

莲心碱对 LPS 诱导小鼠急性肺损伤的保护作用

陈朝阳,姚茹,王璐,王晨阳,郭民,宋国华,张锐虎*

(山西医科大学实验动物中心;实验动物与人类疾病动物模型山西省重点实验室,太原 030001)

【摘要】 目的 探讨莲心碱对脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的小鼠急性肺损伤(ALI)的作用。**方法** BALB/c小鼠随机分为对照组、LPS组、LPS+莲心碱(2、4、8 mg/kg)组、地塞米松(5 mg/kg)组,鼻腔滴入法建立LPS诱导的急性肺损伤模型。12 h后,组织学观察肺组织的病理学变化;ELISA检测肺泡灌洗液(BALF)中TNF- α 、IL-6和IL-1 β 的含量;Wright-Giemsa染色检测BALF中中性粒细胞数;BCA法检测总蛋白含量;Evans blue检测肺毛细血管通透性;分光光度法检测肺匀浆上清中MPO的活性、MDA的含量、SOD的活性、GSH的含量;流式细胞术检测肺组织中ROS的含量。**结果** LPS组可见肺组织具有炎症细胞浸润、支气管肺泡壁增厚和肺充血现象,而莲心碱组可以改善肺损伤情况;LPS组BALF中TNF- α 、IL-6、IL-1 β 的含量明显增加、中性粒细胞数和总蛋白量显著增多,肺毛细血管通透性、MPO活性和MDA含量增加,SOD活性和GSH含量降低,ROS含量增加,而莲心碱组能够降低BALF中TNF- α 、IL-6、IL-1 β 的含量,减少中性粒细胞数和总蛋白量,降低肺毛细血管通透性,降低MPO活性和MDA含量,增加SOD活性和GSH含量,降低ROS的含量。**结论** 莲心碱可通过抗炎抗氧化作用保护LPS诱导的小鼠急性肺损伤。

【关键词】 莲心碱;脂多糖;急性肺损伤;促炎细胞因子;活性氧自由基

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2018) 03-0343-06

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2018.03.012

Protective effect of Liensinine on lipopolysaccharide (LPS)-induced acute lung injury in mice

CHEN Zhaoyang, YAO Ru, WANG Lu, WANG Chenyang, GUO Min, SONG Guohua, ZHANG Ruihu*

(Laboratory Animal Research Center of Shanxi Medical University, Shanxi Key Laboratory of Laboratory Animal and Animal Models of Human Diseases, Taiyuan 030001, China)

Corresponding author: ZHANG Ruihu. E-mail: 337119092@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate the effect of Liensinine on lipopolysaccharide (LPS)-induced acute lung injury (ALI) in mice. **Methods** BALB/c mice were randomly divided into six groups: control group, LPS group, LPS + Liensinine (2 mg/kg, 4 mg/kg, 8 mg/kg) groups, and dexamethasone group. Acute lung injury in mice was induced by nasal instillation of LPS. After 12 h, the pathological changes of lung tissue were observed. The levels of TNF- α , IL-6 and IL-1 β in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were detected by ELISA. The number of neutrophils in BALF was detected using Wright-Giemsa staining. Total protein content was detected by BCA protein quantification assay. The pulmonary capillary permeability was examined with Evans blue. The MPO activity, MDA content, SOD activity, and GSH content in lung homogenate supernatant were detected by spectrophotometry. The content of ROS in lung tissue was detected by flow cytometry. **Results** The LPS group showed inflammatory cell infiltration, thickening of bronchial alveolar wall and pulmonary congestion in the lung tissue, while Liensinine improved the lung injury. In the LPS group, the contents of TNF-

[基金项目] 山西省实验动物专项(No. 2015K02)。

Funded by Laboratory Animals Science Project of Shanxi Province(No. 2015K02).

[作者简介] 陈朝阳(1972—),男,副教授,研究方向:人类疾病动物模型。Email: ccytycn@163.com

[通信作者] 张锐虎(1978—),实验师,研究方向:人类疾病动物模型。Email: 337119092@qq.com

α , IL-6 and IL-1 β in BALF were significantly increased, the number of neutrophils and the content of total protein were significantly increased, pulmonary capillary permeability, MPO activity and MDA content were increased, SOD activity and GSH content were decreased, the content of ROS was increased; while the Liensinine group reduced the contents of TNF- α , IL-6, IL-1 β in BALF, reduced the number of neutrophils and total protein content, decreased the pulmonary capillary permeability, attenuated MPO activity and MDA contents and increased SOD activity and GSH content, and reduced ROS content in the LPS-challenged lung tissue. **Conclusions** Liensinine protects mice from LPS-induced acute lung injury by its anti-inflammatory and anti-oxidative activities.

【Key words】 liensinine; lipopolysaccharide; acute lung injury; pro-inflammatory; reactive oxygen species

Conflict of interest statement: We declare that we have no conflict of interest statement.

急性肺损伤(acute lung injury, ALI)是各种因素导致的肺泡上皮细胞及毛细血管内皮细胞损伤,造成以肺实质弥漫性炎症为特征的呼吸疾病^[1]。研究报道,炎症介质和氧化应激介导的肺组织损伤是 ALI 发病的主要机制^[2]。脂多糖(lipopolysaccharide, LPS),是革兰阴性细菌细胞壁的成分,也是细菌内毒素的主要成分,能够激活单核吞噬细胞系统,促使促炎性细胞因子如肿瘤坏死因子(TNF- α)、白细胞介素 6(IL-6)、白细胞介素 1 β (IL-1 β)的释放,激活中性粒细胞,产生髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)和炎症介质氧自由基,导致肺组织发生炎症反应和氧化应激^[3-4]。活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)产生过多,可抑制氧自由基清除剂超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、还原型谷胱甘肽(glutathione, GSH)等酶的活性,损伤肺组织造成 ALI 的发生^[5]。因此,寻求抑制氧化和炎症靶点的药物对 ALI 防治具有重要作用。

莲心碱(liensinine, LIE),是从中草药莲子心中提取的一种双苄基四氢异喹啉类生物碱^[6]。余万桂等^[7-8]研究了莲心碱对大鼠脑缺血再灌注的影响,发现莲心碱能够改善脑神经功能障碍,缩小脑梗死面积,增强抗氧化酶 SOD、GSH 的活性,减少炎症因子 TNF- α 的表达,由此可推测莲心碱可能既具有抗氧化又具有抗炎症的作用。因此,本研究通过建立 LPS 诱导的急性肺损伤模型,探讨莲心碱对 ALI 的抗炎、抗氧化保护作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

6~8 周 SPF 雄性 BALB/c 小鼠 72 只,20~22 g,由山西医科大学实验动物中心提供【SCXK(晋)2015-001】,动物实验在该中心屏障动物实验室中进行【SYXK(晋)2015-001】。实验期间动物给予

自由饮食。饲养环境的温度为 20~24℃,相对湿度控制在 40%~70%,明暗各 12 h 交替。本实验操作符合实验动物伦理学要求(伦理审批号:IACUC2017-007)。

1.1.2 药物与试剂

莲心碱购自北京中科质检生物有限公司,批号:2586-96-1;LPS、Evans blue 购自美国 Sigma 公司;瑞氏吉姆萨染色购自 TNF- α 、IL-6、IL-1 β ELISA 试剂盒购自北京四正柏生物科技有限公司。ROS、SOD、GSH、MPO 试剂盒购自南京建成有限公司。

1.1.3 仪器

轮转切片机(RM2235, Leica 公司,德国),倒置显微镜(BX51, Olympus 公司,日本),流式细胞仪(FACS-Calibur, BD 公司,美国),微孔分光光度计(EPOCH, Biotek 公司,美国),高速微量离心机(3-18k, Sigma 公司,美国),电热恒温水浴锅(HH-2, 北京科伟永兴仪器有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 构建小鼠急性肺损伤模型

将 72 只小鼠随机分为六组,正常对照组、模型组(LPS)、莲心碱(2、4、8 mg/kg)组、地塞米松(dexamethasone, DEX, 5 mg/kg)组,每组 12 只。小鼠禁食 12 h 后,分别尾静脉注射生理盐水、莲心碱和地塞米松。给药 1 h 后,戊巴比妥钠麻醉小鼠,将 LPS 滴注入小鼠鼻孔中(10 μ g LPS, 用 50 μ L PBS 溶解),正常组小鼠鼻孔内滴注 50 μ L PBS^[9], 12 h 后牺牲小鼠。

1.2.2 收集支气管肺泡灌洗液和相应指标检测

小鼠处死后,暴露气管并将导管插入气管,用 1 mL 注射器抽取 0.5 mL PBS 进行灌洗,灌洗 3 次收集支气管肺泡灌洗液(BALF)^[10]。取一部分 BALF 采用 BCA 蛋白试剂盒检测蛋白含量,其余 BALF 迅速 4℃、1400 r/min、10 min 离心,取上清液置 -20℃ 冻存,按照 ELISA 试剂盒说明书方法分别检测炎症

因子 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 的含量,离心后的沉淀用于细胞分类计数,采用瑞氏吉姆萨(Wright-Giemsa)染色法进行细胞涂片。

1.2.3 肺毛细血管通透性检测

处死小鼠前 15 min 每组取 6 只,按 2 mL/kg 经尾静脉注射 2% 的伊文思蓝后处死小鼠,处死时立即抽取左心室血液,用针头刺入右心室,生理盐水冲洗肺血管至冲洗液澄清为止,取肺组织放入 1 mL/100 mg 的甲酰胺溶液中浸泡,50℃ 隔水式培养箱温育 24 h,提取伊文思蓝渗出液在分光光度计 620 nm 下检测吸光度,通过标准曲线计算伊文思蓝含量^[11]。

1.2.4 病理组织的观察

取右肺上叶置 4% 的中性甲醛中固定 24 h,梯度酒精脱水,石蜡包埋,切片 4 μ m,烤片,脱蜡,HE 染色,脱水透明,封片。

1.2.5 匀浆组织中 MPO、MDA、SOD、GSH 的检测

取右肺下叶,液氮研磨后,加入 PBS 制成匀浆组织,漩涡振荡并 3 000 r/min 离心 10 min,取上清液按照试剂说明书分别进行 MPO、MDA、SOD、GSH 的检测。

1.2.6 肺组织中 ROS 的检测

取左肺组织,用研磨棒边研磨边以 PBS 冲洗,

收集细胞悬液于 300 μ m 尼龙网过滤,PBS 重悬后细胞计数不少于 10⁶ 细胞个/mL。每组样品加入 10 μ mol/L 的荧光探针 DCFH-DA,37℃ 孵育 30 min,1400 r/min 离心 10 min,用 PBS 洗涤 2 次后收集细胞沉淀物,加入 200 μ L binding buffer 用流式细胞仪进行检测,结果以平均荧光强度值(每个细胞含有的荧光强度)表示。

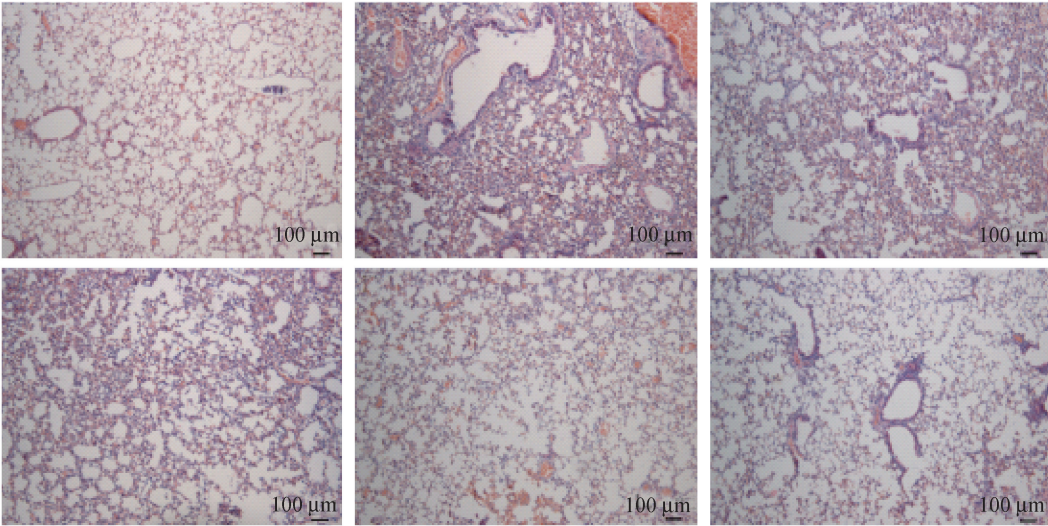
1.3 统计分析

采用 SPSS16.0 进行统计学分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,方差齐的两组比较采用方差分析,组间比较采用 LSD-*t* 检验, $P < 0.05$ 认为有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠急性肺损伤的病理学改变

HE 染色结果显示,正常对照组肺组织无明显病理学改变;LPS 组可见明显的炎性细胞浸润,支气管肺泡壁增厚和肺充血;莲心碱组可见炎性细胞和支气管肺泡壁厚度的减少,肺充血现象的减弱,随着莲心碱浓度的增加,抑制作用越明显;地塞米松组基本可改善肺组织损伤至正常对照组的病理改变(见图 1)。



注:A. 对照组;B. LPS 组;C. 莲心碱组(2 mg/kg);D. 莲心碱组(4 mg/kg);E. 莲心碱组(8 mg/kg);F. 地塞米松组(5 mg/kg)。

图 1 各组小鼠急性肺损伤的病理学改变(HE, $\times 100$)

Note. A. Control group. B. LPS group. C. LIE group(2 mg/kg). D. LIE group(4 mg/kg). E. LIE group(8 mg/kg). F. DEX(5 mg/kg).

Fig.1 Pathological changes of acute lung injury in the mice in each group (HE staining, $\times 100$)

2.2 各组 BALF 中 TNF-α、IL-6、IL-1β 含量的比较

ELISA 检测结果显示, LPS 组 BALF 中 TNF-α、IL-6、IL-1β 的含量明显高于正常对照组, 而莲心碱组和地塞米松组均低于 LPS 组, 且莲心碱呈剂量依赖性抑制关系, 差异有显著性($P < 0.05$) (见表 1)。

2.3 各组细胞计数和 MPO 活性的比较

Wright-Giemsa 染色涂片结果显示, LPS 组 BALF 中中性粒细胞数明显高于正常对照组, 而莲心碱组和地塞米松组均低于 LPS 组, 且莲心碱呈剂量依赖性抑制关系, 差异有显著性($P < 0.05$)。匀浆组织中 MPO 活性的检测结果, LPS 组 MPO 的活性明显高于正常对照组, 而莲心碱组和地塞米

松组 MPO 的活性显著低于 LPS 组, 且莲心碱呈剂量依赖性抑制关系, 差异有显著性($P < 0.05$) (见表 2)。

2.4 各组 BALF 中的蛋白浓度和肺毛细血管通透性的比较

BCA 试剂盒检测 BALF 中的蛋白浓度结果, LPS 组的蛋白浓度明显高于正常对照组, 而莲心碱组和地塞米松组均低于 LPS 组, 且莲心碱呈剂量依赖性抑制关系, 差异有显著性($P < 0.05$)。Evans Blue 染色结果显示, LPS 组伊文思蓝含量显著高于正常对照组, 而莲心碱组和地塞米松组的伊文思蓝含量均低于 LPS 组, 且莲心碱呈剂量依赖性抑制关系, 差异有显著性($P < 0.05$) (见表 3, 图 2)。

表 1 各组 BALF 中 TNF-α、IL-6、IL-1β 含量的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别 Groups	TNF-α (ng/mL)	IL-6 (ng/mL)	IL-1β (ng/mL)
对照组 Control group	0.23 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.73 ± 0.01
LPS 组 LPS group	14.00 ± 1.10 ^{##}	1.80 ± 0.10 ^{##}	1.77 ± 0.01 ^{##}
莲心碱组 LIE group (2 mg/kg)	9.00 ± 1.00 ^{**}	0.80 ± 0.10 ^{**}	1.34 ± 0.03 ^{**}
莲心碱组 LIE group (4 mg/kg)	8.61 ± 0.83 ^{**}	0.51 ± 0.10 ^{**}	0.66 ± 0.02 ^{**}
莲心碱组 LIE group (8 mg/kg)	4.20 ± 1.00 ^{**}	0.30 ± 0.10 ^{**}	0.55 ± 0.02 ^{**}
地塞米松组 DEX group	3.80 ± 1.00 ^{**}	0.22 ± 0.10 ^{**}	0.50 ± 0.02 ^{**}

注: 与对照组比较, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$ 。
Note. [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$, compared with the control group; ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$, compared with the LPS group.

表 2 各组 BALF 中的中性粒细胞数和 MPO 活性的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of the number of neutrophils and the activity of MPO in BALF of each group ($\bar{x} \pm s$)

组别 Groups	中性粒细胞数 ($\times 10^5$ /L) Number of neutrophils ($\times 10^5$ /L)	MPO 活性 (U/g) MPO activity (U/g)
对照组 Control group	0.90 ± 0.10	0.60 ± 0.01
LPS 组 LPS group	6.76 ± 1.00 ^{##}	1.07 ± 0.20 ^{##}
莲心碱组 LIE group (2 mg/kg)	4.63 ± 1.00 ^{**}	0.99 ± 0.20 [*]
莲心碱组 LIE group (4 mg/kg)	4.09 ± 1.00 ^{**}	0.74 ± 0.10 ^{**}
莲心碱组 LIE group (8 mg/kg)	3.63 ± 0.50 ^{**}	0.70 ± 0.10 ^{**}
地塞米松组 DEX group	3.38 ± 0.50 ^{**}	0.66 ± 0.10 ^{**}

注: 与对照组比较, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$ 。
Note. [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$, compared with the control group; ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$, compared with the LPS group.

2.5 各组 MDA 含量、SOD 活性、GSH 含量和 ROS 平均荧光度值的比较

肺匀浆组织中 MDA、SOD、GSH 的检测结果显 示, 与正常对照组比较, LPS 组匀浆上清中的 SOD 活力和 GSH 含量明显减少, MDA 含量增多, 差异有显著性($P < 0.05$), 而莲心碱组和地塞米松组可以增加 SOD 活力和 GSH 含量, 减少 MDA 含量, 且呈

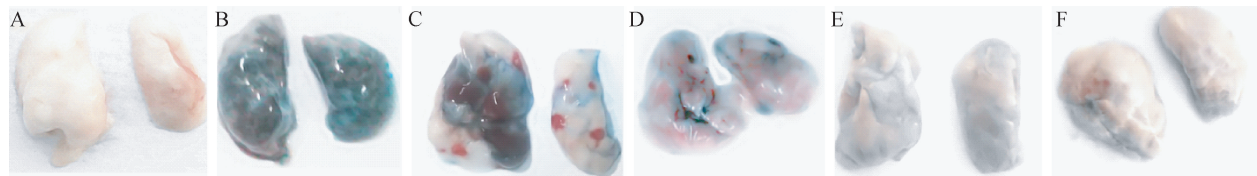
剂量依赖性抑制关系, 与 LPS 组相比, 差异有显著性($P < 0.05$); 流式细胞术检测结果显示, LPS 组波峰明显比正常对照组右移, 肺组织中 ROS 的平均荧光度值高于正常对照组, 而莲心碱组和地塞米松组的波峰均向左移, 平均荧光度值均低于 LPS 组, 差异有显著性($P < 0.05$) (见表 4, 图 3)。

表 3 各组 BALF 中的蛋白含量和肺组织中伊文思蓝渗出液的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Comparison of the protein contents in BALF and the Evans blue labeled albumin extravasation in the lung tissues of each group ($\bar{x} \pm s$)

组别 Groups	BALF 中蛋白 (mg/mL) BALF protein (mg/mL)	伊文思蓝渗出液 (μg/g 肺) Evans blue- labeled albumin extravasation (μg/g lung)
对照组 Control group	0.09 ± 0.01	0 ± 0.00
LPS 组 LPS group	0.48 ± 0.05 ^{##}	31.58 ± 4.01 ^{##}
莲心碱组 LIE group (2 mg/kg)	0.37 ± 0.03 ^{**}	13.04 ± 3.50 [*]
莲心碱组 LIE group (4 mg/kg)	0.26 ± 0.01 ^{**}	10.5 ± 2.00 ^{**}
莲心碱组 LIE group (8 mg/kg)	0.19 ± 0.01 ^{**}	7.20 ± 2.00 ^{**}
地塞米松组 DEX group	0.15 ± 0.01 ^{**}	6.4 ± 1.89 ^{**}

注: 与对照组比较, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$ 。
Note. [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$, compared with the control group. ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$, compared with the LPS group.



注:A. 对照组;B. LPS 组;C. 莲心碱组(2 mg/kg);D. 莲心碱组(4 mg/kg);E. 莲心碱组(8 mg/kg);F. 地塞米松组(5 mg/kg)。

图 2 肺组织伊文思蓝染色

Note. A. Control group. B. LPS group. C. LIE group (2 mg/kg). D. LIE group (4 mg/kg). E. LIE group (8 mg/kg). F. DEX group (5 mg/kg).

Fig. 2 Evans blue-labeled albumin extravasation in the lung tissues

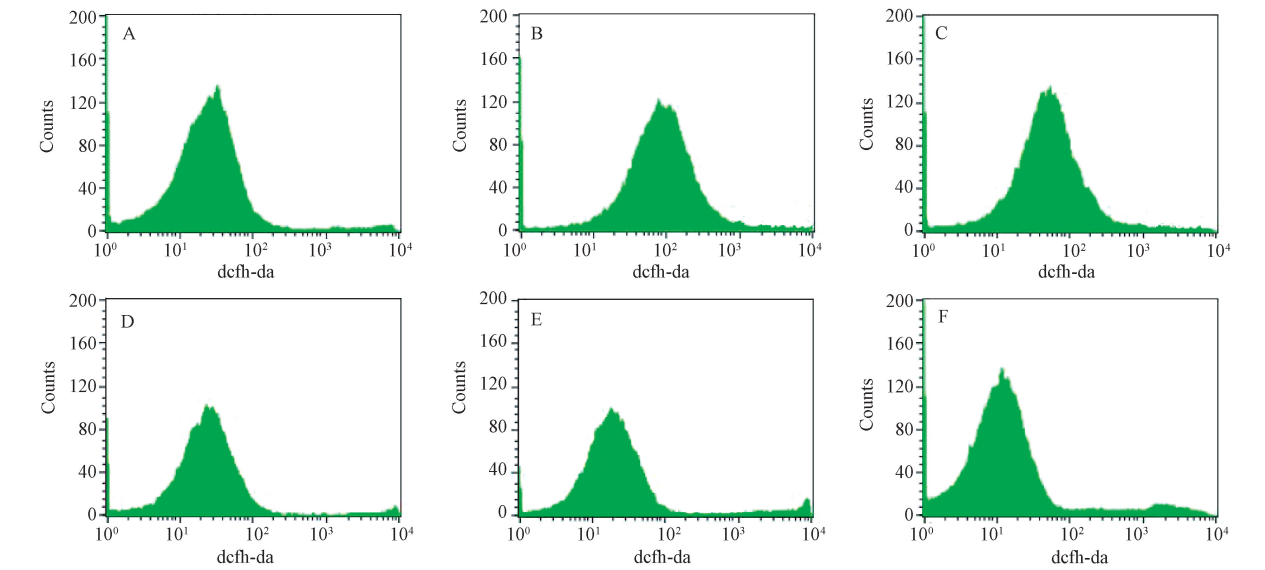
表 4 各组 MDA 含量、SOD 活性、GSH 含量和 ROS 平均荧光强度的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 4 Comparison of the content of MDA, SOD activity, GSH content and ROS mean fluorescence intensity in each group ($\bar{x} \pm s$)

组别 Groups	MDA 含量 (nmol/mgprot) MDA content (nmol/mgprot)	SOD 活性 (U/mgprot) SOD activity (U/mgprot)	GSH 含量 (μmol/gprot) GSH content (μmol/gprot)	ROS 平均荧光强度值 ROS mean fluorescence intensity (MFI)
对照组 Control group	1.05 ± 0.01	123.00 ± 1.00	503.66 ± 0.01	87.72 ± 1.00
LPS 组 LPS group	3.98 ± 0.01 ^{##}	71.00 ± 1.10 ^{##}	177.33 ± 2.51 ^{##}	234.63 ± 20.00 ^{##}
莲心碱组 LIE group (2 mg/kg)	1.65 ± 0.01 ^{**}	82.20 ± 1.36 ^{**}	353.66 ± 3.51 ^{**}	178.79 ± 17.00 ^{**}
莲心碱组 LIE group (4 mg/kg)	1.49 ± 0.01 ^{**}	87.30 ± 0.60 ^{**}	388.00 ± 2.64 ^{**}	120.11 ± 8.50 ^{**}
莲心碱组 LIE group (8 mg/kg)	1.42 ± 0.01 ^{**}	88.20 ± 1.05 ^{**}	405.00 ± 4.00 ^{**}	110.15 ± 8.00 ^{**}
地塞米松组 DEX group	1.35 ± 0.01 ^{**}	110.13 ± 1.20 ^{**}	411.00 ± 6.55 ^{**}	105.25 ± 5.00 ^{**}

注:与对照组比较, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$;与模型组比较, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$ 。

Note. [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$, compared with the control group. ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$, compared with the LPS group.



注:A. 对照组;B. LPS 组;C. 莲心碱组(2 mg/kg);D. 莲心碱组(4 mg/kg);E. 莲心碱组(8 mg/kg);F. 地塞米松组(5 mg/kg)。

图 3 流式细胞术检测的各组肺组织中 ROS 的平均荧光强度

Note. A. Control group. B. LPS group. C. LIE group (2 mg/kg). D. LIE group (4 mg/kg). E. LIE group (8 mg/kg). F. DEX group (5 mg/kg).

Fig. 3 The mean fluorescence intensity of ROS in the lung tissues of each group detected by flow cytometry

3 讨论

研究报道,急性肺部炎症时会出现中性粒细胞浸润、炎症细胞因子增加和蛋白质的渗出^[12]。过量的活化的中性粒细胞会产生促炎细胞因子如 TNF-

α 、IL-6、IL-1 β ,同时中性粒细胞的浸润导致肺微血管通透性增高,血浆蛋白质渗入肺间质,造成肺水肿^[4]。本研究成功构建了 LPS 鼻腔滴入诱导的急性肺损伤小鼠炎症模型,HE 染色结果显示,莲心碱和地塞米松均可改善 LPS 诱导的炎性细胞浸润、支

气管肺泡壁增厚和肺充血等病理改变。肺组织中 MPO 的活性是中性粒细胞浸润的重要指标,中性粒细胞浸润情况结果显示,莲心碱和地塞米松均可降低中性粒细胞数和 MPO 的活性。ELISA 检测结果显示,莲心碱和地塞米松均可降低 BALF 中促炎细胞因子 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 的含量。伊文思蓝可与白蛋白结合,用来测定肺微血管通透性,从而反应蛋白质的渗出情况,本结果显示,莲心碱和地塞米松均可降低蛋白的渗出,降低肺微血管通透性,抑制肺水肿的形成。以上实验数据表明,莲心碱能有效减轻 LPS 诱导的 ALI 的炎症反应。

研究报道,氧化应激和氧自由基的过多产生在 ALI 的发生和发展中起重要作用^[13]。LPS 可诱导肺组织中大量中性粒细胞的积聚,致促炎细胞因子的释放和 ROS 产生的增多,引起氧化应激,过量的 ROS 可引起细胞和亚细胞器膜的脂质过氧化,促使脂质过氧化产物 MDA 的增多,对细胞结构和功能造成严重损害,损伤肺组织致 ALI,而自由基清除剂 SOD、GSH 可以消除氧自由基和 MDA^[14]。研究报道,莲心碱对高脂血症大鼠可提高显著的 GSH 含量和 SOD 活性,表明莲心碱的抗氧化活性^[15]。本实验结果显示,LPS 可诱导肺组织中大量 ROS 的产生且能够显著降低肺组织中 SOD 活性和 GSH 含量,这与 ALI 患者的相应指标变化一致^[16];而给予莲心碱和地塞米松,ROS 的平均荧光强度值降低,SOD 活性和 GSH 含量均升高。以上实验数据表明,莲心碱能有效减轻 LPS 诱导的 ALI 的氧化应激损伤。

本研究证实了莲心碱可以通过减轻肺水肿和血管渗漏,改善肺组织的病理变化和氧化应激损伤,减少中性粒细胞的浸润和 BALF 中炎性细胞因子的释放,对急性肺损伤起保护作用,具体的抗炎抗氧化作用机制需进一步深入研究。

参 考 文 献(References)

- [1] Ware LB, Matthay MA. The acute respiratory distress syndrome [J]. *N Engl J Med*, 2000, 342(18): 1334–1349.
- [2] Zimmermann KK, Spassov SG, Strosing KM, et al. Hydrogen sulfide exerts anti-oxidative and anti-inflammatory effects in acute lung injury [J]. *Inflammation*, 2018, 41(1): 249–259.
- [3] Jiang W, Luo F, Lu Q, et al. The protective effect of Trillin LPS-induced acute lung injury by the regulations of inflammation and oxidative state [J]. *Chem Biol Interact*, 2016, 243: 127–134.
- [4] Grommes J, Soehnlein O. Contribution of neutrophils to acute lung injury [J]. *Mol Med*, 2011, 17(3–4): 293–307.
- [5] 马李杰, 李王平, 金发光. 急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征发病机制的研究进展 [J]. *中华肺部疾病杂志*, 2013, 6(01): 65–68.
- Ma LJ, Li WP, Jin FG. Progress in the pathogenesis of acute lung injury / acute respiratory distress syndrome [J]. *Chin J Lung Dis*, 2013, 6(01): 65–68.
- [6] 罗顺德, 王辉. 莲心碱的研究概况和进展 [J]. *中国药房*, 2001, 12(10): 624–625.
- Luo SD, Wang H. Research overview and progress of Liensinine [J]. *Chin Pharmacy*, 2001, 12(10): 624–625. (no English abstract is included)
- [7] 余万桂, 邓德明, 张恒文, 等. 莲心碱对大鼠脑缺血再灌注损伤血清中 IL-1、TNF α 的影响 [J]. *长江大学学报(自然科学版)*, 2008, 5(04): 1–2, 5, 3.
- Yu WG, Deng DM, Zhang HW, et al. Effects of Liensinine on Serum IL-1 and TNF α in rats with cerebral ischemia and reperfusion injury [J]. *J Yangtze Univ (Nat Sci Ed.)*, 2008, 5(04): 1–2, 5.
- [8] 余万桂, 张恒文, 杨涛, 等. 莲心碱对大鼠局灶性脑缺血/再灌注损伤的抗氧化作用 [J]. *中药药理与临床*, 2013, 29(2): 32–35.
- Yu WG, Zhang HW, Yang T, et al. Study on antioxidant of Liensinine on focal cerebral ischemia / reperfusion injury in rats [J]. *Pharmacol Clin Chin Mat Med*, 2013, 29(2): 32–35.
- [9] Szarka RJ, Wang N, Gordon L, et al. A murine model of pulmonary damage induced by lipopolysaccharide via intranasal instillation [J]. *J Immunol Methods*, 1997, 202(1): 49–57.
- [10] 姚茹, 张锐虎, 王璐, 等. 小鼠支气管肺泡灌洗术的改进 [J]. *中国比较医学杂志*, 2017, 27(11): 80–83.
- Yao R, Zhang RH, Wang L, et al. Technical improvement of bronchoalveolar lavage in mice [J]. *Chin J Comp Med*, 2017, 27(11): 80–83.
- [11] Fu P, Birukova AA, Xing J, et al. Amifostine reduces lung vascular permeability via suppression of inflammatory signaling [J]. *Eur Respir J*, 2009, 33(3): 612–24.
- [12] Butt Y, Kurdowska A, Allen TC. Acute lung injury: A clinical and molecular review [J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2016, 140(4): 345–50.
- [13] Cho HY, Kleeberger SR. Genetic mechanisms of susceptibility to oxidative lung injury in mice [J]. *Free Radic Biol Med*, 2007, 42(4): 433–445.
- [14] Carnesecchi S, Pache JC, Barazzzone-Argiroffo C. NOX enzymes: potential target for the treatment of acute lung injury [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2012, 69(14): 2373–285.
- [15] 王辉, 刘刚, 杨柳, 等. 莲心碱对实验性高脂血症大鼠血脂及脂质过氧化的影响 [J]. *天然产物研究与开发* 2005, 17: 722–725.
- Wang H, Liu G, Yang L. Effects of liensinine on blood lipids and lipid peroxidation in experimental hyperlipidemia rat [J]. *Nat Prod Res Develop*, 2005, 17: 722–725.
- [16] Ueda J, Starr ME, Takahashi H, et al. Decreased pulmonary extracellular superoxide dismutase during systemic inflammation [J]. *Free Radic Biol Med*, 2008, 45(6): 897–904.