

基于线粒体自噬 PINK1/Parkin 信号通路的枳实、麸炒枳实和烫枳实对功能性消化不良大鼠治疗作用比较

刘 泽 张 硕 徐欣雨 赵瑞华 罗 容
(首都医科大学中医药学院, 北京 100069)

【摘要】目的 基于线粒体自噬 PINK1/Parkin 信号通路对比枳实、麸炒枳实和烫枳实对功能性消化不良 (FD) 大鼠的治疗作用。**方法** 将 36 只大鼠随机分为正常组、模型组、多潘立酮组、枳实组、麸炒枳实组、烫枳实组。除正常组外其他各组采用碘乙酰胺灌胃结合夹尾刺激法制作 FD 大鼠模型。造模结束后各给药组给予相应药液灌胃, 模型组和正常组给予等体积生理盐水灌胃, 持续 14 d。造模和给药时, 记录大鼠饮水量、饮水量和体质量。给药结束后, 测定大鼠小肠推进率, 苏木-伊红 (HE) 染色观察胃组织损伤情况, Western blot 检测自噬相关蛋白 PINK1、Parkin、Beclin-1、p62 的表达。**结果** 与模型组比较, 各给药组小肠推进率提高。在造模期间, 与正常组比较, 各组大鼠的体质量增长减慢, 平均日饮水量降低, 模型组大鼠平均日饮水量降低。在给药期间, 与模型组比较, 多潘立酮组、麸炒枳实组和烫枳实组平均日饮水量增加; 与模型组比较, 麸炒枳实组 PINK1、Parkin 蛋白表达增加, 烫枳实组 p62 蛋白表达提高、Beclin-1 蛋白表达降低, 枳实组 Beclin-1 蛋白表达降低。**结论** 枳实、麸炒枳实和烫枳实治疗 FD 的作用机制可能与抑制 PINK1/Parkin 信号通路激活有关, 麸炒枳实对 FD 大鼠的治疗效果优于枳实和烫枳实。

【关键词】 枳实; 麸炒枳实; 烫枳实; 功能性消化不良; 线粒体自噬; PINK1/Parkin 信号通路

DOI: 10.16025/j.1674-1307.2024.08.007

枳实来源于芸香科植物酸橙及其栽培变种或甜橙的干燥幼果, 具有破气消积、化痰散痞的功效^[1]。药理学研究^[2-3]证实其对胃肠道运动有促进作用。枳实其“性酷而效速”, 麸炒后的主要目的为缓和药力, 降其酷性, 取其宽中下气之功效^[4]。北京等地用的小枳实又称鹅眼枳实, 其性尤酷, 且质地坚硬不易粉碎, 因此多采用砂烫法炮制^[4]。在北京地区, 麸炒枳实和烫枳实临床上均有应用, 但烫枳实的作用机制尚未明确, 尚未有研究对比麸炒枳实和烫枳实的药理作用。

本研究依据 2020 年版《中华人民共和国药典》(以下简称《药典》) 炮制麸炒枳实, 据 2008 年版《北京市中药饮片炮制规范》(以下简称《规范》) 炮制烫枳实。分别采用枳实、麸炒枳实和烫枳实

干预功能性消化不良 (functional dyspepsia, FD) 大鼠模型, 观察其对 FD 大鼠饮食饮水量、体质量、肠推进率、胃组织 HE 染色、自噬相关蛋白表达的影响, 以期从线粒体自噬角度揭示枳实治疗 FD 的作用机制, 并比较麸炒枳实和烫枳实对 FD 的治疗效果, 进而为麸炒枳实和烫枳实的临床区别使用提供依据。

1 实验材料

1.1 实验动物

SPF 级 SD 雄性乳鼠 36 只, 体质量 15 ~ 20 g, 10 日龄, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 动物许可证号 SCXK (京) 2021-0011。饲养于首都医科大学实验动物中心屏障环境内, 室温 22 ~ 24℃, 相对湿度 55% ~ 60%, 每日光照 12 h, 普通饲料, 自

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81973431); 北京中医药薪火传承“新 3+3”工程首批代表性成果项目 (2023-DBXCG-05)

作者简介: 刘泽, 女, 24 岁, 硕士研究生。研究方向: 中药材及饮片质量评价。

通信作者: 罗容, E-mail: luorong@ccmu.edu.cn

引用格式: 刘泽, 张硕, 徐欣雨, 等. 基于线粒体自噬 PINK1/Parkin 信号通路的枳实、麸炒枳实和烫枳实对功能性消化不良大鼠治疗作用比较[J]. 北京中医药, 2024, 43(8): 880-885.

由摄食水。动物实验符合首都医科大学伦理委员会的标准,动物实验伦理编号 AEEI-2020-132。

1.2 实验药物

研究所用枳实均购于安徽亳州药材市场,由首都医科大学中医药学院罗容副教授鉴定为芸香科植物酸橙的干燥幼果。麸炒枳实依据《药典》要求进行麸炒,烫枳实依据《规范》要求进行砂烫。麸炒枳实和烫枳实炮制原料与本研究中所用枳实药材样品为同一批次。

1.3 实验试剂

线粒体提取试剂盒(北京索莱宝科技有限公司, 202111223), 蛋白质常规分子量标记(Proteintech, PL00001), 兔源 SQSTM1/p62 一抗(美国 Immunoway 公司, YT7058), 兔源 PINK1 (PTEN induced putative kinase 1, PINK1) 一抗(美国 Immunoway 公司, YN2037), 兔源 Beclin-1 一抗(美国 Cell Signaling Technology 公司, 3738), 兔源 Parkin 一抗(美国 Cell Signaling Technology 公司, 2132s), 鼠源 GAPDH 一抗(武汉三鹰生物技术有限公司, 60004-1-Ig), 脱脂奶粉(普利莱基因技术有限公司, P1622), 碘乙酰胺(美国 SIGMA 公司, I1149), 蔗糖(上海麦克林生化科技有限公司, S818046), 羧甲基纤维素钠(天津市永大化学试剂有限公司, 20161125), 活性炭(上海麦克林生化科技有限公司, C11161171), 雀巢营养奶粉(双城雀巢有限公司, 20200428), 古沃玉米淀粉(河北川达食品有限公司, 20200511), PBS 磷酸盐缓冲液(北京索莱宝科技有限公司, P1010), 戊巴比妥钠(上海化学试剂总厂试剂二厂, 801209), 多聚甲醛(上海易恩化学技术有限公司, 30525-89-4), 多潘立酮(西安杨森制药有限公司, 160907179), 氯化钠(上海麦克林生化科技有限公司, C11670262), 兔源二抗 HRP-IgG (H+L)(武汉三鹰生物技术有限公司, SA00001-2), 鼠源二抗 HRP-IgG (H+L)(武汉三鹰生物技术有限公司, SA00001-1)。

1.4 实验仪器

小型台式离心机(美国 SIGMA 公司, 1-14K), 玻璃匀浆器(北京索莱宝科技有限公司, YA0856), 多功能成像系统(法国 VILBER 公司, FUSION FX Spectra), 电泳仪(美国 BIO-RAD 公司, 1658004); 电转仪(美国 BIO-RAD 公司, 1703930)。

2 实验方法

2.1 枳实、麸炒枳实和烫枳实的制备

《药典》中规定的麸炒枳实的炮制方法为“将炒制容器加热,至撒入麸皮麸下烟起时投入枳实片,待炒至枳实片两面颜色呈黄色或深黄色时,取出,筛去麸皮,晾凉”。《规范》中规定的对烫枳实的炮制方法为“取河砂,置热锅内,用武火 180~220℃炒制灵活状态,加入净枳实,烫至表面鼓起,稍有裂隙时取出,筛去河砂,晾凉”。分别称取枳实、麸炒枳实和烫枳实样品粉末(过 65 目筛)约 25 g,加入 6~8 倍蒸馏水,回流提取 1 h,过滤,滤渣再加入 6~8 倍蒸馏水,回流提取 1 h,2 次滤液合并倒入蒸发皿中浓缩,用蒸馏水定容至 125 mL,得 0.2 g/mL 的枳实、麸炒枳实和烫枳实水提液。

2.2 动物造模与分组

将 10 日龄雄性乳鼠(母鼠母乳喂养)按照随机数字表法分为正常组、模型组、多潘立酮组、枳实组、麸炒枳实组和烫枳实组,每组 6 只。正常组给予 2% 蔗糖水溶液灌胃,0.2 mL/只;其他 5 组给予含 0.1% 碘乙酰胺与 2% 蔗糖的混合水溶液灌胃,0.2 mL/只。均 1 次/d,持续 6 d。乳鼠 21 日龄时剔除母鼠。乳鼠 42 日龄时,造模大鼠隔日进食,并给予夹尾刺激^[5],即用长海绵钳夹在鼠尾远端 1/3 处,0.5 h 内对大鼠进行连续不断刺激,10 次/min,2 次/d,持续 14 d。在造模期间,模型组大鼠与正常组大鼠相比,大鼠体质量增长明显降低、日进食量降低、日饮水量降低,小肠推进率明显降低,胃组织无明显病理形态学上的改变,且模型组大鼠无死亡,表明 FD 大鼠造模成功。

2.3 给药方法

根据《药典》人用最大剂量 10 g,按照等效剂量折算系数法^[6]进行换算,枳实、麸炒枳实、烫枳实的动物给药剂量为 0.104 g/(100 g·d)。乳鼠 56 日龄时,多潘立酮组的动物给药剂量为 0.3125 mg/(100 g·d),枳实组给予枳实药液 2.5 mL 灌胃,麸炒枳实组给予麸炒枳实药液 2.5 mL 灌胃,烫枳实组给予烫枳实药液 2.5 mL 灌胃,多潘立酮组给予多潘立酮药液 2.5 mL 灌胃,模型组和正常组给予等体积生理盐水灌胃,持续 14 d。

2.4 观察指标与方法

2.4.1 一般行为学指标:记录大鼠造模期间和给药期间体质量、日进食量、日饮水量。

2.4.2 小肠推进率：大鼠禁食不禁水 24 h 后，每只大鼠约灌胃 2 mL 碳糊。暴露大鼠腹腔，结扎胃贲门和幽门，分离肠系膜，以胃的幽门为起点，回盲部为终点剪取肠管，铺平，测量记录小肠全长，并测量自幽门开始，碳糊在肠管内移行的距离，根据公式计算小肠推进率^[7]。小肠推进率=半固体糊在肠管内移行的距离/小肠全长×100%。

碳糊制备方法：将羧甲基纤维素钠 10 g、奶粉 16 g、糖 8 g、淀粉 8 g、活性炭粉 2 g 加入到 250 mL 水中，配成约为 300 mL 的黑色半固体糊。

2.4.3 胃组织病理变化：大鼠麻醉后立即取出胃组织，并沿胃大弯剪开。将胃组织用生理盐水漂洗干净，用滤纸吸干水分，取约 1/3 的胃组织于 4% 多聚甲醛中固定，石蜡包埋切片，HE 染色，用全自动切片扫描仪观察大鼠胃组织病理学变化^[8]。

2.4.4 胃组织胞质 PINK1、Parkin、Beclin-1、p62 蛋白表达：采用 Western blotting 法进行检测。按照线粒体提取试剂盒说明书提取大鼠胃组织胞质蛋白，BCA 法测定蛋白浓度，10% SDS-PAGE 电泳，80 V 分离 30 min，120 V 分离 60 min；湿转法转膜（300 mA，45 min）；5% 脱脂牛奶室温摇床封闭 2 h；TBST 缓冲液洗膜 3 次，5 min/次；将膜放入含一抗 PINK1、Parkin、Beclin-1、p62 和 GAPDH 的平皿中（用一抗稀释液稀释至 1：1 000），4℃ 冰箱孵育过夜；次日用 TBST 稀释二抗 1：5 000，将膜放入含有二抗的平皿中室温孵育 1 h，TBST 缓冲液洗膜 3 次，5 min/次；ECL 超敏液进行显影，用 Image J 软件分析条带灰度值。目的蛋白相对表达量=目的蛋白灰度值/对应内参蛋白灰度值。

2.5 统计学方法

采用 SPSS 26.0 统计软件进行数据分析，

GraphPad Prism9.3.1 软件作图。符合正态分布的计量资料用均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，多组间比较采用单因素方差分析，两两比较采用 LSD 法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组体质量比较

造模第 1~14 天：与正常组比较，其他各组大鼠体质量低 ($P < 0.01$)；各给药组体质量比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。给药第 1~14 天：与正常组比较，各给药组大鼠体质量高 ($P < 0.01$)；与模型组比较，多潘立酮组大鼠体质量高 ($P < 0.05$)；各给药组之间体质量比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 各组体质量比较 ($\bar{g}, \bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	造模第 1~14 天	给药第 1~14 天
正常组	6	138.80±11.99	120.75±18.48
模型组	6	17.60±5.43*	138.11±19.58
多潘立酮组	6	24.80±15.90*	160.60±26.69* [△]
枳实组	6	30.93±25.78*	144.03±15.69*
麸炒枳实组	6	16.20±3.73*	158.82±12.57*
烫枳实组	6	13.37±2.52*	157.00±9.76*

与正常组比较，* $P < 0.01$ ；与模型组比较， $\Delta P < 0.05$

3.2 各组日饮食量、日饮水量比较

造模第 1~14 天：与正常组比较，各组日饮食量低 ($P < 0.05$)，模型组日饮水量低 ($P < 0.01$)。给药第 1~14 天：与正常组比较，各组日饮食量低 ($P < 0.01$)；与模型组比较，多潘立酮组、麸炒枳实组、烫枳实组日饮食量高 ($P < 0.05$)，多潘立酮组和枳实组日饮水量高 ($P < 0.05$)；与麸炒枳实组比较，枳实组和烫枳实组日饮食量低 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 各组日饮食量、日饮水量比较 ($\bar{g}, \bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	日饮食量		日饮水量	
		造模第 1~14 天	给药第 1~14 天	造模第 1~14 天	给药第 1~14 天
正常组	6	29.96±0.22	59.52±0.71	42.74±2.76	45.05±1.22
模型组	6	18.40±0.31*	30.31±0.70*	32.73±0.67*	39.34±0.03
多潘立酮组	6	19.52±1.04*	34.14±0.06* [△]	40.21±2.21	55.10±0.18 [△]
枳实组	6	18.22±0.19*	31.03±1.57* [#]	40.48±7.11	56.00±13.92 [△]
麸炒枳实组	6	17.59±0.56*	35.39±1.21* [△]	36.30±4.28	51.83±4.43
烫枳实组	6	18.91±0.18*	32.82±0.40* ^{△#}	39.65±1.19	52.47±0.78

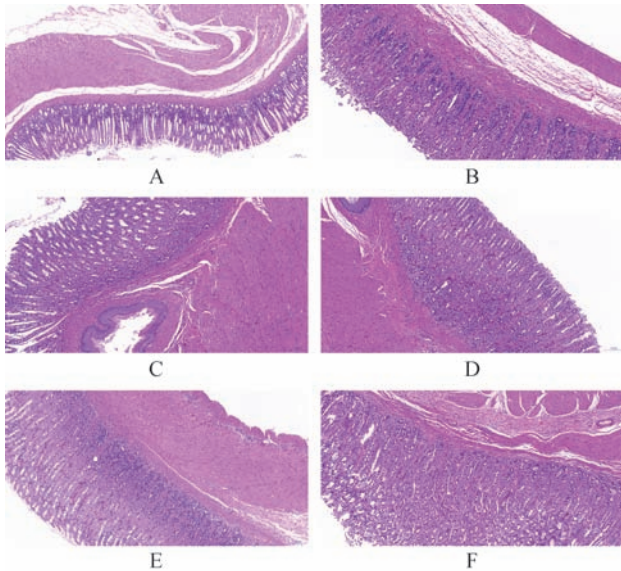
与正常组比较，* $P < 0.05$ ；与模型组比较， $\Delta P < 0.05$ ；与麸炒枳实组比较， $\# P < 0.05$

3.3 各组小肠推进率比较

正常组、模型组、多潘立酮组、枳实组、麸炒枳实组、烫枳实组小肠推进率分别为 $(76.17 \pm 6.05)\%$ 、 $(49.00 \pm 4.05)\%$ 、 $(62.83 \pm 11.63)\%$ 、 $(71.50 \pm 8.22)\%$ 、 $(73.00 \pm 3.10)\%$ 、 $(71.17 \pm 4.36)\%$ 。与正常组比较,模型组小肠推进率低 ($P < 0.01$);与模型组比较,各给药组小肠推进率高 ($P < 0.01$)。各给药组小肠推进率比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3.4 各组胃组织病理学变化比较

HE 染色结果显示各组大鼠胃组织形态完整,层次清晰,腺体排列整齐,无炎症细胞浸润等病理变化。见图 1。

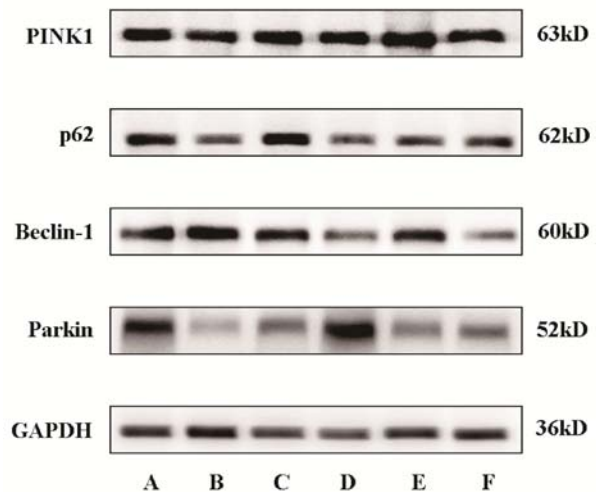


A 为正常组;B 为模型组;C 为多潘立酮组;D 为枳实组;
E 为麸炒枳实组;F 为烫枳实组

图 1 各组胃组织病理学变化(HE 染色,100×)

3.5 各组胃组织胞质 PINK1、Parkin、Beclin-1、p62 蛋白表达比较

与正常组比较,模型组胃组织胞质 PINK1、Parkin、p62 蛋白表达低 ($P < 0.05$),Beclin-1 蛋白表达高 ($P < 0.05$);与模型组比较,麸炒枳实组 PINK1、Parkin 蛋白表达高 ($P < 0.05$),烫枳实组 p62 蛋白表达高 ($P < 0.05$)、Beclin-1 蛋白表达低 ($P < 0.05$),多潘立酮组 p62 蛋白表达高 ($P < 0.05$),枳实组 Beclin-1 蛋白表达低 ($P < 0.05$);与麸炒枳实组比较,枳实组、烫枳实组 PINK1 蛋白表达低 ($P < 0.05$)。见图 2,表 3。



A 为正常组;B 为模型组;C 为多潘立酮组;D 为枳实组;
E 为麸炒枳实组;F 为烫枳实组

图 2 各组大鼠胃组织胞质 PINK1、Parkin、Beclin-1、p62 蛋白表达 Western blotting 检测结果

表 3 各组胃组织胞质 PINK1、Parkin、Beclin-1、p62 蛋白表达比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	PINK1	Parkin	p62	Beclin-1
正常组	3	1.00±0.22	0.94±0.09	0.95±0.07	0.66±0.25
模型组	3	0.53±0.31*	0.39±0.23*	0.52±0.26*	1.44±0.34*
多潘立酮组	3	0.91±0.31	0.70±0.24	1.46±0.11* [△]	0.93±0.18
枳实组	3	0.92±0.12 [#]	1.18±0.30 ^{△▲}	0.88±0.15 [▲]	0.82±0.54 [△]
麸炒枳实组	3	1.47±0.20* ^{△▲}	0.92±0.34 [△]	0.80±0.30 [▲]	1.00±0.39
烫枳实组	3	0.78±0.14 [#]	0.72±0.35	0.96±0.29 ^{△▲}	0.43±0.15 [#]

与正常组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$;与麸炒枳实组比较, $\#P < 0.05$;与多潘立酮组比较, $\blacktriangle P < 0.05$

4 讨论

FD 是胃和十二指肠非器质性病变引起的功能性胃肠病,主要临床表现为上腹痛和进餐障碍等^[9]。其发病机制与胃肠道运动障碍、内脏敏感

性增加、脑肠轴功能紊乱、相关激素水平异常、社会心理等因素有关^[10-12]。目前,研究认为胃肠道运动障碍是 FD 的主要发病机制^[13]。与正常大鼠比较,FD 模型大鼠胃组织中线粒体膜电位下调、

ATP 的含量明显降低、ROS 含量升高, 胃肠 Cajal 间质细胞 (Interstitial cells of Cajal, ICCs) 结构和数量异常、ICCs 内出现大量自噬体, 自噬相关蛋白表达发生变化^[13-17], 提示调控线粒体自噬可能是药物治疗 FD 的作用机制之一。

PINK1/Parkin 信号通路是线粒体自噬的一条经典途径^[18]。PINK1 是一种定位于线粒体上的激酶^[19], Parkin 是一种存在于胞质中的 E3 泛素连接酶^[20]。在线粒体发生去极化或折叠蛋白发生错误时, PINK1 从细胞质迁移至线粒体外膜上, 同时会招募 Parkin 迁移到线粒体外膜^[21]。此过程中部分蛋白的泛素化可招募自噬调节蛋白 p62 到线粒体中^[22], 激活自噬相关信号通路并启动自噬^[23]。Beclin-1 是第一个被发现的与自噬相关的关键性蛋白, 与自噬增强呈正相关性^[18-19]。本研究结果表明, 与正常组比较, 模型组大鼠胃组织胞质中 PINK1、Parkin、p62 蛋白表达低, Beclin-1 蛋白表达高, 表明 FD 大鼠胃组织中 PINK1/Parkin 信号通路被激活, 启动自噬, 与文献^[19]报道一致。与模型组比较, 麸炒枳实组 PINK1、Parkin 蛋白表达高, 烫枳实组 p62 蛋白表达高、Beclin-1 蛋白表达低, 枳实组 Beclin-1 蛋白表达低。表明枳实、麸炒枳实和烫枳实均可通过抑制 PINK1/Parkin 信号通路相关蛋白表达进而调节 FD 大鼠线粒体自噬。其中, 麸炒枳实可更多地通过抑制 PINK1/Parkin 信号通路中的上游蛋白表达发挥治疗作用, 烫枳实则通过抑制 PINK1/Parkin 信号通路中的下游蛋白表达发挥治疗作用, 枳实仅对自噬的关键性蛋白具有调节作用。与枳实比较, 麸炒枳实和烫枳实的调控作用更好。线粒体内其他蛋白和其余的自噬关键蛋白的表达尚待进一步研究。

本研究基于线粒体自噬介导的 PINK1/Parkin 信号通路, 探讨枳实、麸炒枳实和烫枳实对 FD 大鼠的治疗作用。结果表明, 枳实、麸炒枳实和烫枳实均可通过抑制 PINK1/Parkin 信号通路进而调节 FD 大鼠线粒体自噬水平, 并通过促进 FD 大鼠的肠推进率、进食和体质量增长对 FD 大鼠产生治疗作用; 且与枳实和烫枳实比较, 麸炒枳实对 FD 大鼠以上指标改善作用更优。基于此, 笔者建议对于体质量减轻较多并伴有肠蠕动缓慢症状的 FD 患者, 可优先考虑选用麸炒枳实。

本研究结果显示, 麸炒枳实更多地通过抑制 PINK1/Parkin 信号通路中的上游蛋白发挥治疗作

用, 烫枳实更多地通过抑制 PINK1/Parkin 信号通路中的下游蛋白发挥治疗作用。因此, 可考虑在临床将麸炒枳实与烫枳实合用, 能够多靶点发挥治疗作用, 也许能够提高疗效。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020:258.
- [2] 樊玉青, 张婷兰, 刘艳, 等. 枳实及其有效成分柚皮苷预防术后肠粘连的作用机制分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(24):50-57.
- [3] 辛丹, 崔爱灵, 张亚楠, 等. 枳实-白芍对 C-IBS 大鼠血清胃肠神经递质的影响[J]. 山东中医药大学学报, 2022, 46(3):373-378.
- [4] 张炳鑫. 中药炮制品古今演变评述[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011:438.
- [5] 郭海军, 林洁, 李国成, 等. 功能性消化不良的动物模型研究[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2001, 9(3):141-142.
- [6] 李永吉, 彭代银. 高等学校中药学类专业实验操作指南[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2017:87.
- [7] 祝婧, 钟凌云, 叶喜德, 等. 枳壳不同炮制品的燥性比较及其对功能性消化不良大鼠胃肠功能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(22):20-26.
- [8] 李娟娟, 王凤云, 吕林, 等. 香砂六君子汤对功能性消化不良脾虚证大鼠胃动力及 CRF、UCN2 表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(3):1-7.
- [9] NI HM, WILLIAMS JA, DING WX. Mitochondrial dynamics and mitochondrial quality control[J]. Redox Biology, 2015, 4:6-13.
- [10] 赵静怡, 郑金粟, 曹锐. 肝郁脾虚型功能性消化不良中医病证结合模型的研究进展[J]. 北京中医药, 2023, 42(10):1156-1160.
- [11] 王治铭, 伍丽萍, 孙晓滨, 等. 功能性消化不良发病机制研究进展[J]. 医学研究杂志, 2021, 50(6):161-164.
- [12] 常雄飞, 沈凌宇, 张立宏, 等. 健脾理气方改善功能性消化不良大鼠十二指肠微炎症的作用机制[J]. 北京中医药, 2022, 41(9):978-982.
- [13] FORD AC, MAHADEVA S, CARBONE MF, et al. Functional dyspepsia[J]. Lancet (London, England), 2020, 396(10263):1689-1702.
- [14] 王香香, 王煜姣, 李莉, 等. 基于线粒体自噬及 Pink1/Parkin 信号通路探讨柴胡疏肝散治疗功能性消化不良大鼠的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(2):45-51.
- [15] ZHANG J, WANG X, WANG F, et al. Xiangsha Liujunzi Decoction improves gastrointestinal motility in functional dyspepsia with spleen deficiency syndrome by restoring

- mitochondrial quality control homeostasis[J]. *Phytomedicine*, 2022,105:154374.
- [16] 曾丽君,凌江红,邓静,等. 柴胡疏肝散对功能性消化不良大鼠胃窦肌间Cajal间质细胞自噬的影响[J]. *时珍国医国药*, 2017,28(5):1041-1044.
- [17] 李莉,贾庆玲,王煜姣,等. 柴胡疏肝散对功能性消化不良大鼠胃组织线粒体功能及线粒体自噬的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021,27(23):26-34.
- [18] 张静,张宇,唐露露,等. 基于Pink1/Parkin通路探讨肝豆汤对Wilson病TX模型小鼠的线粒体自噬的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022,28(12):111-118.
- [19] VALENTE E M, ABOU-SLEIMAN PM, CAPUTO V, et al. Hereditary early-onset Parkinson's disease caused by mutations in PINK1[J]. *Science*, 2004,304(5674):1158-1160.
- [20] SHIMURA H, HATTORI N, KUBO S, et al. Immunohistochemical and subcellular localization of Parkin protein: absence of protein in autosomal recessive juvenile parkinsonism patients[J]. *Ann Neurol*, 1999,45(5):668-672.
- [21] RAO JS, ZHANG H, KOBETZ E, et al. Predicting DNA methylation from genetic data lacking racial diversity using shared classified random effects[J]. *Genomics*, 2021,113(1 Pt 2):1018-1028.
- [22] 张智豪. Bcl-2、Bad蛋白通过PINK1/Parkin通路介导的线粒体自噬在脂多糖诱导急性肺损伤的调节机制[D]. 南京:南方医科大学, 2020.
- [23] WANG JH, BEHRNS KE, LEEUWENBURGH C, et al. Critical role of autophagy in ischemia/reperfusion injury to aged livers[J]. *Autophagy*, 2012,8(1):140-141.

Comparison of therapeutic effects of Fructus Aurantii Immaturus, Bran stir-fried and Sand-heated Fructus Aurantii Immaturus on functional dyspepsia rats based on mitophagy PINK1 / Parkin signaling pathway

LIU Ze, ZHANG Shuo, XU Xinyu, ZHAO Ruihua, LUO Rong

(School of Chinese Medicine, Capital Medical University, Beijing 100069, China)

ABSTRACT Objective To investigate the therapeutic effects of Aurantii Fructus Immaturus (AFI), bran stir-fried Aurantii Fructus Immaturus and sand-heated Aurantii Fructus Immaturus on functional dyspepsia based on the mitophagy PINK1 / Parkin signaling pathway. **Methods** 36 rats were randomly divided into normal group, model group, domperidone group, AFI group, bran stir-fried AFI group and sand-heated AFI group. In addition to the normal group, the FD rat model was made by iodoacetamide gavage combined with tail clamp stimulation in other groups. After the end of modeling, each drug group was given the corresponding liquid medicine by gavage, while the model group and the normal group were given the same volume of normal saline by gavage for 14 days. During modeling and administration, the diet, water intake and body weight of rats were recorded. After the end of administration, the intestinal propulsion rate of rats was measured. The damage of gastric tissue was observed by HE staining. The expression of autophagy-related proteins PINK1, Parkin, Beclin-1 and p62 were detected by Western blot. **Results** Compared with the model group, the intestinal propulsion rate of each administration group were increased. During the modeling period, compared with the normal group, the weight gain of rats in each group were slowed down, the average daily diet decreased, and the average daily water intake of rats in the model group decreased. During the administration period, compared with the model group, the average daily diet of the domperidone group, the bran stir-fried AFI group and the scalded AFI group increased. Compared with the model group, the expression of PINK1 and Parkin protein increased in the bran stir-fried AFI group, the expression of p62 protein were increased and the expression of Beclin-1 protein decreased in the sand-heated AFI group, and the expression of Beclin-1 protein decreased in the AFI group. **Conclusion** The mechanism of AFI, bran stir-fried AFI and sand-heated AFI in the treatment of functional dyspepsia may be related to the inhibition of PINK1 / Parkin signaling pathway. Bran stir-fried AFI has a better therapeutic effect on functional dyspepsia rats.

Keywords Aurantii Fructus Immaturus; bran stir-fried Aurantii Fructus Immaturus; sand-heated Aurantii Fructus Immaturus; functional dyspepsia; mitochondrial autophagy; PINK1 / Parkin signaling pathway

(收稿日期:2023-12-20)