

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research

丙泊酚减轻大鼠肠缺血再灌注损伤的研究

Research of propofol alleviating intestinal ischemia –
reperfusion injury in rats高誉华, 毛 轲, 刘鹏森,
杜思龙(河南省中医院/河南中医药大学 第二附属医院
麻醉科, 河南 郑州 450002)GAO Yu-hua, MAO Ke,
LIU Peng-sen, DU Si-long(Department of Anesthesiology, Henan
Hospital of Traditional Chinese Medicine/
Second Affiliated Hospital of Henan
University of Traditional Chinese
Medicine, Zhengzhou 450002, Henan
Province, China)作者简介: 高誉华(1987-), 女, 主治医师, 主
要从事麻醉与疼痛方面的工作和
研究通信作者: 高誉华, 主治医师
MP: 18736037837
E-mail: 18736037837@163.com**摘要:**目的 探讨丙泊酚改善肠缺血再灌注损伤(IIRI)的潜在作用机制。方法

将SD大鼠随机分为假手术组、模型组(夹闭肠系膜上动脉45 min后再灌注2 h)、低剂量实验组(缺血前注射 $30\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 丙泊酚)、中剂量实验组(缺血前注射 $45\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 丙泊酚)和高剂量实验组(缺血前注射 $60\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 丙泊酚),再灌注结束后处死大鼠,取肠组织备用。用苏木精-伊红(HE)染色法观察肠组织病理学改变,用蛋白质印迹法检测Bcl-2拮抗杀伤蛋白(BAK)、Bcl-2相关X蛋白(BAX)等蛋白表达,用实时定量聚合酶链反应(RT-qPCR)实验法检测胞质线粒体DNA(mtDNA)表达,用酶活性及酶联免疫吸附测定试剂盒法检测肠组织腺苷三磷酸(ATP)和白细胞介素(IL)-1 β 表达。结果 假手术组、模型组、低剂量实验组、中剂量实验组和高剂量实验组大鼠病理损伤评分(Chiu's法)分别为(0 ± 0)、(4.20 ± 0.60)、(3.00 ± 0.45)、(2.20 ± 0.40)和(1.00 ± 0.77)分;BAK蛋白相对表达水平分别为 0.24 ± 0.03 、 0.66 ± 0.08 、 0.56 ± 0.08 、 0.40 ± 0.05 和 0.34 ± 0.03 ;BAX蛋白相对表达水平分别为 0.35 ± 0.03 、 0.79 ± 0.11 、 0.62 ± 0.03 、 0.51 ± 0.05 和 0.40 ± 0.04 ;NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NLRP3)蛋白相对表达水平分别为 0.32 ± 0.03 、 1.05 ± 0.12 、 0.81 ± 0.11 、 0.64 ± 0.08 和 0.49 ± 0.08 ;环鸟苷单磷酸腺苷合成酶(cGAS)蛋白相对表达水平分别为 0.23 ± 0.02 、 0.97 ± 0.10 、 0.78 ± 0.08 、 0.63 ± 0.07 和 0.45 ± 0.07 ;NADH脱氢酶亚基(ND)1 mRNA相对表达水平分别为 1.00 ± 0.08 、 2.23 ± 0.29 、 1.79 ± 0.13 、 1.59 ± 0.11 和 1.34 ± 0.09 ;ATP生成相对水平分别为 1.00 ± 0.14 、 0.47 ± 0.03 、 0.65 ± 0.07 、 0.80 ± 0.06 和 0.81 ± 0.12 ;上述指标模型组与假手术组比较,低、高剂量实验组分别与模型组比较,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。结论 丙泊酚可以剂量依赖性地减轻肠缺血再灌注损伤。该保护作用伴随着BAK/BAX蛋白表达下调、胞质mtDNA释放减少以及下游cGAS/NLRP3炎症通路活性的降低。

关键词: 丙泊酚;肠缺血再灌注损伤;Bcl-2拮抗杀伤蛋白/Bcl-2相关X蛋白;线粒体DNA;氧化应激;炎症反应

DOI:10.13699/j.cnki.1001-6821.2026.01.016

中图分类号:R965 文献标志码:A

文章编号:1001-6821(2026)01-0100-07

Abstract: Objective To investigate the potential mechanism of propofol in improving intestinal ischemia – reperfusion injury (IIRI).**Methods** SD rats were randomly divided into sham group, model group (the superior mesenteric artery was clamped for 45 min and reperfusion for 2 h), experimental – L group (injection of $30\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ propofol before ischemia), experimental – M group (injection of $45\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ propofol before ischemia), experimental – H group (injection of $60\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ propofol before ischemia); after reperfusion, the rats were

killed and intestinal tissues were taken for use. Hematoxylin – eosin (HE) staining was used to observe the intestinal histopathological changes, Western blot assay was used to detect the expression of Bcl – 2 antagonist killer (BAK), Bcl – 2 associated X (BAX) and other proteins, and real – time quantitative polymerase chain reaction (RT – qPCR) assay was used to detect the expression of cytoplasmic mitochondrial DNA (mtDNA). The enzyme activity and enzyme – linked immunosorbent assay was used to detect the expression of adenosine triphosphate (ATP) and interleukin (IL) – 1β in intestinal tissue. **Results** The pathological injury scores (Chiu's methods) in sham group, model group, experimental – L group, experimental – M group and experimental – H group were (0 ± 0), (4.20 ± 0.60), (3.00 ± 0.45), (2.20 ± 0.40) and (1.00 ± 0.77) points, respectively; the relative expression levels of BAK protein were 0.24 ± 0.03 , 0.66 ± 0.08 , 0.56 ± 0.08 , 0.40 ± 0.05 and 0.34 ± 0.03 , respectively; the relative expression levels of BAX protein were 0.35 ± 0.03 , 0.79 ± 0.11 , 0.62 ± 0.03 , 0.51 ± 0.05 and 0.40 ± 0.04 , respectively; the relative expression levels of NOD – like receptor pyrin domain – containing protein 3 (NLRP3) protein were 0.32 ± 0.03 , 1.05 ± 0.12 , 0.81 ± 0.11 , 0.64 ± 0.08 and 0.49 ± 0.08 , respectively; the relative expression levels of Cyclic guanosine monophosphate adenosine synthase (cGAS) protein were 0.23 ± 0.02 , 0.97 ± 0.10 , 0.78 ± 0.08 , 0.63 ± 0.07 and 0.45 ± 0.07 , respectively; the relative expression levels of the NADH dehydrogenase subunit (ND)1 mRNA were 1.00 ± 0.08 , 2.23 ± 0.29 , 1.79 ± 0.13 , 1.59 ± 0.11 and 1.34 ± 0.09 , respectively; the levels of ATP production were 1.00 ± 0.14 , 0.47 ± 0.03 , 0.65 ± 0.07 , 0.80 ± 0.06 and 0.81 ± 0.12 , respectively. Compared model group with the sham group and compared experimental – L, M, H group with model group, the differences of above indicators were all statistically significant (all $P < 0.05$). **Conclusion** Propofol can dose – dependently improve intestinal injury in IIRI rats and this protective effect was accompanied by downregulation of BAK/BAX protein expression, reduction of mtDNA release, and decreased activity of the downstream cGAS/NLRP3 inflammatory pathway.

Key words: propofol; intestinal ischemia – reperfusion injury; Bcl – 2 antagonist killer/Bcl – 2 associated X protein; mitochondrial DNA; oxidative stress

缺血再灌注损伤是一种常见的病理过程,具有高发病率和死亡率,其发病机制是多因素的,包括炎症细胞因子过度释放、氧化应激和细胞凋亡等,肠缺血再灌注损伤(intestinal ischemia – reperfusion injury, IIRI)可以导致肠道屏障功能受损,肠道通透性增加等,最终导致严重的局部或全身炎症和多器官功能障碍综合征^[1–2]。因此,研究新的有效药物改善IIRI十分重要。近年来越来越多的研究发现多种麻醉药对IIRI具有保护作用^[3],丙泊酚是作为临床上常用的麻醉药之一,具有诱导快、恢复迅速的特点,研究表明,因其具有显著的抗氧化效果,在预防和改善缺血再灌注损伤中发挥积极作用^[4]。但关于丙泊酚改善IIRI的作用机制仍未被完全阐明,本研究旨在探究丙泊酚改善IIRI的潜在作用机制,以期临床探究IIRI的预防与治疗策略提供新的研究思路。

材料与方法

1 材料

动物 50只SD健康雄性大鼠,周龄7~8周,

体质量280~320g,由郑州大学河南省实验动物中心提供,许可证号:SCXK(豫)2022–0001,均饲养在动物房中,自由饮水和进食,适应性饲养1周后建模。本实验经河南省中医院伦理委员会的批准(伦理批号:HNSZYYWZ–2025008)。

药物与试剂 丙泊酚注射液,规格:20 mL/200 mg,批准文号:国药准字H20051842,生产批号:20240312,广东嘉博制药有限公司生产;Bcl – 2拮抗杀伤蛋白(Bcl – 2 antagonist killer,BAK)抗体,美国CST公司生产;Bcl – 2相关X(Bcl – 2 associated X,BAX)、紧密连接蛋白(occludin)、闭合蛋白 – 1(claudin – 1)、NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NOD – like receptor pyrin domain – containing protein 3,NLRP3)、裂解的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 – 1(cleaved cysteine aspartate proteinase – 1,C1 – Caspase – 1)、环鸟苷单磷酸腺苷合成酶(cyclic guanosine monophosphate adenosine synthase,cGAS)、干扰素基因刺激因子(stimulator of interferon genes,STING)、磷酸化 – TANK结合激酶1(phosphorylated tank binding kinase 1,p – TBK1)、磷酸化 – 干扰素调节因子3(phosphorylated interferon

regulatory factor 3, p-IRF3)一抗、腺苷三磷酸(adenosine triphosphate, ATP)酶活性试剂盒和线粒体呼吸链复合物(Complex, COX) I、COX II、COX V酶活性检测试剂盒,均由美国 Abcam 公司生产;白细胞介素(interleukin, IL)-1 β 和丙二醛(malonaldehyde, MDA)试剂盒,均由上海梵态生物科技有限公司生产;苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色液,上海抚生实业有限公司生产;组织线粒体分离试剂盒,上海碧云天生物技术公司生产;各引物序列及质粒,由上海吉玛制药生物公司提供。

仪器 Complex IV酶标仪,美国 Molecular Devices 公司产品;CKX53 生物显微镜,日本奥林巴斯公司产品;Bolt TM Bis-Tris Plus 预制凝胶蛋白电泳系统,美国 Life Tech 公司产品。

2 实验方法

2.1 IIRI 大鼠模型构建^[5]

大鼠适应性饲养1周并禁食1d后进行建模:腹腔注射戊巴比妥钠对大鼠进行麻醉,沿着腹部正中切口随后分离肠系膜上动脉,然后用动脉夹夹闭肠系膜上动脉,夹闭45 min后去除动脉夹,进行再灌注2 h。假手术组大鼠在分离肠系膜上动脉但不夹闭。

2.2 动物分组与处理

将大鼠随机分为假手术组、模型组、低剂量实验组、中剂量实验组和高剂量实验组,每组10只,除假手术组外其余组均构建IIRI大鼠模型,丙泊酚低、中、高剂量实验组大鼠在缺血前1 h分别股静脉注射30、45、60 mg·kg⁻¹丙泊酚^[6],其余组注射等量的生理盐水。再灌注结束后处死大鼠取肠组织备用。

2.3 蛋白质印迹法检测相关蛋白表达^[7]

收集肠组织,加入裂解液,用预冷的玻璃匀浆器,沿同一方向研磨30次,至组织块完全破碎、匀浆液呈浑浊状,充分裂解后提取总蛋白,二喹啉甲酸法测定蛋白浓度,然后取适当蛋白样品(15 μ g)进行十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白,电泳结束后转至聚偏二氟乙烯膜,经5%脱脂牛奶封闭2 h(室温下),然后滴加一抗(Occludin 为1:500, BAK、BAX、Cl-caspase-1、Claudin-1、cGAS、STING、p-TBK1和p-IRF3稀释比均为1:1 000)稀释液,4℃孵育过夜,次日清洗膜后进行二抗(1:5 000)孵育2 h、显色后成像,并分析灰度值。

2.4 HE 染色法观察肠组织病理学改变^[8]

取肠组织用生理盐水清洗干净,吸干水分,用多聚甲醛固定24 h,用乙醇梯度脱水后二甲苯透明,浸蜡后切片;石蜡切片脱蜡复水后用苏木精染色3 min,

自来水冲洗干净,返蓝液返蓝,冲洗后用伊红试剂染色1 min,乙醇梯度脱水后二甲苯透明,中性树脂封片后显微镜观察,并用Chiu's法评估肠粘膜损伤程度:比正常绒毛无损伤的记为0分,绒毛顶端粘膜下拆线间隙且伴有毛细血管充血的记为1分,粘膜下间隙扩大且粘膜下层与肠粘膜分离的记为2分,粘膜下层与黏膜分离延伸至肠绒毛两侧的即为3分,固有层及血管暴露,绒毛脱落的即为4分,固有层崩解、出血、形成溃疡的即为5分。

2.5 实时定量聚合酶链反应(real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR)法检测胞质线粒体DNA(mtDNA)、SOD-1和HO-1表达^[9]

取各组大鼠肠组织,用组织线粒体分离试剂盒得到去除线粒体的细胞浆样品,所有样品以2 500 r·min⁻¹离心10 min,去除细胞核和完整细胞;为了分离胞质部分,进一步将上清液在4℃下以9 500 r·min⁻¹离心30 min获得上清液,Trizol法提取总RNA,并反转录为cDNA,以cDNA为模板用实时定量PCR法检测ND1、ND2和ND4 mRNA水平并检测组织中总的SOD-1和HO-1 mRNA表达(以GAPDH为内参)。

2.6 试剂盒检测肠组织ATP生成、电子传递链(electron transport chain, ETC)复合物活性及炎性和氧化指标^[10]

收集各组大鼠肠组织,用磷酸盐缓冲液清洗除去表面污渍,将组织剪碎并用磷酸盐缓冲液进一步漂洗除去组织内部血渍,加入生理盐水制备肠组织匀浆,并离心(1.0 $\times$ 10⁴ r·min⁻¹, 5 min)收取上清液,根据酶活性检测试剂盒步骤分别依次加入相应的检测工作液,用酶标仪检测光密度,绘制标准曲线,计算组织中ATP、COX I、COX II和COX IV水平,并根据酶联免疫吸附测定试剂盒步骤检测IL-1 β 和MDA水平。

3 统计学处理

用SPSS 23.0软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间比较用单因素方差分析,组间两两比较用LSD-t检验。

结 果

1 丙泊酚对IIRI大鼠肠组织病理改变及肠功能蛋白表达的影响

与假手术组比较,模型组Chiu's评分显著升高, Occludin 和 Claudin-1 蛋白相对表达水平均显著降

低(均 $P < 0.001$);与模型组比较,丙泊酚低、中、高剂量实验组 Chiu's 评分均显著降低, Occludin 和 Claudin-1 蛋白相对表达水平均显著升高(均 $P < 0.001$);与低剂量实验组比较,中、高剂量组 Chiu's 评分均显著降低, Occludin 和 Claudin-1 蛋白相对表达水平均显著升高($P < 0.01$, $P < 0.001$);与中剂量实验组比较,高剂量组 Chiu's 评分显著降低, Occludin 和 Claudin-1 蛋白相对表达水平均显著升高(均 $P < 0.001$),见表 1。

假手术组大鼠肠组织黏膜形态结构完整,无明显病理损伤,相比假手术组,模型组大鼠肠粘膜损伤严重,表现为绒毛断裂,上皮出血等,相比模型组,丙泊

酚低、中、高剂量实验组大鼠肠组织病理学损伤均不同程度的减轻,见图 1。

2 丙泊酚对 IIRI 大鼠肠组织 BAK/BAX 表达及线粒体 DNA 释放的影响

如表 2 所示,与假手术组比较,模型组大鼠 BAK 和 BAX 蛋白相对表达水平及胞质 ND1、ND2 和 ND4 mRNA 水平均显著上调(均 $P < 0.001$);与模型组比较,丙泊酚低、中、高剂量实验组 BAK 和 BAX 蛋白相对表达水平及胞质 ND1、ND2 和 ND4 mRNA 水平均显著下调($P < 0.05$, $P < 0.001$);与低剂量实验组比较,中、高剂量实验组 BAK 和 BAX 蛋白相对表达水平及胞质 ND1、ND2 和 ND4 mRNA 水平均显著下调

表 1 各组大鼠 Chiu's 评分及肠功能蛋白相关蛋白表达的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of Chiu's score and intestinal function protein expression in rats of all groups ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	Chiu's score	Occludin	Claudin-1
Sham	10	0 ± 0	0.80 ± 0.07	0.88 ± 0.07
Model	10	4.20 ± 0.60 ***	0.41 ± 0.04 ***	0.32 ± 0.03 ***
Experimental-L	10	3.00 ± 0.45 ^{ΔΔΔ}	0.59 ± 0.07 ^{ΔΔΔ}	0.46 ± 0.05 ^{ΔΔΔ}
Experimental-M	10	2.20 ± 0.40 ^{ΔΔΔ##}	0.67 ± 0.05 ^{ΔΔΔ##}	0.61 ± 0.07 ^{ΔΔΔ###}
Experimental-H	10	1.00 ± 0.77 ^{ΔΔΔ###&&&}	0.81 ± 0.06 ^{ΔΔΔ###&&&}	0.76 ± 0.08 ^{ΔΔΔ###&&&}

Sham group: The superior mesenteric artery was separated but not clipped; Model group: The superior mesenteric artery was separated and clipped; Experimental-L group: IIRI + femoral vein 30 mg · kg⁻¹ propofol; Experimental-M group: IIRI + femoral vein 45 mg · kg⁻¹ propofol; Experimental-H group: IIRI + femoral vein 60 mg · kg⁻¹ propofol; Compared with sham group, *** $P < 0.001$; Compared with model group, ^{ΔΔΔ} $P < 0.001$; Compared with experimental-L group, ^{##} $P < 0.01$, ^{###} $P < 0.001$; Compared with experimental-M group, ^{&&&} $P < 0.001$.

表 2 各组大鼠肠组织 Bcl-2 拮抗杀伤蛋白/Bcl-2 相关 X 蛋白(BAK/BAX)及线粒体 DNA mRNA 相对表达水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of Bcl-2 antagonist killer/Bcl-2 associated X protein (BAK/BAX) protein and mitochondrial DNA mRNA relative expression levels in intestinal tissues of rats in each group($\bar{x} \pm s$)

Group	BAK protein	BAX protein	ND1 mRNA	ND2 mRNA	ND4 mRNA
Sham	0.24 ± 0.03	0.35 ± 0.03	1.00 ± 0.08	1.00 ± 0.11	1.00 ± 0.17
Model	0.66 ± 0.08 ***	0.79 ± 0.11 ***	2.23 ± 0.29 ***	2.26 ± 0.17 ***	1.90 ± 0.18 ***
Experimental-L	0.56 ± 0.08 ^Δ	0.62 ± 0.03 ^{ΔΔΔ}	1.79 ± 0.13 ^{ΔΔΔ}	1.81 ± 0.13 ^{ΔΔΔ}	1.70 ± 0.14 ^Δ
Experimental-M	0.40 ± 0.05 ^{ΔΔΔ###}	0.51 ± 0.05 ^{ΔΔΔ###}	1.59 ± 0.11 ^{ΔΔΔ##}	1.57 ± 0.16 ^{ΔΔΔ##}	1.49 ± 0.09 ^{ΔΔΔ##}
Experimental-H	0.34 ± 0.03 ^{ΔΔΔ###&&&}	0.40 ± 0.04 ^{ΔΔΔ###&&&}	1.34 ± 0.09 ^{ΔΔΔ###&&&}	1.40 ± 0.10 ^{ΔΔΔ###&&&}	1.31 ± 0.10 ^{ΔΔΔ###&&&}

Dose and n refer to table 1. ND: NADH dehydrogenase subunit; Compared with sham group, *** $P < 0.001$; Compared with model group, ^Δ $P < 0.05$, ^{ΔΔΔ} $P < 0.001$; Compared with experimental-L group, ^{##} $P < 0.01$, ^{###} $P < 0.001$; Compared with experimental-M group, [&] $P < 0.05$, ^{&&} $P < 0.01$, ^{&&&} $P < 0.001$.

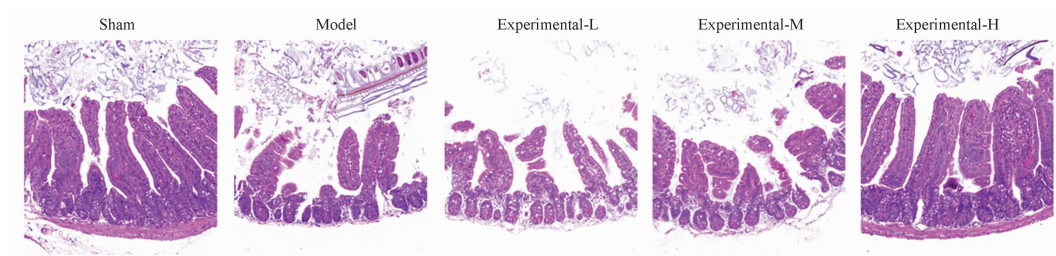


图 1 苏木精-伊红(HE)染色法观察各组大鼠肠组织病理学变化($\times 200$)

Figure 1 Observation of the changes of intestinal histopathology in each group by hematoxylin-eosin (HE) staining ($\times 200$)

($P < 0.01, P < 0.001$); 与中剂量实验组比较, 高剂量实验组 BAK 和 BAX 蛋白相对表达水平及胞质 ND1、ND2 和 ND4 mRNA 水平均显著下调 ($P < 0.05, P < 0.01, P < 0.001$)。

3 丙泊酚对 IIRI 大鼠肠组织线粒体动力学和功能的影响

与假手术组比较, 模型组 ATP 生产水平及 COX I、COX II 和 COX IV 水平均显著降低 (均 $P < 0.001$); 与模型组比较, 丙泊酚低、中、高剂量实验组 ATP 生产水平及 COX I、COX II 和 COX IV 水平均显著升高 (均 $P < 0.001$); 与低剂量实验组比较, 中、高剂量实验组 ATP 生产水平及 COX I、COX II 和 COX IV 水平均显著升高 (均 $P < 0.001$); 与中剂量实验组比较, 高剂量实验组 COX II 和 COX IV 水平均显著升高 (均 $P < 0.05$), 见表 3。

4 丙泊酚对 IIRI 大鼠 NLRP3 炎性小体激活及氧化应激的影响

与假手术组比较, 模型组大鼠的 NLRP3 和 Cl-caspase-1 蛋白相对表达水平及 IL-1 β 和 MDA 水平均显著升高, SOD-1 和 HO-1 mRNA 水平均显著下降 (均 $P < 0.001$); 与模型组比较, 丙泊酚低、中、高剂量实验组 NLRP3 和 Cl-caspase-1 蛋白相对表

达水平及 IL-1 β 和 MDA 水平均显著降低, SOD-1 和 HO-1 水平均显著上调 (均 $P < 0.001$); 与低剂量实验组比较, 中、高剂量实验组 NLRP3 和 Cl-caspase-1 蛋白相对表达水平及 IL-1 β 和 MDA 水平均显著降低, SOD-1 和 HO-1 水平均显著上调 ($P < 0.01, P < 0.001$); 与中剂量实验组比较, 高剂量实验组 NLRP3 和 Cl-caspase-1 蛋白相对表达水平及 IL-1 β 和 MDA 水平均显著降低, SOD-1 和 HO-1 水平均显著上调 ($P < 0.01, P < 0.001$), 见表 4。

5 丙泊酚对 IIRI 大鼠 cGAS-STING 信号通路的影响

与假手术组比较, 模型组大鼠的 cGAS、STING、p-TBK1 和 p-IRF3 蛋白相对表达水平均显著增加 (均 $P < 0.001$); 与模型组比较, 丙泊酚低、中、高剂量实验组 cGAS、STING、p-TBK1 和 p-IRF3 蛋白相对表达水平均显著下调 ($P < 0.05, P < 0.01, P < 0.001$); 与低剂量实验组比较, 中、高剂量实验组 cGAS、STING、p-TBK1 和 p-IRF3 蛋白相对表达水平均显著下调 ($P < 0.01, P < 0.001$); 与中剂量实验组比较, 高剂量实验组 cGAS、STING、p-TBK1 和 p-IRF3 蛋白相对表达水平均显著下调 ($P < 0.01, P < 0.001$), 见表 5 和图 2。

表 3 各组大鼠腺苷三磷酸(ATP)生成和电子传递链(ETC)复合物活性的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of adenosine triphosphate(ATP) production and electron transport chain(ETC) complex activity of rats in each group($\bar{x} \pm s$)

Group	ATP production level	COX I level	COX II level	COX IV level
Sham	1.00 $\pm$ 0.14	1.00 $\pm$ 0.13	1.00 $\pm$ 0.17	1.00 $\pm$ 0.19
Model	0.47 $\pm$ 0.03 ***	0.47 $\pm$ 0.06 ***	0.32 $\pm$ 0.04 ***	0.30 $\pm$ 0.05 ***
Experimental - L	0.65 $\pm$ 0.07 $\Delta\Delta\Delta$	0.67 $\pm$ 0.07 $\Delta\Delta\Delta$	0.50 $\pm$ 0.07 $\Delta\Delta\Delta$	0.49 $\pm$ 0.04 $\Delta\Delta\Delta$
Experimental - M	0.80 $\pm$ 0.06 $\Delta\Delta\Delta$ ###	0.83 $\pm$ 0.08 $\Delta\Delta\Delta$ ###	0.68 $\pm$ 0.10 $\Delta\Delta\Delta$ ###	0.74 $\pm$ 0.09 $\Delta\Delta\Delta$ ###
Experimental - H	0.81 $\pm$ 0.12 $\Delta\Delta\Delta$ ###	0.90 $\pm$ 0.10 $\Delta\Delta\Delta$ ###	0.79 $\pm$ 0.10 $\Delta\Delta\Delta$ ###&	0.85 $\pm$ 0.10 $\Delta\Delta\Delta$ ###&

Dose and n refer to table 1. COX: Cytochrome oxidase; Compared with sham group, *** $P < 0.001$; Compared with model group, $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$; Compared with experimental - L group, ### $P < 0.001$; Compared with experimental - M group, & $P < 0.05$.

表 4 各组大鼠炎性小体及氧化应激指标表达的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of expression of inflammatory factors and oxidative stress indexes in rats of all groups($\bar{x} \pm s$)

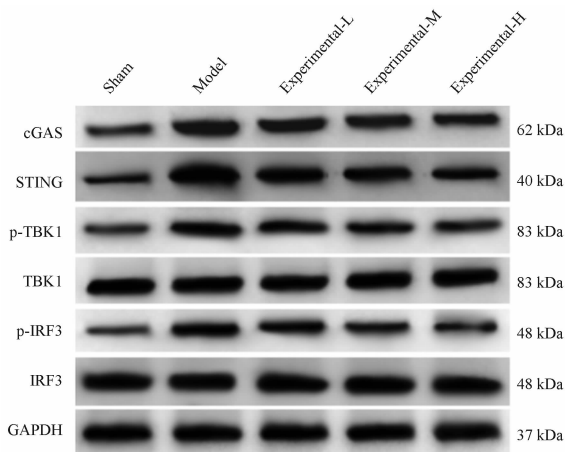
Group	NLRP3	Cl-caspase-1	IL-1 β (pg $\cdot$ mL $^{-1}$)	MDA (nmol $\cdot$ mL $^{-1}$)	SOD-1 mRNA	HO-1 mRNA
Sham	0.32 $\pm$ 0.03	0.39 $\pm$ 0.05	22.64 $\pm$ 2.62	1.98 $\pm$ 0.34	1.00 $\pm$ 0.16	1.00 $\pm$ 0.12
Model	1.05 $\pm$ 0.12 ***	0.84 $\pm$ 0.08 ***	99.18 $\pm$ 10.74 ***	4.29 $\pm$ 0.22 ***	0.29 $\pm$ 0.05 ***	0.43 $\pm$ 0.03 ***
Experimental - L	0.81 $\pm$ 0.11 $\Delta\Delta\Delta$	0.62 $\pm$ 0.07 $\Delta\Delta\Delta$	72.57 $\pm$ 6.66 $\Delta\Delta\Delta$	3.54 $\pm$ 0.45 $\Delta\Delta\Delta$	0.46 $\pm$ 0.03 $\Delta\Delta\Delta$	0.55 $\pm$ 0.05 $\Delta\Delta\Delta$
Experimental - M	0.64 $\pm$ 0.08 $\Delta\Delta\Delta$ ##	0.50 $\pm$ 0.07 $\Delta\Delta\Delta$ ##	54.41 $\pm$ 4.29 $\Delta\Delta\Delta$ ###	2.97 $\pm$ 0.20 $\Delta\Delta\Delta$ ##	0.61 $\pm$ 0.06 $\Delta\Delta\Delta$ ###	0.71 $\pm$ 0.06 $\Delta\Delta\Delta$ ###
Experimental - H	0.49 $\pm$ 0.08 $\Delta\Delta\Delta$ ###&&	0.42 $\pm$ 0.04 $\Delta\Delta\Delta$ ###&&	37.30 $\pm$ 3.63 $\Delta\Delta\Delta$ ###&&&	2.37 $\pm$ 0.21 $\Delta\Delta\Delta$ ###&&&	0.72 $\pm$ 0.07 $\Delta\Delta\Delta$ ###&&&	0.85 $\pm$ 0.07 $\Delta\Delta\Delta$ ###&&&

Dose and n refer to table 1. NLRP3: NOD-like receptor pyrin domain-containing protein 3; Cl-caspase-1: Cleaved cysteine aspartate proteinase 1; IL: Interleukin; MDA: Malonaldehyde; SOD-1: Superoxide dismutase 1; HO-1: Heme oxygenase-1; Compared with sham group, *** $P < 0.001$; Compared with model group, $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$; Compared with experimental - L group, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$; Compared with experimental - M group, & $P < 0.01$, && $P < 0.001$.

表 5 各组大鼠肠功能及环鸟苷单磷酸腺苷合成酶-干扰素基因刺激因子(cGAS-STING)信号相关蛋白表达的比较($\bar{x} \pm s$)**Table 5** Comparison of intestinal function and cyclic guanosine monophosphate adenosine synthase-stimulator of interferon genes (cGAS-STING) signal-related protein expression in rats of all groups($\bar{x} \pm s$)

Group	cGAS	STING	p-TBK1	p-IRF3
Sham	0.23 ± 0.02	0.36 ± 0.04	0.22 ± 0.02	0.21 ± 0.05
Model	0.97 ± 0.10***	1.11 ± 0.10***	0.56 ± 0.07***	0.49 ± 0.05***
Experimental-L	0.78 ± 0.08 ^{ΔΔΔ}	0.85 ± 0.08 ^{ΔΔΔ}	0.49 ± 0.05 ^Δ	0.43 ± 0.03 ^{ΔΔ}
Experimental-M	0.63 ± 0.07 ^{ΔΔΔ###}	0.64 ± 0.06 ^{ΔΔΔ###}	0.41 ± 0.05 ^{ΔΔΔ##}	0.34 ± 0.04 ^{ΔΔΔ###}
Experimental-H	0.45 ± 0.07 ^{ΔΔΔ###&&&}	0.51 ± 0.05 ^{ΔΔΔ###&&&}	0.35 ± 0.04 ^{ΔΔΔ###&&&}	0.28 ± 0.02 ^{ΔΔΔ###&&&}

Dose and *n* refer to table 1. p-TBK1: Phosphorylation-tank-binding kinase 1; p-IRF3: Phosphorylation-transcription factor interferon regulatory factor 3; Compared with sham group, ****P* < 0.001; Compared with model group, ^Δ*P* < 0.05, ^{ΔΔ}*P* < 0.01, ^{ΔΔΔ}*P* < 0.001; Compared with experimental-L group, ^{##}*P* < 0.01, ^{###}*P* < 0.001; Compared with experimental-M group, ^{&&}*P* < 0.01, ^{&&&}*P* < 0.001.

**图 2** 蛋白质印迹法检测 cGAS-STING 信号相关蛋白表达**Figure 2** The relative expression levels of cGAS-STING signal-related protein detected by Western blot

讨 论

在临床上, IIRI 可以由多种外伤或手术引起, 如动脉栓塞、失血性休克等, IIRI 是一种具有串联性的复杂的病理生理反应, 这是因为肠道缺血后的再灌注现象可以致使缺血区域氧化应激、炎症反应的发生, 进而诱导细胞程序性应答^[11]。丙泊酚又名异丙酚, 是临床上较为常见的麻醉药之一, 具有快速、短效、可控性强, 没有明显的积蓄作用等特点, 研究表明, 丙泊酚与抗氧化剂 *N*-乙酰半胱氨酸类似, 可以通过减弱还原型辅酶 II 氧化酶的过表达抑制活性氧介导的氧化应激, 从而减轻缺血再灌注损伤^[3, 12]。在本研究中, 成功构建 IIRI 损伤大鼠模型, 丙泊酚治疗后可以显著减轻 IIRI 大鼠肠损伤, 这与前人研究结果一致^[13], 同时, 本研究还观察到, 丙泊酚可以呈剂量依赖性提高肠屏障功能蛋白 Occludin 和 Claudin-1 蛋白相对表达水平, 提示丙泊酚在治疗 IIRI 中具有较大

潜力, 然而目前, 关于丙泊酚减轻 IIRI 的潜在作用机制仍不明确。

mtDNA 位于线粒体基质中, 当线粒体功能障碍时, 它可以促进氧化应激、炎症和凋亡, 线粒体损伤后, mtDNA 可以通过多种机制释放到细胞质中; mtDNA 释放的机制是目前的研究热点, 最近的研究表明, BAK/BAX 的激活在这一过程中起着关键作用; 在激活后, BAK/BAX 形成寡聚体, 并在线粒体外膜上介导大孔的形成, 导致线粒体内膜向细胞质的疝出, 从而导致 mtDNA 的释放^[14]。研究发现, IIRI 后释放到细胞质中的 mtDNA 可以引起炎症反应和肠屏障功能障碍^[15-17], 因此本研究检测了细胞质中相关 mtDNA (*ND1*、*ND2*、*ND4*) 的表达, 观察到 IIRI 大鼠肠组织中 mtDNA 表达水平上调, 丙泊酚可以明显降低胞质中 mtDNA 水平; 此外本研究还观察到, 丙泊酚可以明显升高线粒体呼吸链 ATP 的生成并部分恢复 ETC 复合物(COX I、COX II、COX IV)的活性, 线粒体功能的特征表现为线粒体 ATP 的产生和线粒体 ETC 复合物的活性, 本研究提示, 丙泊酚可能通过改善线粒体功能抑制 mtDNA 释放在 IIRI 中发挥治疗作用。

值得注意的是, BAK/BAX 的活化并非孤立事件, 其上游信号的调控是丙泊酚干预作用的核心环节之一: 肠缺血再灌注时, 缺氧-复氧应激会破坏线粒体膜电位 (mitochondrial membrane potential, MMP) 稳定性, 而 MMP 下降是 BAK/BAX 向线粒体外膜转位的关键触发信号。在本研究中, 模型组 COX 复合物活性降低, 提示 MMP 紊乱, 而丙泊酚干预后 COX 活性与 ATP 生成同步回升, 这与“丙泊酚通过维持呼吸链功能稳定 MMP”的结论一致^[18]。推测其通过稳定 MMP 阻断了 BAK/BAX 的膜转位启动信号。

NLRP3 炎性小体是一种 NOD 型受体, 由 NLRP3、衔接蛋白和 Caspase-1 组成, 是细胞膜上的一种模式识别受体 (pattern recognition receptor, PRR), PRR 能

够识别相关病原微生物,异常激活的 NLRP3 会招募并激活 Caspase - 1,导致 IL - 18 等释放到细胞外环境中,从而促进缺血/再灌注损伤的发展;NLRP3 广泛存在于肠组织的上皮细胞中,研究证实,mtDNA 可以直接激活 NLRP3 炎性小体参与肠道的炎症损伤^[18];在本研究中,丙泊酚可以明显抑制模型大鼠肠组织中 NLRP3 和 Cl - capase - 1 的表达,并进一步阻止了 IL - 1 β 的分泌,同时减少了 MDA 的积累,增加抗氧化指标 SOD - 1 和 HO - 1 活性,提示丙泊酚可以通过阻止 mtDNA 释放进一步抑制 NLRP3 炎性小体的激活,进而减轻 IIRI 炎症损伤。此外有研究表明,胞质 mtDNA 可以转化为第二信使 cGAMP,激活 DNA 传感器 cGAS - STING 信号传导,cGAS 酶是一种胞质 DNA,通过产生 cGAMP 激活 STING 从而诱导先天免疫反应,STING 随后结合并激活 TBK1,TBK1 磷酸化 IRF3,促进其二聚化,并转移至细胞核,从而引发 I 型干扰素反应;在胃肠道黏膜系统中,当缺血或缺氧导致线粒体损伤时,mtDNA 会释放出来,进而激活 STING 信号通路,刺激炎症因子的产生^[19-20]。在本研究中,丙泊酚处理后可以明显抑制 cGAS - STING 信号相关蛋白(cGAS、STING、p - TBK1、p - IRF3)的表达,提示 cGAS - STING 信号参与了丙泊酚对 BAK/BAX 依赖性的 mtDNA 释放的调控,但具体调控机制仍需进一步验证。

本研究提示:丙泊酚可能通过抑制 BAK/BAX 依赖性的 mtDNA 释放减轻 IIRI 肠组织炎症反应及功能障碍,cGAS - STING 信号可能参与了这一过程。然而本研究仍存在一定局限性,首先,本研究仅在动物与细胞水平验证了丙泊酚的调控作用,未进一步通过基因敲除验证;此外,本研究未探讨丙泊酚对肠黏膜修复的长期效应,其临床转化价值仍需更贴近临床场景的模型验证。后续研究将聚焦上述方向,进一步明确丙泊酚改善 IIRI 的精准机制与应用潜力。

参考文献:

- [1] 丁可,孙涛,潘锐,等. 线粒体相关内质网膜在肠缺血再灌注损伤中的研究进展[J]. 山东医药,2021,61(25):92—95.
- [2] TAN C, NORDEN P R, YU W, *et al.* Endothelial FOXC1 and FOXC2 promote intestinal regeneration after ischemia - reperfusion injury[J/OL]. *EMBO Rep*,2023,24(7):e56030. 2023 - 05 - 08 [2025 - 04 - 03]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37154714/>.
- [3] 王玥,汪小海,葛卫红,等. 麻醉药物对缺血—再灌注损伤导致肠道屏障功能障碍的保护作用研究进展[J]. 医药导报,2023,42(2):207—211.
- [4] 欧刚. 丙泊酚预处理对大鼠结肠缺血再灌注损伤的影响[D].

- 四川 南充:川北医学院,2021.
- [5] 车轩,郭依然,赵国杰,等. 白芍总苷对肠缺血再灌注大鼠 Cajal 间质细胞凋亡和血清炎症因子的影响[J]. 中国实验诊断学,2024,28(9):1102—1106.
- [6] 陈思言,欧刚,陈斌. 丙泊酚对大鼠肠缺血 - 再灌注炎症反应的影响[J]. 川北医学院学报,2021,36(9):1221—1224.
- [7] 罗斌,田芳芳,田俊斌,等. 白杨素对心肌缺血再灌注损伤大鼠心肌 Bax 和 Bcl - 2 表达的影响[J]. 世界中医药,2021,16(1):86—90.
- [8] 张攀. 富勒醇减轻肠缺血再灌注损伤的作用及机制研究[D]. 四川 成都:成都医学院,2024.
- [9] 丁永刚,马宏武,魏佳琪,等. 白细胞介素 17 对大鼠高血压心力衰竭的影响及其机制分析[J]. 中华老年心脑血管病杂志,2024,26(11):1343—1348.
- [10] 段晨阳. Drp1 在急性缺血缺氧损伤致线粒体质量失衡中的作用及机制研究[D]. 重庆:中国人民解放军陆军军医大学,2020.
- [11] LI G, WANG S, FAN Z. Oxidative stress in intestinal ischemia - reperfusion [J/OL]. *Front Med (Lausanne)*, 2022, 8: 750731—750740. 2022 - 01 - 14 [2025 - 04 - 03]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35096858/>.
- [12] 郝伟,范惟,王佳妮,等. 微小 RNA - 133a - 5p 在丙泊酚防治大鼠肝脏缺血再灌注损伤中的作用及作用机制[J]. 山东医药,2024,64(6):53—56.
- [13] 张力尹. 异丙酚预处理通过 NLRP3/caspase - 1 信号通路减轻大鼠肠缺血再灌注损伤作用及机制[D]. 四川 泸州:西南医科大学,2020.
- [14] DERAGON M A, MCCAIG W D, TRUONG P V, *et al.* Mitochondrial trafficking of MLKL, Bak/Bax, and Drp1 is mediated by RIP1 and ROS which leads to decreased mitochondrial membrane integrity during the hyperglycemic shift to necroptosis[J]. *Int J Mol Sci*,2023,11,24(10):8609—8626.
- [15] 丁可,孙涛,潘锐,等. 线粒体相关内质网膜在肠缺血再灌注损伤中的研究进展[J]. 山东医药,2021,61(25):92—95.
- [16] LIAO S, LUO J, KADDIER T, *et al.* Mitochondrial DNA release contributes to intestinal ischemia/reperfusion injury[J/OL]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 854994—855000. 2022 - 03 - 16 [2025 - 05 - 10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35370747/>.
- [17] 景伟馨,张贻帼,潘锐,等. 线粒体 DNA 介导先天免疫反应在肠缺血再灌注损伤中的研究进展[J]. 医学研究杂志,2024,53(2):160—163,177.
- [18] HAN J, TAO W, CUI W, *et al.* Propofol via antioxidant property attenuated hypoxia - mediated mitochondrial dynamic imbalance and malfunction in primary rat hippocampal neurons[J/OL]. *Oxid Med Cell Longev*,2022,6298786—6298802. 2022 - 01 - 18 [2025 - 05 - 19]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35087616/>.
- [19] 甄宁新,崔巍,田宝平. 线粒体 DNA 激活 cGAS - STING 信号通路促进肺部炎症性疾病的研究进展[J]. 中国病理生理杂志,2022,38(1):144—153.
- [20] 安城. IQGAP1 促进线粒体损伤激活 DNA 感受器 cGAS - STING 信号通路诱导内皮细胞焦亡导致动脉粥样硬化形成[D]. 安徽 合肥:安徽医科大学,2024.

(本文编辑:崔兰卿 收稿日期 2025 - 09 - 22)