

# 穿心莲内酯调控铁死亡中 SLC7A11/GPX4 轴减轻脓毒症肠损伤

黄 铭<sup>1</sup>, 张艺馨<sup>1</sup>, 曹国栋<sup>2</sup>, 曾佑成<sup>1</sup>, 林 靛<sup>1</sup>, 王晓悦<sup>1</sup>, 程青虹<sup>1,3</sup>

**摘要** 目的 探讨穿心莲内酯(AG)能否通过激活铁死亡中的 SLC7A11/GPX4 轴减轻脓毒症患者肠损伤。方法 将 40 只大鼠随机分为假手术组(sham 组)、脓毒症组(CLP 组)、AG 低、中、高剂量组(5、10、20 mg/kg);HE 染色观察肠道病理变化;ELISA 法测定白细胞介素 6(IL-6)、肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、肠脂肪酸结合蛋白(I-FABP)、D-乳酸含量;以 AG 高剂量组(AG20 组)探讨铁死亡机制,40 只大鼠随机分为 sham 组、CLP 组、铁死亡抑制剂(Fer-1)组、AG20 + Fer-1 组;HE 染色和透射电镜观察肠道病理变化;试剂盒测定氧化应激 MDA、GSH 水平和  $Fe^{3+}$  含量;Western blot 检测溶质载体家族 7 成员 11(SLC7A11)、谷胱甘肽过氧化物酶 4(GPX4)、铁重链蛋白 1(FTH-1)蛋白水平。**结果** 与 sham 组相比,

CLP 组小肠形态损伤严重,炎症水平、I-FABP 及 D-乳酸水平明显增高(均  $P < 0.05$ ),AG 组逆转上述变化,且呈浓度依赖性( $P < 0.05$ );与 CLP 组相比,AG20 组及 Fer-1 组小肠病理损伤得到改善,MDA 水平、 $Fe^{3+}$  含量降低,GSH 含量升高,SLC7A11、GPX4、FTH-1 蛋白表达升高(均  $P < 0.05$ ),AG20 + Fer-1 组病理损伤及氧化应激减轻,SLC7A11、GPX4、FTH-1 蛋白表达升高更明显(均  $P < 0.05$ )。**结论** AG 减轻脓毒症肠损伤的机制可能与铁死亡中的 SLC7A11/GPX4 轴激活有关。

**关键词** 脓毒症;肠损伤;穿心莲内酯;铁死亡;SLC7A11/GPX4 通路;肠脂肪酸结合蛋白

**中图分类号** R 965

**文献标志码** A **文章编号** 1000-1492(2023)12-2094-07

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.12.016

2023-09-30 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81860336)

作者单位:<sup>1</sup>石河子大学医学院,石河子 832000

<sup>2</sup>伊犁州友谊医院重症医学一科,伊犁哈萨克自治州 835000

<sup>3</sup>石河子大学第一附属医院重症医学二科,石河子 832000

作者简介:黄 铭,女,硕士研究生;

程青虹,男,教授,主任医师,硕士生导师,责任作者,E-mail:xunfeicheng@163.com

脓毒症是机体对感染反应失调导致的危及生命的器官功能障碍<sup>[1]</sup>。在脓毒症发展过程中,肠道是容易受损的器官之一。铁死亡是一种铁依赖性、脂质过氧化物累积诱发的细胞死亡方式,经研究证明可通过抑制铁死亡保护脓毒症心脏功能<sup>[2]</sup>,然而铁死亡对于脓毒症肠损伤的作用少有研究。穿心莲内酯(andrographolide, AG)化学式为  $C_{20}H_{30}O_5$ ,具有抗

morphology of liver tissue. The liver was weighed and the liver index was obtained by dividing weight by body weight. The levels of glutamate aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and lactate dehydrogenase (LDH), which are indicators of liver injury, were detected by microplate method. **Results** Compared with control group, the protein and mRNA expression of SIRT1, Nrf2 decreased significantly in ADLI group. Liver tissue structure was disturbed, hepatocytes were obviously swollen, and their boundary was unclear. The weight of mice decreased, but liver index increased. The mRNA and protein expression level of anti-apoptotic factor Bcl-2 decreased, while that of Bax and caspase-3 was raised. The level of ALT, AST and LDH were also elevated. The differences above were statistically significant ( $P < 0.05$ ). Compared with ADLI group, the protein and mRNA expression of SIRT1, Nrf2 were higher after NADH intervention. Liver tissue structure became clear, and hepatocytes were polygonal. The protein and mRNA expression of anti-apoptosis factor Bcl-2 was elevated and while that of Bax and caspase-3 was lower. The weight of mice increased and liver index decreased. The expression of ALT, AST and LDH decreased. The differences above were statistically significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** NADH may alleviate anti-tuberculosis drug-induced liver injury and apoptosis in mice by regulating SIRT1/Nrf2 pathway.

**Key words** antituberculosis drug-induced liver injury; apoptosis; inflammation; nicotinamide adenine dinucleotide; silence information regulator 1; nuclear factor erythroid 2-related factor 2

炎、抗病毒、抗肿瘤等作用<sup>[3]</sup>。而 AG 通过铁死亡对肠损伤发挥的作用尚未可知。本实验通过盲肠结扎穿孔(cecum ligation and puncture, CLP)术构建脓毒症模型,探讨穿心莲内酯能否通过激活铁死亡中溶质载体家族 7 成员 11(solute carrier family 7 member 11, SLC7A11)/谷胱甘肽过氧化物酶 4(glutathione peroxidase 4, GPX4)轴减轻脓毒症肠损伤。

## 1 材料与方法

**1.1 药物与试剂** 穿心莲内酯(货号:365645)及铁死亡抑制剂(ferrostatin-1, Fer-1, 货号:347174)购自美国 Sigma 公司,肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumour necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白介素 6(interleukin 6, IL-6)试剂盒(货号:GMP-TL662、GMP-TL652)购自上海语纯生物科技有限公司;肠脂肪酸结合蛋白(intestinal fatty acid binding protein, I-FABP)、D-乳酸(货号:SEKM-0239、BC5350)购自北京索莱宝生物技术有限公司;丙二醛(malondialdehyde, MDA)测定试剂盒、还原型谷胱甘肽(glutathione, GSH)测定试剂盒(货号:A003-1-2、A006-2-1)购自南京建成生物工程研究所;铁离子比色法检测试剂盒(货号:E1042)购自北京普利莱生物公司;BCA 蛋白含量检测试剂盒(货号:P0012S)购自江苏碧云天生物科技有限公司;兔抗溶质载体家族 7 成员 11(SLC7A11)、谷胱甘肽过氧化物酶 4(glutathione peroxidase 4, GPX4)、铁重链蛋白 1(ferritin heavy chain 1, FTH-1)(货号:T57046、T56969)购自上海 Abmart 公司, FTH-1 抗体(货号:ab183781)购自上海 Abcam 公司,  $\beta$ -actin 抗体、山羊抗鼠和山羊抗兔二抗(货号:GB110010、GB23301、GB23303)购自武汉赛维尔生物技术有限公司。

**1.2 主要仪器** Z323K 低温离心机(德国 HERMILE 公司), Elx-800 多功能酶标仪(美国 Bio-Bad 公司), EG1150 石蜡包埋机、RM2265 轮转式切片机(德国 LEICA 公司), CH20 光学显微镜(日本 Olympus 公司), Tanon-5200 Multi 全自动化学发光成像仪(上海天能公司)。

## 1.3 方法

**1.3.1 动物分组及模型制备** SPF 级雄性 SD 大鼠 80 只, 体质量(200  $\pm$  25) g, 购自新疆医科大学动物实验中心, 生产许可证编号: SYXK(新)2011-010101, 于 SPF 级动物房由专人予以鼠饲料及水, 室

内保持通风, 相对温度保持 20 ~ 25  $^{\circ}$ C, 相对湿度保持 50% ~ 70%, 自由进食饮水。本实验已获得石河子大学医学院第一附属医院动物实验伦理委员会批准(编号:A2022-173-01)。将 40 只 SD 雄性大鼠随机分为 5 组, 分别是假手术(sham)组、CLP 组、AG 低、中、高剂量组(5、10、20 mg/kg)<sup>[4-5]</sup>, 每组 8 只; 以 AG 高剂量(AG20)组为最佳剂量组再将其余 40 只 SD 雄性大鼠分为 sham 组、CLP 组、AG20 组、铁死亡抑制剂(Fer-1)组<sup>[6]</sup>、AG20 + Fer-1 组, 每组 8 只。造模开始前 1 h, 给药组予以 AG(20 mg/kg)及 Fer-1(10 mg/kg)腹腔注射处理, 假手术组予以等体积生理盐水注射。除假手术组外, 其余各组均采用 CLP 建立脓毒症模型<sup>[7]</sup>, 具体操作: 术前 12 h 禁食不禁水, 予以戊巴比妥(50 mg/kg)麻醉, 消毒后沿大鼠腹中线切开, 找到盲肠拉出腹腔, 盲肠根部 1/4 处结扎, 穿刺盲肠末端 2 次, 挤出少量肠内容物, 回纳盲肠, 逐层关腹。假手术组使用相同的操作, 不进行结扎及穿孔。术后 2 h 观察呼吸频率、心率、饮食、活动变化等判断脓毒症模型是否建立成功。

**1.3.2 炎症及肠黏膜通透性检测** 术后 24 h 取 sham 组、CLP 组、AG 低、中、高剂量组腹主动脉血 2 ml, 离心, 取上层血清, 按照试剂盒检测血清中炎症水平(IL-6、TNF- $\alpha$ )及肠黏膜通透性水平(I-FABP、D-乳酸)。

**1.3.3 HE 染色** 取每组距回盲瓣 5 cm 处肠组织, 4% 多聚甲醛溶液中固定后切片、脱蜡、染色、封片, 于显微镜下观察肠组织损伤情况。依据 Chiu's 分级进行评分, Chiu's 分级<sup>[8]</sup>具体评分如下: 小肠黏膜、绒毛正常(0 分); 在绒毛顶端中出现肠黏膜上皮间隙扩大, 常伴有毛细血管充血, 炎细胞浸润(1 分); 肠上皮间隙显著扩张, 绒毛顶端上皮抬高与固有层中度分离(2 分); 固有层大量分离, 部分绒毛顶端脱落(3 分); 绒毛及固有层脱落, 毛细血管扩张(4 分); 固有层消化或破坏, 伴出血或溃疡(5 分)。

**1.3.4 透射电镜检测肠组织病理变化** 取 sham 组、CLP 组、AG20 组、Fer-1 组、AG20 + Fer-1 组大鼠肠组织于电镜固定液固定后经过包埋、脱水、切片及染色后在透射电镜下观察肠组织病理变化。

**1.3.5 氧化应激水平检测** 取 sham 组、CLP 组、AG20 组、Fer-1 组、AG20 + Fer-1 组肠组织进行反复研磨后取上清液, 参照试剂盒说明书对上清液进行 MDA、GSH 含量测定。

**1.3.6 Fe<sup>3+</sup> 检测** 取 sham 组、CLP 组、AG20 组、Fer-1 组、AG20 + Fer-1 组肠组织进行反复研磨后取上清液,参照试剂盒说明书对上清液进行 Fe<sup>3+</sup> 含量测定。

**1.3.7 Western blot** 取 sham 组、CLP 组、AG20 组、Fer-1 组、AG20 + Fer-1 组肠组织匀浆上清液蛋白,BCA 试剂盒测定蛋白浓度。蛋白变性后,进行 SDS-PAGE 电泳,转膜,封闭,并与 SLC7A11、GPX4 和 β-actin 一抗(1 : 1 000) 4 ℃ 孵育过夜。第 2 天,洗膜 3 次,室温孵育抗鼠或抗兔二抗(1 : 10 000)1 h,洗膜 3 次后使用 ECL 化学发光液显影。采用 ImageJ 软件分析蛋白条带的灰度值,以 β-actin 为内参,计算目的蛋白相对表达水平。目的蛋白相对表达水平 = 目的蛋白条带灰度值/β-actin 条带灰度值。

**1.4 统计学处理** 计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示,多组均数间比较采用单因素方差分析,两两组间比较采用 LSD 法,  $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 AG 对脓毒症大鼠炎症指标及肠黏膜通透性的影响** 如图 1,与 sham 组相比,CLP 组血清 IL-6、TNF-α、IFBP、D-乳酸水平明显升高 ( $t_{IL-6} = 28.70$ ,  $t_{TNF-\alpha} = 37.75$ ,  $t_{IFBP} = 24.06$ ,  $t_{D-乳酸} = 25.28$ , 均  $P < 0.05$ ); 与 CLP 组相比 AG 5、10、20 mg/kg 组血清 IL-6 ( $t_{5\text{ mg/kg}} = 7.15$ ,  $t_{10\text{ mg/kg}} = 11.64$ ,  $t_{20\text{ mg/kg}} = 17.42$ , 均  $P < 0.05$ )、TNF-α ( $t_{5\text{ mg/kg}} = 9.09$ ,  $t_{10\text{ mg/kg}} = 14.77$ ,

$t_{20\text{ mg/kg}} = 21.05$ , 均  $P < 0.05$ )、IFBP ( $t_{5\text{ mg/kg}} = 4.10$ ,  $t_{10\text{ mg/kg}} = 8.98$ ,  $t_{20\text{ mg/kg}} = 15.89$ , 均  $P < 0.05$ )、D-乳酸 ( $t_{5\text{ mg/kg}} = 4.86$ ,  $t_{10\text{ mg/kg}} = 10.31$ ,  $t_{20\text{ mg/kg}} = 15.43$ , 均  $P < 0.05$ ) 水平均逐步降低,呈浓度依赖性(趋势性检验  $P < 0.05$ )。提示 AG 可降低炎症及肠黏膜通透性,且高浓度组效果最佳。

**2.2 AG 对脓毒症大鼠肠组织形态学变化的影响**

如图 2 所示,sham 组肠黏膜绒毛排列整齐,无明显病理学改变;与 sham 组相比,CLP 组绒毛可见断裂及脱落,毛细血管扩张及炎细胞浸润明显,固有层明显破坏,Chiu's 评分降低 ( $t = 34.80$ ,  $P < 0.05$ ); 与 CLP 组相比,AG 组肠绒毛脱落逐步好转,毛细血管扩张及炎细胞浸润逐步改善,固有层增生和破坏减轻,AG20 组改善最为明显 ( $t_{AG\ 5\text{ kg/mg}} = 4.85$ ,  $t_{AG\ 10\text{ kg/mg}} = 8.39$ ,  $t_{AG\ 20\text{ kg/mg}} = 13.53$ , 均  $P < 0.05$ )。

**2.3 AG 对脓毒症大鼠肠组织绒毛及线粒体变化的影响**

以 AG20 组为最佳剂量组进行研究,如图 3A 所示,在光镜下 AG20 组和 Fer-1 组较 CLP 组相比肠绒毛排列稍整齐,毛细血管扩张减轻,固有层增生及破坏明显好转,Chiu's 评分明显降低 ( $t_{AG20} = 11.87$ ,  $t_{Fer-1} = 9.33$ ,  $P < 0.05$ ); 与 AG20 组、Fer-1 组分别相比,AG20 + Fer-1 组肠绒毛顶端破坏少,未见明显固有层的增生及破坏,Chiu's 评分降低 ( $t = 9.23$ ,  $t = 11.7$ ,  $P < 0.05$ )。如图 3B 所示,在电镜下可见 sham 组肠上皮绒毛结构清晰完整,排列整齐,线粒体无明显改变;CLP 组绒毛排列不齐,可见断

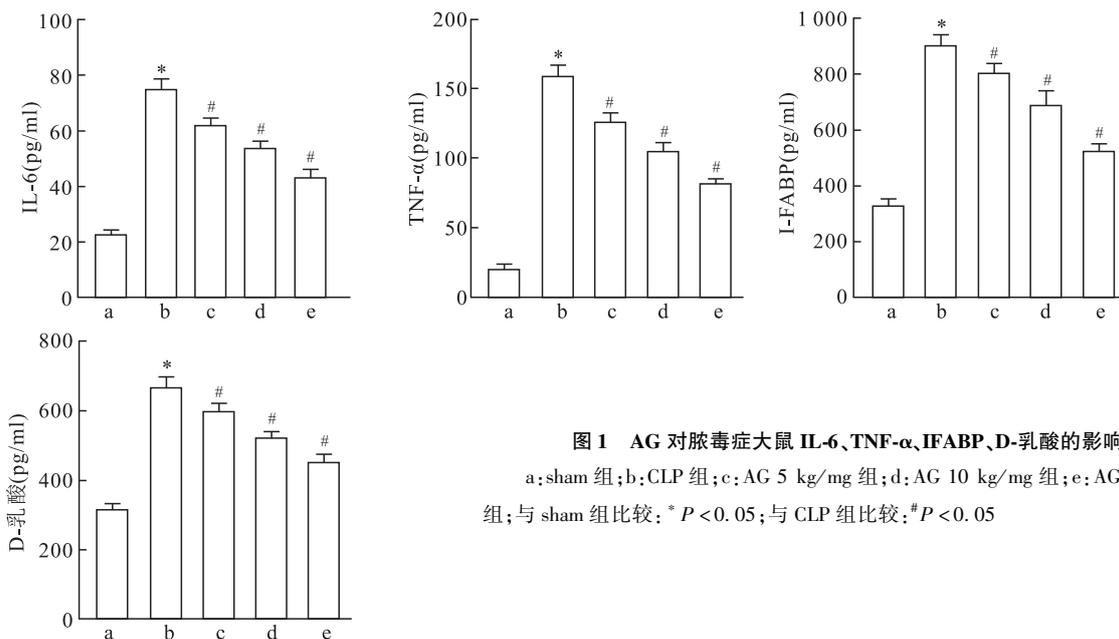


图 1 AG 对脓毒症大鼠 IL-6、TNF-α、IFABP、D-乳酸的影响  
a: sham 组; b: CLP 组; c: AG 5 kg/mg 组; d: AG 10 kg/mg 组; e: AG 20 kg/mg 组; 与 sham 组比较: \*  $P < 0.05$ ; 与 CLP 组比较: #  $P < 0.05$

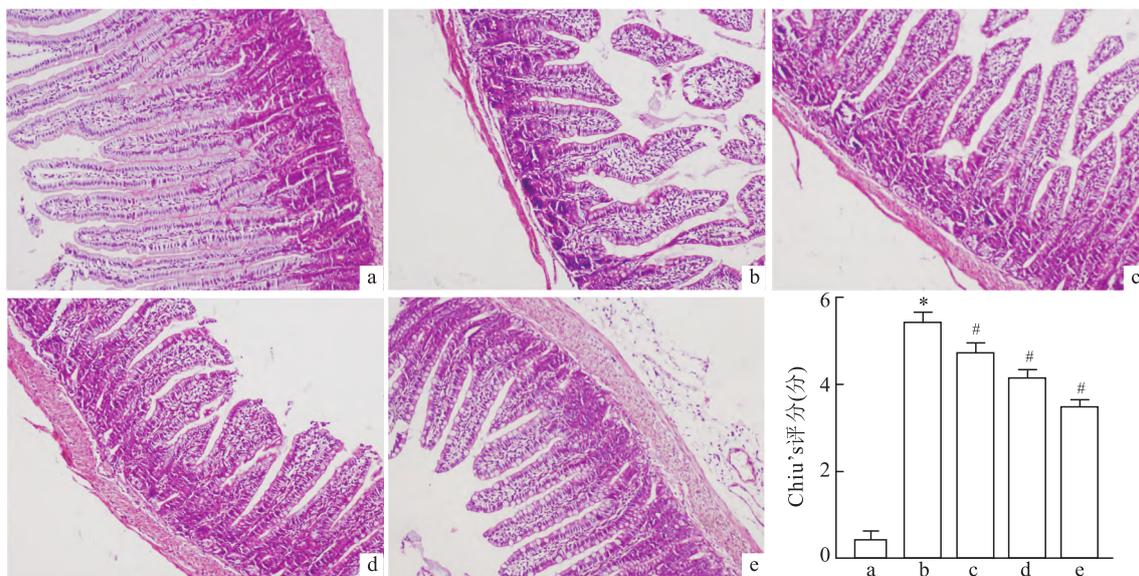


图2 各组大鼠肠组织形态变化及 Chiu's 评分 HE × 100

a: sham 组; b: CLP 组; c: AG 5 kg/mg 组; d: AG 10 kg/mg 组; e: AG 20 kg/mg 组; 与 sham 组比较: \*  $P < 0.05$ ; 与 CLP 组比较: #  $P < 0.05$

裂、缺失,线粒体数量减少,空泡样改变严重;AG20 组及 Fer-1 组绒毛排列稍齐,断裂及缺失减少,线粒体空泡稍有改善;而 AG20 + Fer-1 组肠组织结构破损改善更为明显。

**2.4 AG 对脓毒症大鼠肠组织氧化应激水平的影响** 以 AG20 组为最佳剂量组进行研究,如图 4 所示,与 sham 组相比,CLP 组肠组织中 MDA 含量明显升高( $t = 24.57, P < 0.05$ ),GSH 含量明显降低( $t = 31.49, P < 0.05$ );与 CLP 组相比,AG20 组及 Fer-1 组肠组织中 MDA 含量明显降低( $t_{AG20} = 9.55, t_{Fer-1} = 13.21, P < 0.05$ ),GSH 含量明显升高( $t_{AG20} = 11.83, t_{Fer-1} = 13.70, P < 0.05$ );与 AG20 组、Fer-1 组分别相比,AG20 + Fer-1 组肠组织氧化应激水平下降更为明显(MDA:  $t = 9.87, t = 6.21$ ; GSH:  $t = 6.34, t = 4.47$ ,均  $P < 0.05$ )。

**2.5 AG 对脓毒症大鼠肠组织  $Fe^{3+}$  含量的影响** 以 AG20 组为最佳剂量组进行研究,如图 5 所示,与 sham 组( $4.95 \pm 0.78$ )相比,CLP 组肠组织中  $Fe^{3+}$  含量( $38.86 \pm 2.79$ )明显升高( $t = 23.81, P < 0.05$ );与 CLP 组相比,AG20 组及 Fer-1 组肠组织中  $Fe^{3+}$  含量( $27.53 \pm 2.26, 23.86 \pm 1.51$ )明显降低( $t = 7.95, t = 10.53, P < 0.05$ );与 AG20 组、Fer-1 组分别相比,AG20 + Fer-1 组肠组织中  $Fe^{3+}$  含量( $13.02 \pm 2.13$ )降低更明显( $t = 10.19, t = 7.61, P < 0.05$ )。

**2.6 AG 对脓毒症大鼠肠组织 SLC7A11、GPX4、**

**FTH-1 蛋白表达水平的影响** 以 AG20 组为最佳剂量组进行研究,如图 6 所示,与 sham 组相比,CLP 组肠组织中 SLC7A11、GPX4、FTH-1 蛋白含量明显降低( $t_{SLC7A11} = 18.86, t_{GPX4} = 38.57, t_{FTH-1} = 26.65, P < 0.05$ );与 CLP 组相比,AG20 组( $t_{SLC7A11} = 3.88, t_{GPX4} = 22.89, t_{FTH-1} = 4.48$ )及 Fer-1 组( $t_{SLC7A11} = 3.47, t_{GPX4} = 24.90, t_{FTH-1} = 4.72$ )肠组织中 SLC7A11、GPX4、FTH-1 蛋白含量均明显升高;与 AG20 组、Fer-1 组分别相比,AG20 + Fer-1 组肠组织中 SLC7A11、GPX4、FTH-1 蛋白含量升高更明显(SLC7A11:  $t = 3.87, t = 4.28$ ; GPX4:  $t = 8.21, t = 6.19$ ; FTH-1:  $t = 6.10, t = 6.34$ ;均  $P < 0.05$ )。

### 3 讨论

脓毒症是由免疫紊乱、器官功能失调、炎症风暴等原因诱发多器官功能障碍,肺脏、肾脏、肝脏等器官均可产生病变,从而危及生命<sup>[9]</sup>。随着研究不断深入,脓毒症并发肠损伤也受到越来越多的关注。肠道微生态失衡、线粒体功能障碍、异常肠道细胞死亡等机制均可诱发脓毒症肠损伤的发生<sup>[10]</sup>。本研究中脓毒症组大鼠肠黏膜结构破坏,病理学损伤明显,发生严重的炎症反应,肠黏膜通透性明显增加,提示脓毒症发生时伴有肠道损伤。具有抗氧化、抗炎、抗病毒等广泛药理活性的 AG 对脓毒症肠损伤的影响报道尚少,本研究对于同样实施了 CLP 术但

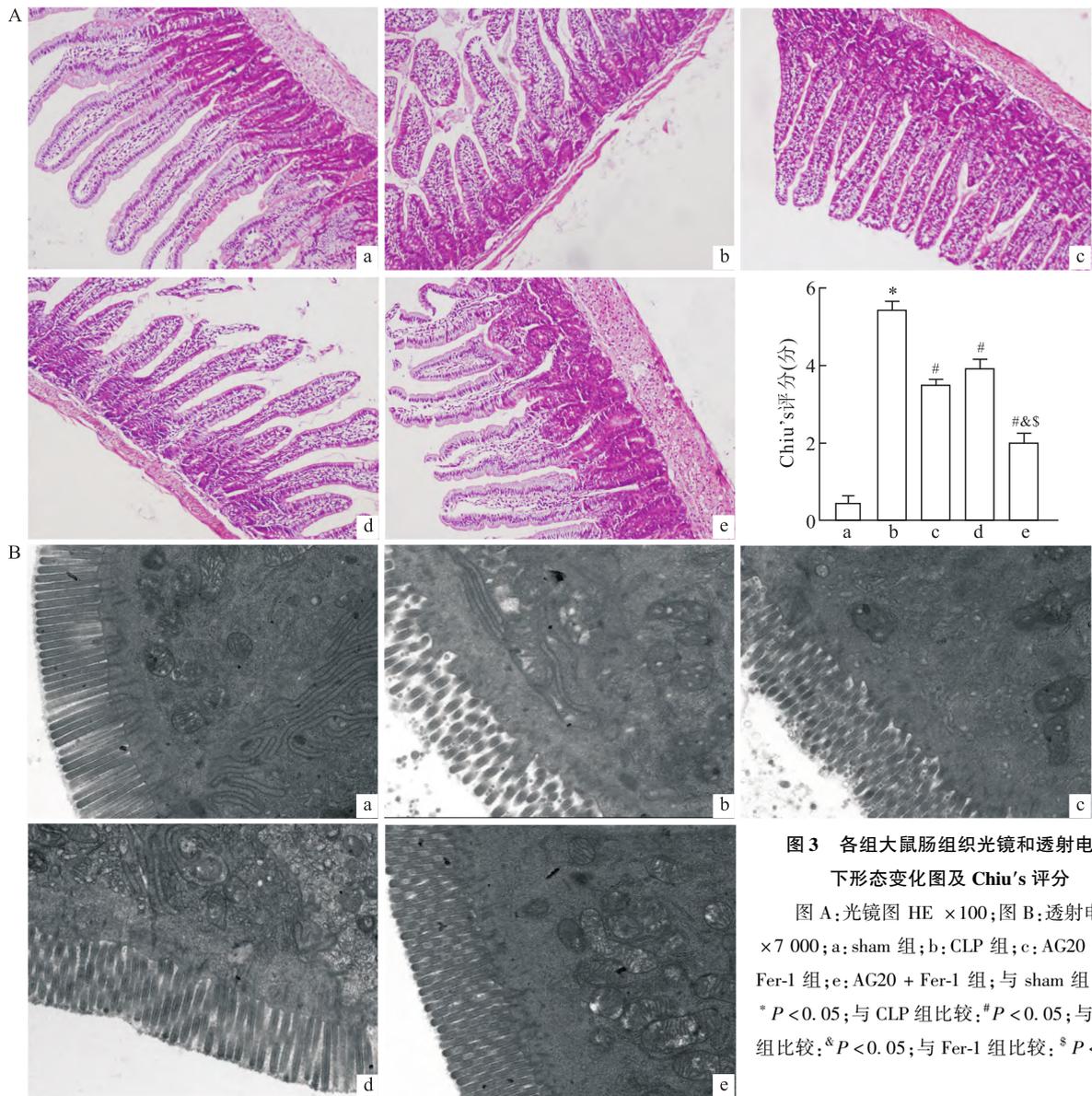


图3 各组大鼠肠组织光镜和透射电镜下形态变化图及 Chiu's 评分

图A:光镜图 HE ×100;图B:透射电镜图 ×7000;a: sham 组;b: CLP 组;c: AG20 组;d: Fer-1 组;e: AG20 + Fer-1 组;与 sham 组比较: \*  $P < 0.05$ ;与 CLP 组比较: #  $P < 0.05$ ;与 AG20 组比较: &  $P < 0.05$ ;与 Fer-1 组比较: &  $P < 0.05$

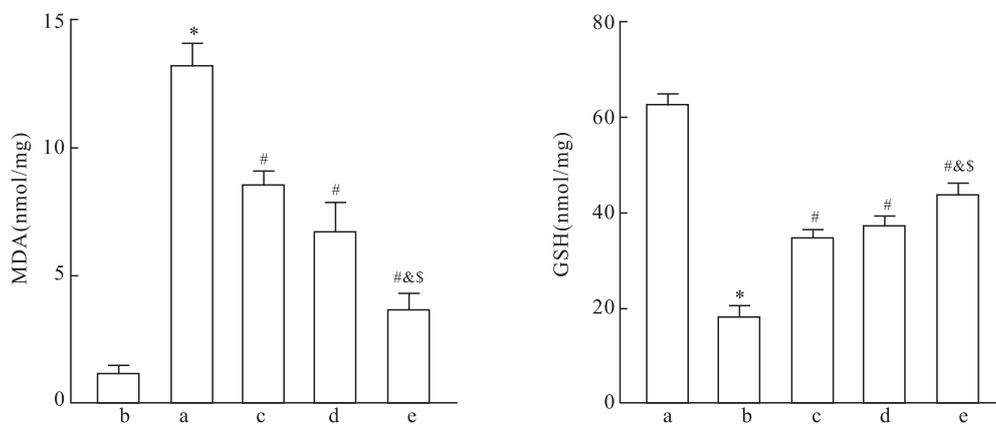


图4 不同浓度 AG 对脓毒症大鼠肠黏膜氧化应激水平的影响

a: sham 组;b: CLP 组;c: AG20 组;d: Fer-1 组;e: AG20 + Fer-1 组;与 sham 组比较: \*  $P < 0.05$ ;与 CLP 组比较: #  $P < 0.05$ ;与 AG20 组比较: &  $P < 0.05$ ;与 Fer-1 组比较: &  $P < 0.05$

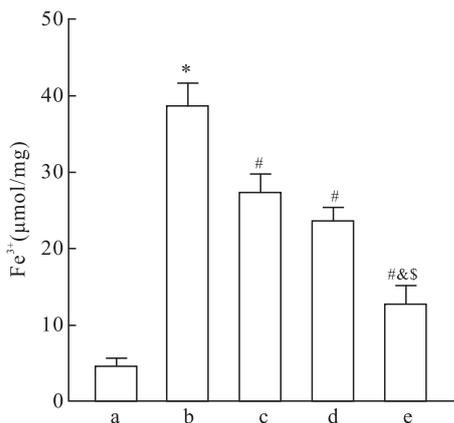


图5 不同浓度AG对脓毒症大鼠肠黏膜Fe<sup>3+</sup>含量的影响

a: sham组; b: CLP组; c: AG20组; d: Fer-1组; e: AG20 + Fer-1组; 与sham组比较: \*P < 0.05; 与CLP组比较: #P < 0.05; 与AG20组比较: &P < 0.05; 与Fer-1组比较: §P < 0.05

经过AG给药后,可见肠黏膜病理损伤逐步改善,炎症反应和氧化应激均有所降低,且剂量越高,作用越明显,均揭示AG对脓毒症肠道起保护作用,但AG对于脓毒症肠损伤的保护作用是通过何种方式起效的,尚无人进行探究。

铁死亡为近年来发现的新型细胞死亡方式,被证实参与脓毒症心脏<sup>[11]</sup>器官损伤。当铁死亡加重时,细胞内铁累积引起毒性脂质过氧化物ROS的升高,氧化应激水平增高,铁重链蛋白(FTH-1)表达减

少。本研究中脓毒症组加入分别加入Fer-1及AG后,Fe<sup>3+</sup>含量降低,FTH-1蛋白表达提高,抗氧化作用增强,且AG和Fer-1共同作用时上述效果更明显,直接证明了铁死亡不仅参与更是促进了脓毒症肠损伤的发生,而AG可通过减轻铁死亡发挥保护作用。

SLC7A11是System Xc-系统发挥功能的主要亚基,此亚基主要作用是将胞外胱氨酸及胞内谷氨酸以1:1比例交换,使胞内有充足的半胱氨酸来合成GSH,GSH可与GPX4协同将胞内脂质氧化物转化为无毒的脂质醇,以减少细胞内脂质氧化物的累积,从而抑制铁死亡的发生发展,减轻组织损伤<sup>[12-13]</sup>。本研究CLP组中SLC7A11、GPX4表达均受到抑制,肠组织损伤严重,加入AG及Fer-1后SLC7A11、GPX4蛋白表达增加,肠组织损伤得到修复。AG和Fer-1联用时,铁死亡进一步受到抑制,出现了更强大的抗炎症、抗氧化功能,修复肠组织损伤作用,这可能与AG激活铁死亡中SLC7A11/GPX4轴改善脓毒症肠损伤有关。

综上所述,穿心莲内酯可能通过调节SLC7A11/GPX4轴来抑制铁死亡的发生,从而改善脓毒症大鼠肠损伤。但关于穿心莲内酯是否可以通过SLC7A11/GPX4轴的上游及下游调控靶点控制铁死亡诱导脓毒症肠损伤的发生尚有待深究,未来将在后面的研究中进一步探索。

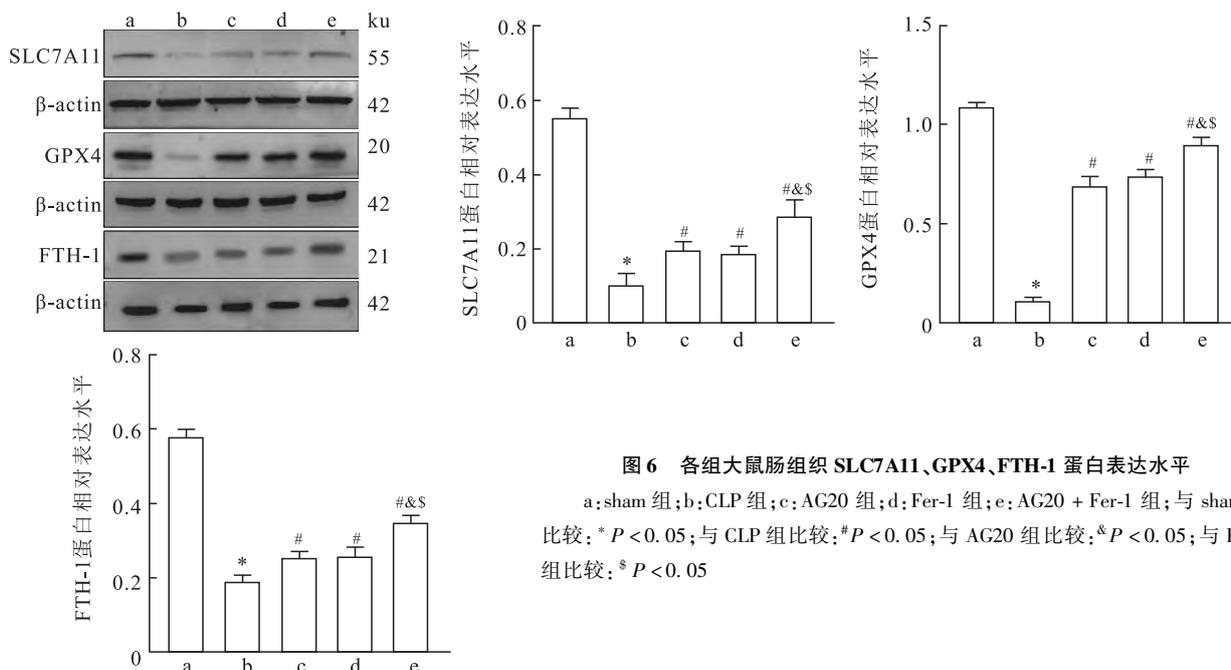


图6 各组大鼠肠组织SLC7A11、GPX4、FTH-1蛋白表达水平

a: sham组; b: CLP组; c: AG20组; d: Fer-1组; e: AG20 + Fer-1组; 与sham组比较: \*P < 0.05; 与CLP组比较: #P < 0.05; 与AG20组比较: &P < 0.05; 与Fer-1组比较: §P < 0.05

## 参考文献

- [1] 吴建楠, 宋健楠, 李海波, 等. 铁死亡在脓毒症中的研究进展[J]. 北京医学, 2022, 44(7): 629-32.
- [2] 曾佑成, 周彦伦, 曹国栋, 等. 白藜芦醇对大鼠脓毒症心肌病铁死亡的影响及机制[J]. 医药导报, 2022, 41(12): 1740-6.
- [3] 刘天福, 杜泉年, 张义福, 等. 穿心莲内酯衍生物的合成及活性研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2022, 34(12): 2142-61.
- [4] 吴海涛, 周洪礼, 宋玉, 等. 穿心莲内酯对盲肠结扎穿孔诱导的脓毒症大鼠心肺功能和炎症损伤的保护作用[J]. 天津医药, 2022, 50(1): 67-73.
- [5] 李学勤, 郝长锁, 付迎新. 穿心莲内酯对 LPS 吸入性肺炎新生大鼠 NLRP3、ASC 及 caspase-1 表达的影响[J]. 重庆医学, 2020, 49(13): 2071-6, 2081.
- [6] 刘奕言, 张紫森, 包代琴, 等. 抑制周细胞铁死亡对脓毒症大鼠肺血管屏障功能的保护作用[J]. 陆军军医大学学报, 2022, 44(20): 2037-47.
- [7] 陈盈泰, 吴昊, 张森, 等. 脓毒症大鼠肠黏膜 Slit2/Robo4 蛋白表达及其与血管生成的关系[J]. 中国卫生标准管理, 2022, 13(16): 163-7.
- [8] 陈聪敏, 张晓慧, 丁新耘, 等. 基于中性粒细胞胞外诱捕网探究丹参酮 II A 对脓毒症小鼠肠损伤的影响及机制[J]. 中国急救医学, 2023, 43(2): 119-25.
- [9] 刘辉, 刘军超, 王伟宝, 等. 腹腔注射同种异体粪便滤液建立大鼠脓毒症模型[J]. 安徽医科大学学报, 2023, 58(2): 236-42.
- [10] 胡英山, 王晶晶, 高红梅. 脓毒症相关肠道功能障碍发病机制的研究进展[J]. 天津医药, 2023, 51(3): 333-6.
- [11] 曹国栋, 邓飞飞, 赵宇含, 等. H2S 通过调节铁死亡中 Xc- / GPX4 通路减轻脓毒症心肌损伤[J]. 安徽医科大学学报, 2022, 57(12): 1959-64.
- [12] 但章勇, 束传林, 施晓蕊, 等. ATRA 通过抑制铁死亡缓解脂多糖诱导的小鼠急性心肌损伤[J]. 安徽医科大学学报, 2023, 58(3): 373-8.
- [13] Lin W, Wang C, Liu G, et al. SLC7A11/xCT in cancer: biological functions and therapeutic implications[J]. *Am J Cancer Res*, 2020, 10(10): 3106-26.

## Andrographolide regulates SLC7A11/GPX4 axis in ferroptosis to attenuate intestinal injury in sepsis

Huang Ming<sup>1</sup>, Zhang Yixin<sup>1</sup>, Cao Guodong<sup>2</sup>, Zeng Youcheng<sup>1</sup>, Lin Liang<sup>1</sup>, Wang Xiaoyue<sup>1</sup>, Cheng Qinghong<sup>1,3</sup>  
 (<sup>1</sup>Shihezi University School of Medicine, Shihezi 832000; <sup>2</sup>Dept of Intensive Care, Yili Friendship Hospita, Yili, Xinjiang 835000; <sup>3</sup>The Second Department of Critical Care, The First Affiliated Hospital of Shihezi University, Shihezi 832000)

**Abstract Objective** To investigate whether Andrographolide (AG) can alleviate intestinal injury in sepsis by activating the SLC7A11/GPX4 axis in ferroptosis. **Methods** Forty rats were randomly divided into sham group (sham group), sepsis group (CLP group), AG low, medium and high dose groups (5, 10 and 20 mg/kg). HE staining was used to observe the pathological changes of Intestinal tract. ELISA method was used to determine Interleukin 6 (IL-6), tumour necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), intestinal fatty acid binding protein (I-FABP), D-lactate content. The mechanism of ferroptosis was explored with AG high dose group (AG20 group), forty rats were randomly divided into sham group, CLP group, ferroptosis inhibitor (Fer-1) group, AG20 + Fer-1 group. HE staining and transmission electron microscopy were used to observe the pathological changes of Intestinal tract. The kits were used to determine oxidative stress MDA, GSH levels and Fe<sup>3+</sup> content. Western blot was used to detect the protein levels of solute carrier family 7 member 11 (SLC7A11), glutathione peroxidase 4 (GPX4), and ferritin heavy polypeptide 1 (FTH-1). **Results** Compared with the sham group, the CLP group showed severe morphological damage to the small intestine, with significantly higher levels of inflammation, I-FABP and D-lactate (all  $P < 0.05$ ), the AG group reversed these changes in a concentration-dependent manner (all  $P < 0.05$ ). Compared with the CLP group, the AG20 and Fer-1 groups showed improved pathological damage to the small intestine, with lower levels of MDA and Fe<sup>3+</sup> and higher levels of GSH, SLC7A11, GPX4 and FTH-1 protein expression increased (all  $P < 0.05$ ), and pathological injury and oxidative stress were reduced in the AG20 + Fer-1 group, and SLC7A11, GPX4 and FTH-1 protein expression increased more significantly (all  $P < 0.05$ ). **Conclusion** The mechanism by which AG attenuates intestinal injury in sepsis may be related to SLC7A11/GPX4 axis activation in ferroptosis.

**Key words** sepsis; intestinal injury; andrographolide; ferroptosis; SLC7A11/GPX4 pathway; I-FABP