

[文章编号] 1000-4718(2019)07-1296-06

褐藻糖胶对大鼠肠缺血再灌注损伤的作用及潜在机制*

刘雪环¹, 胡沙沙², 王程¹, 栾晓¹, 郭菲菲¹, 孙向荣¹, 徐璐^{1△}

(¹青岛大学基础医学院生理与病理生理学系, 山东 青岛 266021; ²青岛大学附属医院病理科, 山东 青岛 266555)

[摘要] **目的:** 探讨褐藻糖胶(fucoidan)对大鼠肠缺血再灌注(I/R)损伤的作用及潜在机制。**方法:** 30只成年雄性Wistar大鼠随机分为3组:假手术(sham)组,缺血再灌注(I/R)组和褐藻糖胶(Fucoidan + I/R)组。Fucoidan + I/R组大鼠在缺血再灌注前7 d开始每天腹腔内注射褐藻糖胶(160 mg/kg); sham组及I/R组大鼠每天腹腔内注射等量的生理盐水,连续7 d。Sham组大鼠仅进行剖腹及肠系膜上动脉分离,I/R组及Fucoidan + I/R组大鼠剖腹后均将肠系膜上动脉夹闭1 h,再灌注2 h,建立肠缺血再灌注模型。各组大鼠经腹主动脉采血,测定血清二胺氧化酶(DAO)、D-乳酸(D-LA)、肿瘤坏死因子α(TNF-α)、白细胞介素-6(IL-6)和IL-1β的水平;采血后取回肠末端组织,常规HE染色,观察组织损伤情况,同时检测肠组织中丙二醛(MDA)和谷胱甘肽(GSH)含量以及超氧化物歧化酶(SOD)和髓过氧化物酶(MPO)活性,此外,采用Western blot法检测肠组织中Bax、cleaved caspase-3和Bcl-2的蛋白水平。**结果:**与sham组和Fucoidan + I/R组比较,I/R组大鼠血清DAO、D-LA、TNF-α、IL-6和IL-1β水平显著增高($P < 0.05$),肠组织Chiu's病理评分、MDA含量、MPO活性及Bax和cleaved caspase-3蛋白水平也显著增加($P < 0.05$),但肠组织中GSH含量、SOD活性和Bcl-2蛋白水平显著降低($P < 0.05$)。**结论:**褐藻糖胶可减轻I/R引起的肠组织损伤,机制可能与抗氧化、抗炎和抗凋亡效应有关。

[关键词] 缺血再灌注损伤; 褐藻糖胶; 细胞凋亡; 炎症

[中图分类号] R363.2; R656.1

[文献标志码] A doi:10.3969/j.issn.1000-4718.2019.07.023

Effect of fucoidan on intestinal ischemia-reperfusion injury in rats

LIU Xue-huan¹, HU Sha-sha², WANG Cheng¹, LUAN Xiao¹, GUO Fei-fei¹, SUN Xiang-rong¹, XU Luo¹

(¹Department of Physiology and Pathophysiology, School of Basic Medicine, Qingdao University, Qingdao 266021, China;

²Department of Pathology, The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266555, China. E-mail: xu.luo@163.com)

[ABSTRACT] **AIM:** To investigate the effect and potential mechanism of fucoidan on intestinal ischemia-reperfusion (I/R) injury in rats. **METHODS:** Adult male Wistar rats were randomly divided into 3 groups: sham group, I/R group and Fucoidan + I/R group. Fucoidan at 160 mg/kg was intraperitoneally injected in rats of Fucoidan + I/R group 7 d prior to operation, and the equal volume of saline was intraperitoneally injected in rats of sham group and I/R group. The rats in I/R group and Fucoidan + I/R group underwent superior mesenteric artery occlusion for 1 h and then reperfusion for 2 h. Following reperfusion, the histomorphological changes of the ileum were examined by HE staining. The levels of diamine oxidase (DAO), D-lactic acid (D-LA), tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin-6 (IL-6) and IL-1β were detected in the blood samples, the levels of malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH), the activity of superoxide dismutase (SOD) and myeloperoxidase (MPO), and the protein levels of Bax, cleaved caspase-3 and Bcl-2 were analyzed in intestinal tissue samples. **RESULTS:** Compared with sham group and Fucoidan + I/R group, the serum levels of DAO, D-LA, TNF-α, IL-6 and IL-1β were significantly increased in I/R group ($P < 0.05$), Chiu's score of intestinal tissue, MDA content, MPO activity, the levels of Bax and cleaved caspase-3 protein in the intestinal tissues were also significantly increased ($P < 0.05$), while the tissue GSH content, SOD activity, and Bcl-2 protein levels were significantly decreased

[收稿日期] 2018-10-08

[修回日期] 2018-12-20

* [基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 81470815; No. 81270467; No. 81300281); 山东省优秀中青年科学家科研奖励基金资助项目(No. BS2014YY009; No. 81500414); 中国博士后科学基金资助项目(No. 2018M632627; No. 2018M630749)

△通讯作者 Tel: 0532-82991713; E-mail: xu.luo@163.com

($P < 0.05$). **CONCLUSION:** Fucoidan attenuates intestinal tissue damage caused by I/R, which may be related to anti-oxidation, anti-inflammatory and anti-apoptotic effects.

[**KEY WORDS**] Ischemia-reperfusion injury; Fucoidan; Apoptosis; Inflammation

肠缺血再灌注(ischemia reperfusion, I/R)损伤是创伤、严重感染及休克等疾病共同存在的病理生理过程,其不仅引起肠屏障功能障碍,还可导致远端器官损伤、全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)和多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)^[1]。目前关于肠 I/R 损伤的确切机制尚未完全阐明,但活性氧(reactive oxygen species, ROS)和炎症因子的产生被认为是导致肠 I/R 损伤的重要机制。褐藻糖胶(fucoidan)是一种从海带中提取纯化的天然复合多糖,具有抗病毒、抗菌、抗氧化、抗炎和免疫调节等多种生物学活性^[2]。研究表明,褐藻糖胶可改变肠道菌群,减轻环磷酰胺引起的肠黏膜损伤^[3],且褐藻糖胶对心肌、肾、肝以及脑缺血再灌注损伤具有脏器保护作用^[4-7],但褐藻糖胶对肠缺血再灌注损伤是否具有肠保护作用尚不清楚。因此,本研究在构建大鼠肠缺血再灌注损伤模型基础上,初步探讨了褐藻糖胶对肠缺血再灌注损伤的影响及潜在机制,为开发褐藻糖胶用于临床缺血再灌注损伤性疾病的治疗提供实验依据。

材 料 和 方 法

1 实验试剂

褐藻糖胶,纯度 99%,购自 Sigma;二胺氧化酶(diamine oxidase, DAO)和 D-乳酸(D-lactic acid, D-LA)ELISA 试剂盒购自武汉优尔生科技股份有限公司;丙二醛(malondialdehyde, MDA)、谷胱甘肽(glutathione, GSH)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)试剂盒和髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)试剂盒购自南京建成生物工程公司;肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素 6(interleukin-6, IL-6)和白细胞介素 1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)ELISA 试剂盒均购自欣博盛生物科技有限公司;抗 Bax、cleaved caspase-3、Bcl-2 及 β -actin 抗体均购自 Cell Signaling Technology。

2 方法

2.1 实验分组及肠缺血再灌注模型的构建 30 只(SPF 级,8 周龄)成年雄性 Wistar 大鼠(购于山东省青岛市药品检验所),体重 250 ~ 300 g,随机分为 3 组($n = 10$):假手术(sham)组、缺血再灌注(I/R)组和褐藻糖胶(Fucoidan + I/R)组。Fucoidan + I/R 组于缺血再灌注前 7 d 持续腹腔注射浓度为 20 g/L 的

褐藻糖胶(160 mg/kg)^[7]直至处死;sham 组及 I/R 组大鼠腹腔注射等量的生理盐水作为对照。所有大鼠术前禁食(可自由饮水)12 h,称重,10%水合氯醛(30 mL/kg)腹腔麻醉。将大鼠仰卧固定于鼠板,剑突下腹正中做长约 3 cm 切口,暴露肠系膜上动脉。Sham 组仅分离肠系膜上动脉,并不夹闭。分离肠系膜上动脉后,I/R 组和 Fucoidan + I/R 组均用无创血管夹夹闭肠系膜上动脉 1 h,松夹后,持续再灌注 2 h,制备肠缺血再灌注模型。

2.2 样本的采集

2.2.1 血标本 实验结束后,大鼠经腹主动脉取血 4 mL,室温静置 30 min,离心(4 °C, 1 000 × g)10 min,取上层血清, - 80 °C 冰箱保存,以备 DAO、D-LA、TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平检测。

2.2.2 组织标本 取距盲肠约 5 cm 的回肠组织 5 ~ 6 cm,迅速放入备好的冰生理盐水进行漂洗,无菌滤纸吸干水分。剪下 1 ~ 2 cm 肠段放入 4% 甲醛溶液固定后用石蜡包埋,用于后续小肠组织形态观察。另剪下 1 ~ 2 cm 肠段刮取肠上皮黏膜,制备 10% 组织匀浆,离心(4 °C, 1 000 × g)10 min,吸取上清液,存于 - 80 °C 冰箱,用于组织 MDA 和 GSH 含量及 SOD 和 MPO 活性的检测。剩余肠段,存于 - 80 °C 冰箱,用于组织 Bax、cleaved caspase-3 和 Bcl-2 蛋白水平的检测。

2.3 肠黏膜形态学观察 回肠组织常规石蜡包埋,制作厚约 5 μ m 切片,常规 HE 染色,光镜下观察小肠黏膜形态结构的变化,并采用 Chiu's 6 级评分法对肠黏膜损伤程度进行评价^[8]。0 分:正常小肠绒毛上皮;1 分:绒毛尖端处上皮间下间隙增大,毛细血管有淤血现象;2 分:上皮间下间隙扩张,伴随上皮层固有层的中度分离;3 分:绒毛两侧上皮层大量地固有层分离,部分绒毛顶端破损;4 分:绒毛破损伴随固有层毛细血管暴露,固有层中性粒细胞增多;5 分:固有层破坏、内皮下出血和溃疡。

2.4 血清 DAO、D-LA、TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平测定 采用酶联免疫吸附测定法检测血清 DAO、D-LA、TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平,所有指标的检测应严格按照 ELISA 说明书进行操作。

2.5 肠组织 MDA、GSH 含量和 SOD、MPO 活性测定 采用硫代巴比妥酸法测定肠组织 MDA 的含量;采用二硫代双硝基苯甲酸比色法测定肠组织 GSH 的含量;采用黄嘌呤氧化酶法测定肠组织 SOD 活性;采用

依赖过氧化氢的邻联二苊香胺氧化还原反应法定测定肠组织 MPO 的活性。所有指标的检测严格遵守试剂盒说明书指引。

2.6 Western blot 法检测肠组织 Bax、cleaved caspase-3 和 Bcl-2 蛋白的水平 取冻存回肠组织,剪碎,加入裂解液冰上 30 min,离心(4 °C, 16 000 × g)5 min,提取上清液并蛋白定量。进行 SDS-PAGE 分离蛋白,转膜,然后加入封闭液室温孵育 1 h,加入 I 抗 4 °C 孵育过夜, TBST 洗膜 3 次,每次 5 min,加 II 抗,室温孵育 2 h, TBST 洗膜 3 次,化学发光法显色,运用 ImageJ 图像分析系统对每个条带进行灰度分析。

3 统计学处理

应用 SPSS 16.0 软件进行统计分析,数据以均数 ± 标准差 (mean ± SD) 表示,组间均数比较采用单因

素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 腹腔注射褐藻糖胶对肠缺血再灌注损伤大鼠肠黏膜形态学变化的影响

光镜下可见, sham 组大鼠肠黏膜组织绒毛排列整齐,未见有明显损伤;但 I/R 组肠黏膜组织结构紊乱,绒毛组织发生严重脱落并伴有腺体的严重受损;而 Fucoidan + I/R 组肠黏膜组织损伤较轻,绒毛呈轻度水肿,绒毛顶端变钝,表面的杯状细胞清晰可见,偶见崩解,见图 1A。Chiu's 评分结果显示,与 sham 组相比, I/R 组肠黏膜组织损伤明显加重 ($P < 0.05$);与 I/R 组相比, Fucoidan + I/R 组大鼠肠黏膜组织损伤显著减轻 ($P < 0.05$),见图 1B。

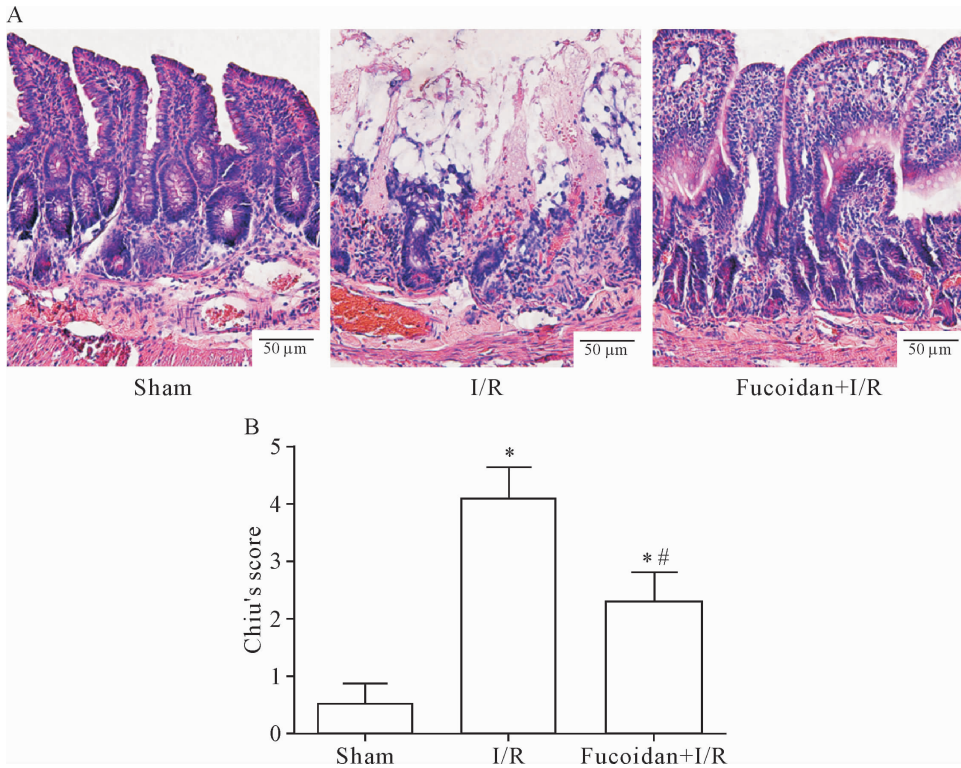


Figure 1. HE staining was used to observe the effect of intraperitoneal injection of fucoidan on the morphology of intestinal mucosa in rats with intestinal ischemia-reperfusion injury. A: histopathological pictures; B: Chiu's score. Mean ± SD. $n = 10$. * $P < 0.05$ vs sham group; # $P < 0.05$ vs I/R group.

图 1 HE 染色观察腹腔注射褐藻糖胶对肠缺血再灌注损伤大鼠肠黏膜形态学变化的影响

2 腹腔注射褐藻糖胶对肠缺血再灌注损伤大鼠血清 DAO 和 D-LA 水平的影响

与 sham 组相比, I/R 组血清 DAO 和 D-LA 水平显著升高 ($P < 0.05$),而褐藻糖胶预处理能显著降低肠缺血再灌后血清 DAO 和 D-LA 水平,但仍高于 sham 组 ($P < 0.05$),见表 1。

3 腹腔注射褐藻糖胶对肠缺血再灌注损伤大鼠肠黏膜 MDA、GSH 含量和 SOD 活性的影响

与 sham 相比, I/R 组大鼠肠黏膜组织中 MDA 含

表 1 腹腔注射褐藻糖胶对肠缺血再灌注损伤大鼠血清 DAO 和 D-LA 水平的影响

Table 1. The effect of intraperitoneal injection of fucoidan on serum DAO and D-LA levels in rats with intestinal ischemia-reperfusion injury (Mean ± SD. $n = 10$)

Group	DAO (10^3 U/L)	D-LA (mg/L)
Sham	1.43 ± 0.17	0.57 ± 0.09
I/R	4.59 ± 0.41*	2.46 ± 0.25*
Fucoidan + I/R	2.58 ± 0.43*#	1.36 ± 0.12*#

* $P < 0.05$ vs sham group; # $P < 0.05$ vs I/R group.

量显著增加($P < 0.05$);与 I/R 组相比,褐藻糖胶预处理可显著降低肠黏膜中 MDA 含量($P < 0.05$),但仍高于 sham 组($P < 0.05$)。与 sham 组相比,I/R 组及 Fucoidan + I/R 组肠组织 GSH 含量和 SOD 活性

均显著降低($P < 0.05$),但 Fucoidan + I/R 组肠组织 GSH 含量和 SOD 活性显著高于 I/R 组($P < 0.05$),见图 2。

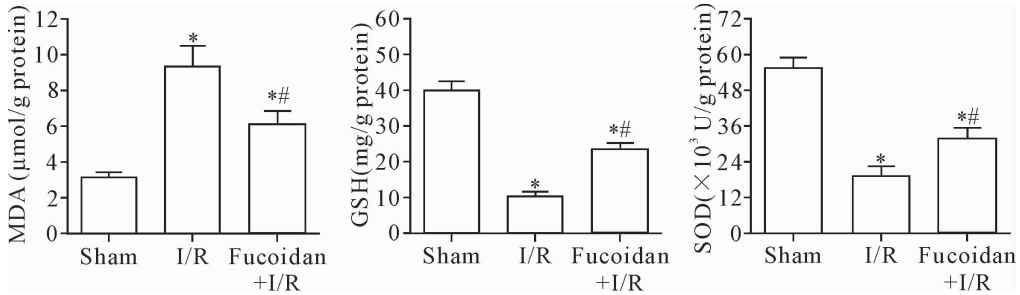


Figure 2. The effect of intraperitoneal injection of fucoidan on MDA, GSH content and SOD activity in intestinal mucosa of rats with intestinal ischemia-reperfusion injury. Mean ± SD. $n = 10$. * $P < 0.05$ vs sham group; # $P < 0.05$ vs I/R group.

图 2 腹腔注射褐藻糖胶对肠缺血再灌注损伤大鼠肠黏膜 MDA 和 GSH 含量及 SOD 活性的影响

4 腹腔注射褐藻糖胶对肠缺血再灌注损伤大鼠肠黏膜组织 MPO 活性的影响

MPO 作为中性粒细胞浸润的指标,其检测结果显示,与 sham 组相比,I/R 组大鼠肠黏膜组织 MPO 活性显著增加($P < 0.05$);与 I/R 组相比,褐藻糖胶预处理能显著降低肠黏膜组织 MPO 活性($P < 0.05$),但仍显著高于 sham 组($P < 0.05$),见图 3。

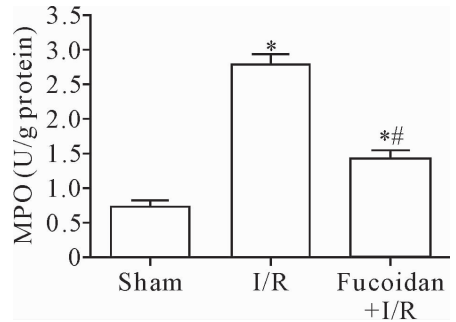


Figure 3. The effect of intraperitoneal injection of fucoidan on MPO activity in intestinal mucosa of rats with intestinal ischemia-reperfusion injury. Mean ± SD. $n = 10$.

* $P < 0.05$ vs sham group; # $P < 0.05$ vs I/R group.

图 3 腹腔注射褐藻糖胶对肠缺血再灌注损伤大鼠肠黏膜组织 MPO 活性的影响

5 腹腔注射褐藻糖胶对肠缺血再灌注损伤大鼠血清 TNF-α、IL-6 和 IL-1β 水平的影响

与 sham 组相比,I/R 组的炎性细胞因子 TNF-α、IL-6 和 IL-1β 水平明显升高($P < 0.05$),褐藻糖胶预处理能显著抑制 I/R 诱导的血清 TNF-α、IL-6 和 IL-1β 水平的升高($P < 0.05$),但仍高于 sham 组($P < 0.05$),见表 2。

表 2 腹腔注射褐藻糖胶对肠缺血再灌注损伤大鼠血清 TNF-α、IL-6 和 IL-1β 的水平的影响

Table 2. The effect of intraperitoneal injection of fucoidan on serum levels of TNF-α, IL-6 and IL-1β in rats with intestinal ischemia-reperfusion injury (ng/L. Mean ± SD. $n = 10$)

Group	TNF-α	IL-6	IL-1β
Sham	10.65 ± 1.60	8.72 ± 1.49	5.04 ± 0.41
I/R	55.77 ± 4.36*	49.14 ± 2.99*	38.70 ± 2.87*
Fucoidan + I/R	29.81 ± 2.33*#	21.75 ± 2.08*#	16.01 ± 1.34*#

* $P < 0.05$ vs sham group; # $P < 0.05$ vs I/R group.

6 腹腔注射褐藻糖胶对肠缺血再灌注损伤大鼠肠组织 Bax、Bcl-2 和 cleaved caspase-3 蛋白表达的影响

与 sham 组相比,I/R 组的 Bax 和 cleaved caspase-3 蛋白表达显著升高,Bcl-2 蛋白的表达显著降低($P < 0.05$),褐藻糖胶预处理能明显降低缺血再灌注后肠组织 Bax 和 cleaved caspase-3 蛋白的表达,升高 Bcl-2 蛋白的表达($P < 0.05$),但 Bax 和 cleaved caspase-3

蛋白表达仍高于 sham 组,Bcl-2 蛋白表达仍低于 sham 组($P < 0.05$),见图 4。

讨 论

肠缺血再灌注损伤是临床过程中的常见事件,常继发于肠绞窄、小肠移植和肠系膜血管缺血性疾病。I/R 诱导的肠黏膜损伤,可使肠黏膜通透性增加,继而引发内毒素血症、肠内细菌移位和大量炎症

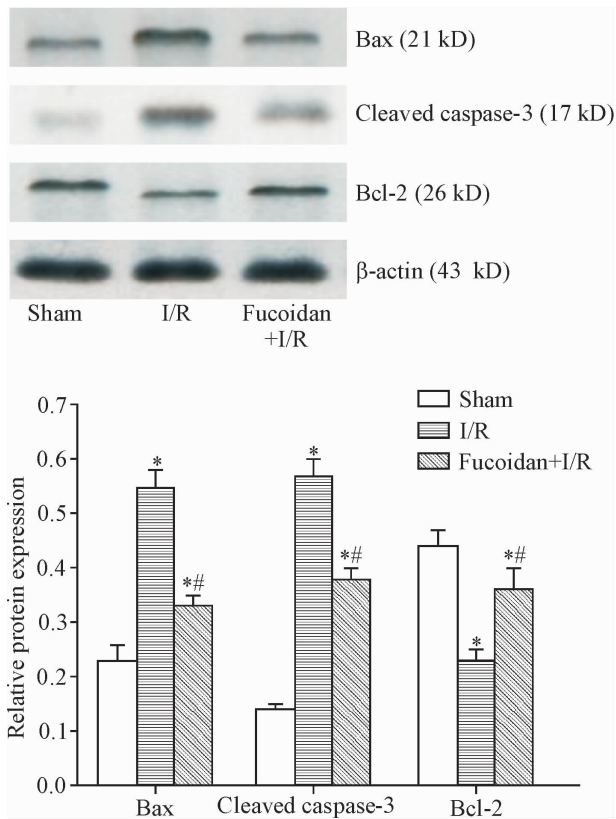


Figure 4. Effects of intraperitoneal injection of fucoidan on expression of Bax, Bcl-2 and cleaved caspase-3 protein in intestinal tissue of rats with intestinal ischemia-reperfusion injury. Mean \pm SD. $n = 10$. * $P < 0.05$ vs sham group; # $P < 0.05$ vs I/R group.

图4 腹腔注射褐藻糖胶对肠缺血再灌注损伤大鼠肠组织 Bax、Bcl-2 和 cleaved caspase-3 蛋白表达的影响

因子的释放,随之可诱导全身炎症反应综合征和多器官功能障碍综合征的发生。此外,氧自由基生成及脂质过氧化反应增强也是引起肠缺血再灌注损伤的重要病理生理机制^[9]。

DAO 是具有高度活性的细胞内酶,D-LA 是肠道内固有细菌代谢的产物之一,其活性变化可以反映肠黏膜通透性强弱,进而显示出肠屏障损伤程度^[10]。有文献报道,褐藻糖胶可减轻氧化应激诱导的肠道上皮细胞屏障损伤^[11],最新研究显示,在乳腺癌大鼠模型中,褐藻糖胶可通过促进 TJ 蛋白的表达,增强肠屏障功能^[3]。本实验结果显示,与假手术组相比,I/R 组大鼠血清 DAO 和 D-LA 水平明显升高,而 Fucoidan + I/R 组大鼠血清 DAO 及 D-LA 水平与 I/R 组相比显著降低。此外,与 I/R 组相比,Fucoidan + I/R 组大鼠肠黏膜组织损伤显著减轻,Chiu's 评分降低,提示褐藻糖胶可能具有肠黏膜细胞保护作用,这可能与减弱肠黏膜通透性相关。

肠缺血再灌注后大量氧自由基的释放是导致肠缺血再灌注损伤的重要因素之一。MDA 是脂质过氧

化反应的产物,其含量与自由基引起的细胞损伤程度呈正比^[12-13]。GSH 和 SOD 均为清除氧自由基的重要酶,其水平的高低反映了机体清除氧自由基的能力。研究显示,褐藻糖胶可抑制肝 I/R 损伤诱导的肝组织 MDA 水平^[6],褐藻糖胶可纠正脑 I/R 损伤诱导的 MDA 和 SOD 异常水平^[7]。本研究观察到,与 I/R 组相比,Fucoidan + I/R 组大鼠肠黏膜组织 MDA 含量显著降低,但 GSH 含量及 SOD 活性显著升高,提示褐藻糖胶能有效抑制肠缺血再灌注损伤后氧化应激反应,在肠缺血再灌注损伤中发挥着潜在抗氧化作用。

MPO 是嗜中性粒细胞颗粒的特征成分,可反映中性粒细胞浸润和激活的程度,进而反映炎症损伤程度^[14]。文献报道,在心脏和肾缺血再灌注损伤中,褐藻糖胶能显著抑制心脏和肾脏的 MPO 活性,还可抑制炎症细胞浸润、白细胞滚动和白细胞迁移^[5]。本研究结果显示,褐藻糖胶预处理的肠缺血再灌注大鼠,其肠组织 MPO 活性显著降低,提示褐藻糖胶可能通过抗炎作用减轻肠组织缺血再灌注损伤。

炎性细胞因子的大量产生是肠缺血再灌注损伤发展的重要病理机制,TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 是重要的促炎细胞因子,被认为是人体细胞炎症反应的分子标志物^[15]。近期研究表明^[16],在肠道炎症时,低分子量的褐藻糖胶可通过抑制 IL-1 β 和 TNF- α 的产生增强肠黏膜屏障。有文献报道^[17],低分子量的褐藻糖胶可抑制脂多糖诱导的小鼠单核巨噬细胞白血病细胞中的 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 蛋白的活性。本研究结果显示,I/R 组大鼠血清 TNF- α 、IL-6 以及 IL-1 β 的水平显著升高;褐藻糖胶预处理,可显著降低 I/R 损伤大鼠血清 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平,提示在肠缺血再灌注损伤中,褐藻糖胶可能通过抗炎效应发挥肠黏膜细胞保护作用。

细胞凋亡途径分外源性(死亡受体)、内源性(线粒体)和内质网凋亡 3 个途径。抗凋亡蛋白 Bcl-2 与促凋亡蛋白 Bax 是细胞内源性线粒体通路的重要调节因子;caspase-3 是凋亡途径中重要的凋亡执行因子,其水平的高低可反映细胞凋亡的程度^[18]。细胞凋亡是缺血再灌注损伤引起小肠绒毛上皮细胞死亡的主要形式^[19]。Gao 等^[20] 研究显示,褐藻糖胶可通过降低 Bax/Bcl-2 比率或降低 caspase-3 表达,进而抑制过氧化氢诱导的 PC12 细胞凋亡。本研究表明,与缺血再灌注组相比,褐藻糖胶组大鼠肠组织中 Bcl-2 蛋白表达显著升高,Bax 及 cleaved caspase-3 蛋白表达则显著表达降低,提示褐藻糖胶在肠缺血再灌注损伤中具有抗细胞凋亡的作用。

综上所述,褐藻糖胶可减轻肠缺血再灌注诱导的小肠组织损伤,其机制可能与减少中性粒细胞浸润、炎症因子释放,降低脂质过氧化反应、增强抗氧化酶活性以及抑制细胞凋亡有关。

[参 考 文 献]

- [1] 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.
- [2] Han MH, Lee DS, Jeong JW, et al. Fucoidan induces ROS-dependent apoptosis in 5637 human bladder cancer cells by downregulating telomerase activity via inactivation of the PI3K/Akt signaling pathway[J]. *Drug Dev Res*, 2017, 78(1):37-48.
- [3] Xue M, Ji X, Liang H, et al. The effect of fucoidan on intestinal flora and intestinal barrier function in rats with breast cancer[J]. *Food Funct*, 2018, 9(2):1214-1223.
- [4] Li C, Gao Y, Xing Y, et al. Fucoidan, a sulfated polysaccharide from brown algae, against myocardial ischemia-reperfusion injury in rats via regulating the inflammation response[J]. *Food Chem Toxicol*, 2011, 49(9):2090-2095.
- [5] Chen J, Wang W, Zhang Q, et al. Low molecular weight fucoidan against renal ischemia-reperfusion injury via inhibition of the MAPK signaling pathway [J]. *PLoS One*, 2013, 8(2):e56224.
- [6] Li XJ, Ye QF. Fucoidan reduces inflammatory response in a rat model of hepatic ischemia-reperfusion injury [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2015, 93(11):999-1005.
- [7] Che N, Ma Y, Xin Y. Protective role of fucoidan in cerebral ischemia-reperfusion injury through inhibition of MAPK signaling pathway [J]. *Biomol Ther (Seoul)*, 2017, 25(3):272-278.
- [8] Chiu CJ, McArdle AH, Brown R, et al. Intestinal mucosal lesion in low-flow states. I. A morphological, hemodynamic, and metabolic reappraisal[J]. *Arch Surg*, 1970, 101(4):478-483.
- [9] 叶志强,戴海涛,刘旭辉,等. 乳果糖预处理减轻大鼠肠缺血再灌注损伤的机制研究[J]. *中国病理生理杂志*, 2013, 29(5):918-922.
- [10] 王 慧,毛晶磊,吴艳敏,等. 真人养脏汤对溃疡性结肠炎大鼠屏障功能的保护作用[J]. *中国病理生理杂志*, 2017, 33(11):2053-2059.
- [11] Iraha A, Chinen H, Hokama A, et al. Fucoidan enhances intestinal barrier function by upregulating the expression of claudin-1 [J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 19(33):5500-5507.
- [12] Gutteridge JM, Halliwell B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems [J]. *Trends Biochem Sci*, 1990, 15(4):129-135.
- [13] 王爱丽,牛 琼,刘成霞,等. 谷氨酰胺对大鼠肠缺血再灌注损伤的作用[J]. *中国病理生理杂志*, 2014, 30(9):1703-1707.
- [14] Teke Z, Kabay B, Aytakin FO, et al. Pyrrolidine dithiocarbamate prevents 60 minutes of warm mesenteric ischemia/reperfusion injury in rats[J]. *Am J Surg*, 2007, 194(2):255-262.
- [15] Molmenti EP, Ziambaras T, Perlmutter DH. Evidence for an acute phase response in human intestinal epithelial cells [J]. *J Biol Chem*, 1993, 268(19):14116-14124.
- [16] Hwang PA, Phan NN, Lu WJ, et al. Low-molecular-weight fucoidan and high-stability fucoxanthin from brown seaweed exert prebiotics and anti-inflammatory activities in Caco-2 cells[J]. *Food Nutr Res*, 2016, 60:32033.
- [17] Kim KJ, Yoon KY, Lee BY. Low molecular weight fucoidan from the sporophyll of undaria pinnatifida suppresses inflammation by promoting the inhibition of mitogen-activated protein kinases and oxidative stress in RAW264.7 cells[J]. *Fitoterapia*, 2012, 83(8):1628-1635.
- [18] 卢根林,吴爱兵,王宏宾. 硫化氢对肠缺血再灌注损伤大鼠回肠上皮细胞凋亡的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2016, 32(1):124-128.
- [19] Ikeda H, Suzuki Y, Suzuki M, et al. Apoptosis is a major mode of cell death caused by ischaemia and ischaemia/reperfusion injury to the rat intestinal epithelium[J]. *Gut*, 1998, 42(4):530-537.
- [20] Gao Y, Dong C, Yin J, et al. Neuroprotective effect of fucoidan on H₂O₂-induced apoptosis in PC12 cells via activation of PI3K/Akt pathway [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2012, 32(4):523-529.

(责任编辑:林白霜,余小慧)