Koksai GM, Sayilgan C, Aydin S, et al. Correlation of plasma and tissue oxidative stresses in intra-abdominal sepsis [J]. J Surg Res, 2004, 122 (2): 180-183. DOI: 10. 1016/j. jss. 2004. 07. 246.

(收稿日期: 2015-09-17)

(本文编辑: 何小军)