

柚皮苷通过减轻氧化应激降低急性肺损伤小鼠内皮通透性的研究

杨学敏, 张欢欢, 宋立强*

中国人民解放军空军军医大学第一附属医院 呼吸与危重症医学科, 陕西 西安 710032

摘要: **目的** 研究柚皮苷对脂多糖 (LPS) 诱导的小鼠急性肺损伤模型肺微血管内皮通透性及气道炎症的改善作用。方法将 66 只 C57BL/6 雄性小鼠随机分为对照组、模型组、地塞米松组及柚皮苷 40、80、120 mg/kg 组, 每组 11 只。对照组小鼠正常饲养; 模型组和给药组小鼠麻醉后给予 LPS 滴鼻, 每只小鼠滴鼻 50 μ L。柚皮苷 40、80、120 mg/kg 组和地塞米松 5 mg/kg 组在 LPS 滴鼻前分别 ig 相应剂量的柚皮苷和地塞米松, 连续给药 5 d, 滴鼻后继续 ig 相应剂量的柚皮苷和地塞米松, 连续给药 2 d。对照组和模型组同时 ig 0.2 mL 生理盐水。苏木精-伊红 (HE) 染色观察肺实质病理变化; 血常规分析仪检测血液及肺泡灌洗液淋巴细胞、中性粒细胞、血细胞、血小板数量; ELISA 检测肺泡灌洗液白细胞介素 (IL)-1 β 、IL-6、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 含量和血清内皮素-1 (ET-1) 水平; 肺组织伊文思蓝成像分析肺泡-血管通透性, qPCR 检测紧密连接蛋白紧密连接蛋白-1 (ZO-1)、密封蛋白 (OCLN)、血管内皮钙黏素 (VE-cadherin)、 β -连环蛋白 (β -catenin) 和水通道蛋白 AQP1、AQP5 的 mRNA 表达水平; 化学分析法检测血清丙二醛 (MDA)、超氧化物歧化酶 (SOD)、一氧化氮 (NO) 水平。**结果** 与模型组相比, 柚皮苷 120 mg/kg 组能够显著改善 LPS 诱导的急性肺损伤小鼠肺水肿及肺组织炎症浸润的病理状态, 减少肺泡内炎症细胞数量、炎症因子和总蛋白含量, 以及肺组织伊文思蓝渗入量; 增强紧密连接蛋白和水通道蛋白表达; 减缓血液炎症细胞流失, 降低血管氧化应激水平 ($P < 0.05$)。**结论** 柚皮苷能够减轻 LPS 诱导的气道炎症, 并可能通过降低血管氧化应激水平减少对紧密连接蛋白和水通道蛋白的损害作用从而改善肺内皮高通透性。

关键词: 柚皮苷; 内皮通透性; 氧化应激; 内皮钙黏素; β -连环蛋白; 水通道蛋白

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2023)10-2389-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2023.10.002

Effect of naringin on endothelial permeability in mice with acute lung injury by alleviating oxidative stress

YANG Xue-min, ZHANG Huan-huan, SONG Li-qiang

Department of Pulmonary and Critical Care Medicine, the First Affiliated Hospital of Air Force Medical University, Xi'an 710032, China

Abstract: Objective To study the effect of naringin on pulmonary microvascular endothelial permeability and airway inflammation in mice model of acute lung injury induced by lipopolysaccharide (LPS). **Methods** Sixty-six male C57BL/6 mice were randomly divided into control group, model group, dexamethasone group, and naringin 40, 80, 120 mg/kg groups, with 11 mice in each group. Control group mice were fed normally. Mice in the model group and the administration group were given LPS nasal drops after anesthesia, each mice was given 50 μ L nasal drops. Naringin 40, 80, and 120 mg/kg groups and dexamethasone 5 mg/kg groups were intragastrically given naringin and dexamethasone at corresponding doses before LPS nasal drops for 5 days, respectively, and intragastrically given naringin and dexamethasone at corresponding doses after nasal drops for 2 days. Control group and model group were given 0.2 mL normal saline at the same time. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe the pathological changes of lung parenchyma. The number of lymphocytes, neutrophils, blood cells and platelets in blood and alveolar lavage fluid were detected by blood routine analyzer. The contents of interleukin-1 β , IL-6, tumor necrosis factor- α (TNF- α) and serum endothelin-1 (ET-1) in alveolar lavage fluid were determined by ELISA. Evens blue imaging of lung tissue to analyze alveolar-vascular permeability, qPCR was used to detect the mRNA expression levels of tight junction protein-1 (ZO-1), sealing protein (OCLN), vascular endothelial

收稿日期: 2023-07-03

基金项目: 浙江省中医药科技计划项目 (2022ZB225)

作者简介: 杨学敏, 硕士, 主治医师, 研究方向为肺部疾病防治。E-mail: 447551795@qq.com

*通信作者: 宋立强, 男, 博士, 主任医师, 研究方向为呼吸危重症防治。E-mail: songlq@fmmu.edu.cn

cadherin (VE-cadherin), β -catenin (β -catenin) and aquaporins AQP1 and AQP5. Serum levels of malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD) and nitric oxide (NO) were detected by chemical analysis. **Results** Compared with model group, naringin 120 mg/kg group could significantly improve the pathological state of pulmonary edema and inflammatory infiltration of lung tissue in mice with LPS-induced acute lung injury, reduce the number of inflammatory cells in alveolar, the contents of inflammatory factors and total protein, and the infiltration amount of Evans blue in lung tissue. Enhance the expression of tight junction protein and aquaporin; decrease the loss of blood inflammatory cells and decrease the level of vascular oxidative stress ($P < 0.05$). **Conclusion** Naringin can reduce LPS-induced airway inflammation, and may improve pulmonary endothelial hyperpermeability by reducing vascular oxidative stress levels and reducing damaging effects on tightlink protein and aquaporin.

Key words: naringin; endothelial permeability; oxidative stress; VE-cadherin; β -catenin; AQP

急性肺损伤是肺内外因素致肺泡上皮细胞及血管内皮细胞损伤造成的急性低氧性呼吸衰竭以及弥漫性肺水肿, 严重时发展为急性呼吸窘迫综合征。病毒、细菌引发的肺炎, 哮喘、急性期慢阻肺, 或者休克、严重创伤等全身性疾病都有可能引发急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征^[1], 如爆发的流感病毒^[2]以及影响全球的新型冠状病毒肺炎^[3], 均有大量患者进展为急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征。急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征是一种发病率高、病死率高, 但无特效药物的严重肺部疾病。

中医药在治疗急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征有丰富的临床经验以及理论基础。中草药和天然产物因具有抑制肺泡炎症反应、减轻氧化应激以及保护血管内皮等多重疗效在亚洲尤其是中国备受关注^[4]。柚皮苷是存在于葡萄柚等多种橘类植物的天然黄酮类化合物。大量临床前研究表明, 柚皮苷对肺部疾病具有镇咳^[5]、祛痰^[6]、抗炎^[7]、抗肺纤维化^[8]等药理作用, 对其他疾病还能够抗氧化应激, 保护血管内皮屏障^[9]。

本研究通过建立脂多糖 (LPS) 滴鼻诱导急性肺损伤小鼠模型, 并给予柚皮苷 ig 治疗, 明确柚皮苷对急性肺损伤小鼠血管内皮通透性及气道炎症的改善效果, 拓展了柚皮苷防治急性肺损伤的药理作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物

8 周龄雄性 C57BL/6 小鼠, 体质量 22~25 g, 由浙江省实验动物中心提供, 生产许可证号: SCXK (浙) 2019-0002。小鼠饲养于空军军医大学实验动物中心清洁级屏障系统, 恒温恒湿, 所有饲养、实验操作均符合实验动物伦理学要求, 使用许可证号: SYXK (陕) 2019-001, 实验伦理批准单位为空军军医大学实验动物中心福利与伦理委员会, 伦理批号: IACUC-20230096。

1.2 药物及试剂

柚皮苷 (货号 10236-47-2, 质量分数 >98%, 上海阿拉丁生化科技有限公司); 醋酸地塞米松片 (国药准字 H12020686, 规格 0.75 mg/片, 天津天药药业股份有限公司); LPS [货号 L2880-100MG, 西格玛奥德里奇 (上海) 贸易有限公司]; 白细胞介素 (IL) -1 β 、IL-6、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) ELISA 试剂盒 (货号 70-EK201B、70-EK206、70-EK282, 杭州联科生物技术股份有限公司); BCA 蛋白含量检测试剂盒 (货号 KGP902, 南京凯基生物科技发展有限公司); 微量丙二醛 (MDA) 测定试剂盒 (TBA 法)、总超氧化物歧化酶 (SOD) 测定试剂盒 (WST-1 法) (货号 A003-2-2、A001-3-2, 南京建成生物工程研究所); 总 RNA 提取试剂盒、反转录试剂盒、SYBR 定量试剂 (货号 19211ES60、11121ES60、11198ES08, 上海翌圣生物科技有限公司)。

1.3 仪器与设备

RC2 气体麻醉系统 (美国 VETEQUIP 公司); OPT Clairvivo 小动物近红外深层荧光成像系统 (日本岛津制作所); TEK8500 全自动五分类血液分析仪 (江西特康科技有限公司); MD-M4 酶标仪 (MOLECULAR DEVICES); 5804R 台式冷冻高速离心机 (德国 Eppendorf); CFX96 荧光定量 PCR 仪 (Bio-Rad)。

1.4 动物分组及模型建立

小鼠适应性饲养 1 周后, 随机分为对照组、模型组、地塞米松 5 mg/kg 组及柚皮苷 40、80、120 mg/kg 组, 每组 11 只小鼠。对照组小鼠正常饲养; 模型组和给药组小鼠麻醉后给予 LPS 滴鼻, 每只小鼠滴鼻 50 μ L (含 600 μ g LPS)。柚皮苷 40、80、120 mg/kg 组和地塞米松 5 mg/kg 组在 LPS 滴鼻前分别 ig 相应剂量的柚皮苷和地塞米松, 连续给药 5 d^[10], 滴鼻后继续 ig 相应剂量的柚皮苷和地塞米松, 连续给药 2 d。对照组和模型组同时间 ig 0.2 mL 生理盐

水。小鼠滴鼻 2 d 后, 每组各取 8 只小鼠眼眶取血, 结扎左肺, 灌注右肺获得肺泡灌洗液 (BALF), 未冲洗的肺组织一部分固定于福尔马林, 一部分 -80°C 冻存。

1.5 肺组织病理分析

肺组织固定 48 h 后, 进行常规脱水、石蜡包埋并切成 $5\ \mu\text{m}$ 厚度的切片。将切片温水中展开并转移到载玻片上进行脱蜡处理, 依次进行苏木精-伊红 (HE) 染色, 乙醇梯度脱水, 二甲苯透明处理, 中性树胶封片。将制好的 HE 染色片, 在显微镜下观察各组小鼠肺组织病理变化。

1.6 伊文思蓝成像及渗出率计算

每组取 3 只小鼠尾 iv $5\ \text{mg/mL}$ 伊文思蓝溶液 $0.2\ \text{mL}$, 30 min 后打开小鼠胸腹腔, 暴露肺脏和心脏, 利用微型泵冲洗小鼠全身血液。取出全部肺脏组织, 生理盐水清洗, 并吸去表面所有液体, 然后用小动物近红外深层荧光成像系统检测肺部伊文思蓝荧光强度, 设定参数为激发波长 $658\ \text{nm}$, 发射波长 $719\ \text{nm}$, 曝光时间 $100\ \text{ms}$ 。荧光强度由成像系统自带软件进行分析。成像后, 将全部肺组织完全浸泡在甲酰胺中, 37°C 放置 24 h 后在 $620\ \text{nm}$ 测定吸光度 (A) 值。

1.7 炎症指标检测

将 BALF 和室温静置 0.5 h 以上的血液在 $1500\ \text{r/min}$, 4°C 条件下离心 10 min, BALF 上清和血清分别转移到新的 $1.5\ \text{mL}$ 离心管。BALF 沉淀细胞用灌洗缓冲液重悬。BALF 上清用 ELISA 试剂盒检测 IL- 1β 、IL-6、TNF- α 含量。BALF 重悬液和全血用血液分析仪检测指标淋巴细胞 (Lymph)、中性粒细胞 (NEUT)、白细胞 (WBC)、血小板数量。

1.8 氧化应激指标检测

将 -80°C 冻存的血清室温解冻, ELISA 试剂盒检测一氧化氮 (NO)、MDA、SOD、内皮素-1 (ET-1) 水平, 操作均按照试剂盒说明书进行。

1.9 紧密连接蛋白和水通道蛋白表达检测

取部分冻存肺组织样品, 按照 RNA 提取试剂盒说明书提取总 RNA, 反转录成 cDNA, 实时荧光定量 PCR 检测紧密连接蛋白-1 (ZO-1)、密封蛋白 (OCLN)、血管内皮钙黏素 (VE-cadherin) 和 β -连环蛋白 (β -catenin) 以及水通道蛋白 AQP1 和 AQP5 mRNA 表达水平, 所用引物见表 1。

1.10 统计学分析

采用 GraphPad Prism8.0 软件进行数据处理, 计

表 1 定量引物序列

引物名称	引物序列 (5'-3')
GAPDH (正向)	GTGTCCGTCGTGGATCTGA
GAPDH (反向)	GAGGACGCTGAAGTTGTCGTT
ZO-1 (正向)	GCTTTAGCGAACAGAAGGAGC
ZO-1 (反向)	TTCATTTTCCGAGACTTCACCA
OCLN (正向)	TGAAAGTCCACCTCCTTACAGA
OCLN (反向)	CCGATAAAAAGAGTACGCTGG
VE-cadherin (正向)	GTCGATGCTAACACAGGGAATG
VE-cadherin (反向)	AATACCTGGTGCAGAAAACACA
β -catenin (正向)	CCCAGTCCTCACGCAAGAG
β -catenin (反向)	CATCTAGCGTCTCAGGGAACA
AQP1 (正向)	AGGCTTCAATTACCCACTGGA
AQP1 (反向)	GTGAGCACCGCTGATGTGA
AQP5 (正向)	GCCCTCTTAATAGGCAACCAG
AQP5 (反向)	GCATTGACGGCCAGGTTAC

量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 各组之间两两比较用 t 检验和非参数检验。

2 结果

2.1 柚皮苷对急性肺损伤小鼠肺组织病理的影响

HE 染色结果显示, 对照组小鼠肺实质部分肺泡完整, 排布均匀, 肺泡壁未见增厚, 腔内无分泌物, 极少炎性细胞; 与对照组相比, 模型组小鼠多处肺泡结构被破坏, 泡内充满液体和炎症细胞, 肺泡壁增厚, 具有显著的病理变化; 柚皮苷各剂量组显著改善了肺实质结构病变及炎症浸润情况, 尤其以柚皮苷 $120\ \text{mg/kg}$ 组效果最佳, 表明柚皮苷能够减轻 LPS 诱导的肺泡病理损伤, 并且具有剂量相关性, 见图 1。

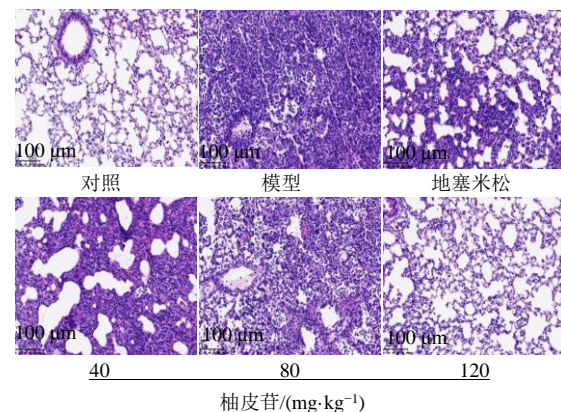


图 1 各组小鼠肺组织 HE 染色结果 ($\times 100$)

Fig. 1 HE results of lung tissues in each group ($\times 100$)

2.2 柚皮苷对急性肺损伤小鼠肺泡 - 血管通透性的影响

肺组织伊文思蓝成像结果显示, 与对照组相比, 模型组荧光值显著升高; 柚皮苷各剂量组能够显著降低伊文思蓝荧光值, 并具有浓度梯度相关性, 见图 2。结果显示, 模型组伊文思蓝渗出量显著高于对照组 ($P < 0.05$); 柚皮苷各剂量组能够降低渗出量, 且以柚皮苷 120 mg/kg 组最显著 ($P < 0.05$), 见图 3。

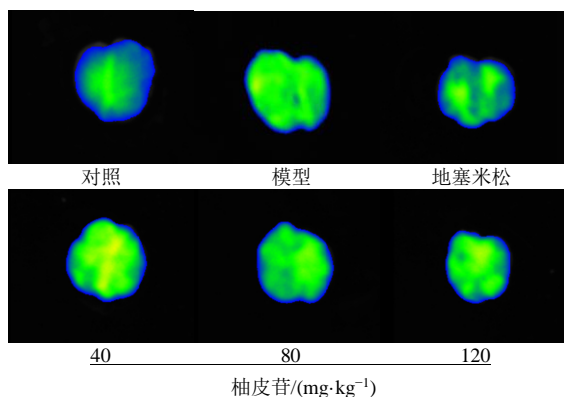
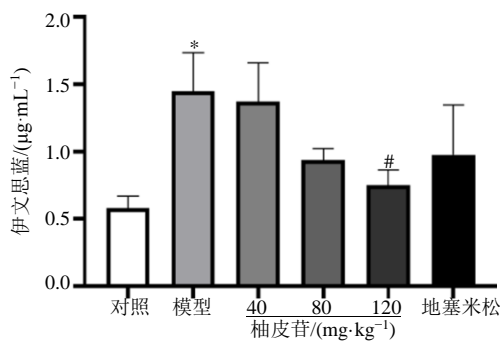


图 2 各组小鼠肺组织伊文思蓝成像结果

Fig. 2 Evans Blue imaging results of lung tissue of mice in each group



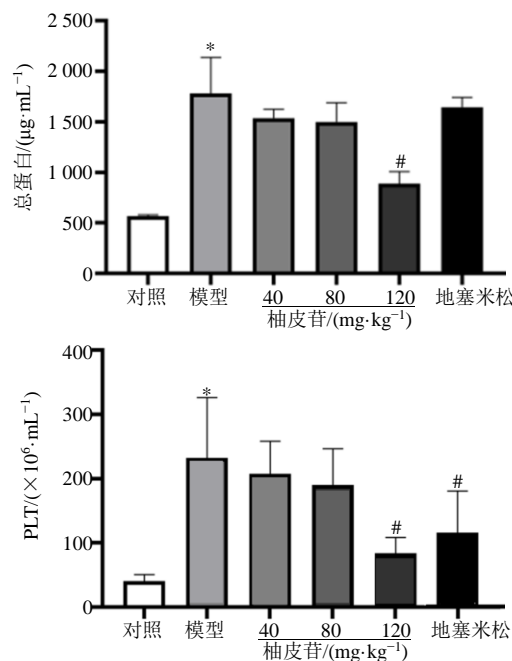
与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$
* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group

图 3 各组小鼠肺组织伊文思蓝渗出量 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
Fig. 3 Evans Blue exudation in lung tissue of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

如图 4 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠肺泡灌洗液总蛋白含量和 PLT 数量显著增加 ($P < 0.05$), 柚皮苷 120 mg/kg 组总蛋白含量和 PLT 数量显著降低 ($P < 0.05$)。以上结果表明, 柚皮苷能够显著降低 LPS 诱导的内皮屏障高通透性。

2.3 柚皮苷对急性肺损伤小鼠气道炎症的影响

与对照组相比, 模型组 BALF 中 Lymph、NEUT、WBC 数量均显著性增加 ($P < 0.05$); 柚皮苷各剂量



与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$
* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group

图 4 各组小鼠 BALF 中总蛋白含量和 PLT 数量 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 4 Total protein content and PLT quantity in BALF of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组能够不同程度地显著减少肺泡中炎症细胞的数量, 尤其是柚皮苷 120 mg/kg 组小鼠各种炎症细胞数量最少 ($P < 0.05$)。ELISA 结果显示, 与对照组相比, 模型组 BALF 的 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 含量显著升高 ($P < 0.05$); 而柚皮苷各剂量组均能够显著减少 BALF 炎症因子含量 ($P < 0.05$)。以上结果表明, 柚皮苷能够显著降低 LPS 诱导的气道炎症反应, 见图 5。

2.4 柚皮苷对急性肺损伤小鼠血液细胞的影响

与对照组相比, 模型组血液中的 Lymph、NEUT、WBC、PLT 数量均显著降低 ($P < 0.05$); 柚皮苷 120 mg/kg 组 Lymph、NEUT、PLT 数量均显著升高 ($P < 0.05$)。结果表明, 柚皮苷 120 mg/kg 组能够显著改善 LPS 诱导的血液细胞流失, 见图 6。

2.5 柚皮苷对急性肺损伤小鼠氧化应激的影响

与对照组相比, 模型组小鼠血清 ET-1 和 MDA 显著升高, NO 和 SOD 水平显著降低 ($P < 0.05$); 柚皮苷各剂量组血清 ET-1 和 MDA 有所下降, NO 和 SOD 有所升高, 柚皮苷 120 mg/kg 组的生化指标变化具有显著性差异 ($P < 0.05$), 见图 7。

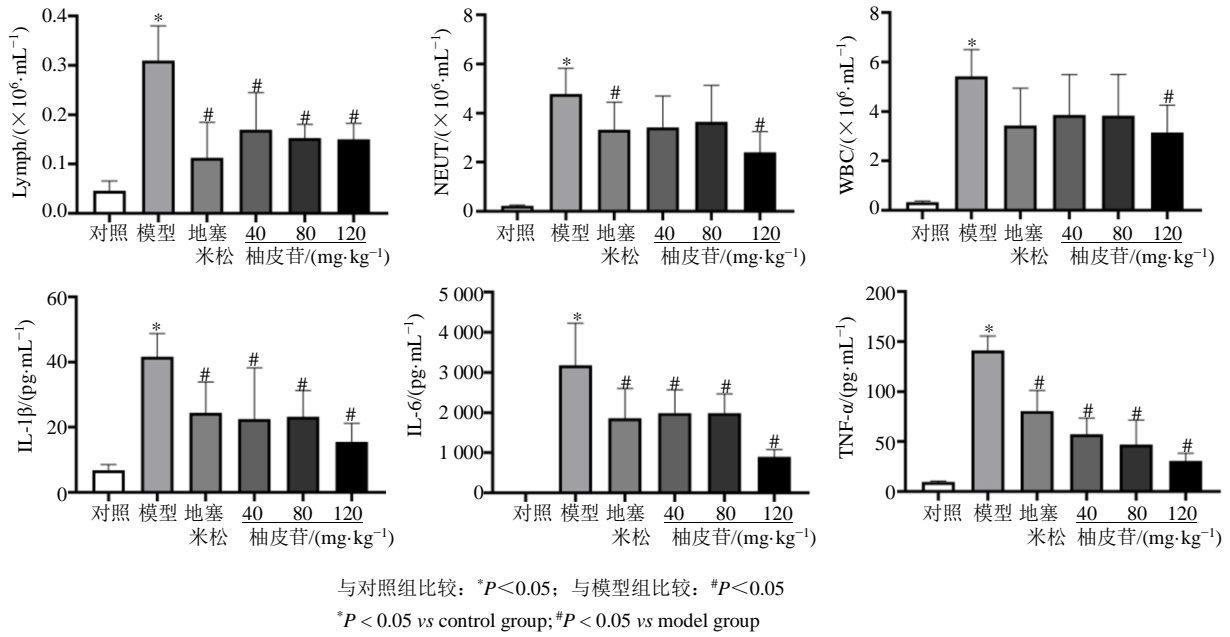


图 5 各组小鼠 BALF 炎症细胞及炎症因子变化 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 5 Changes of BALF inflammatory cells and inflammatory factors in each group ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

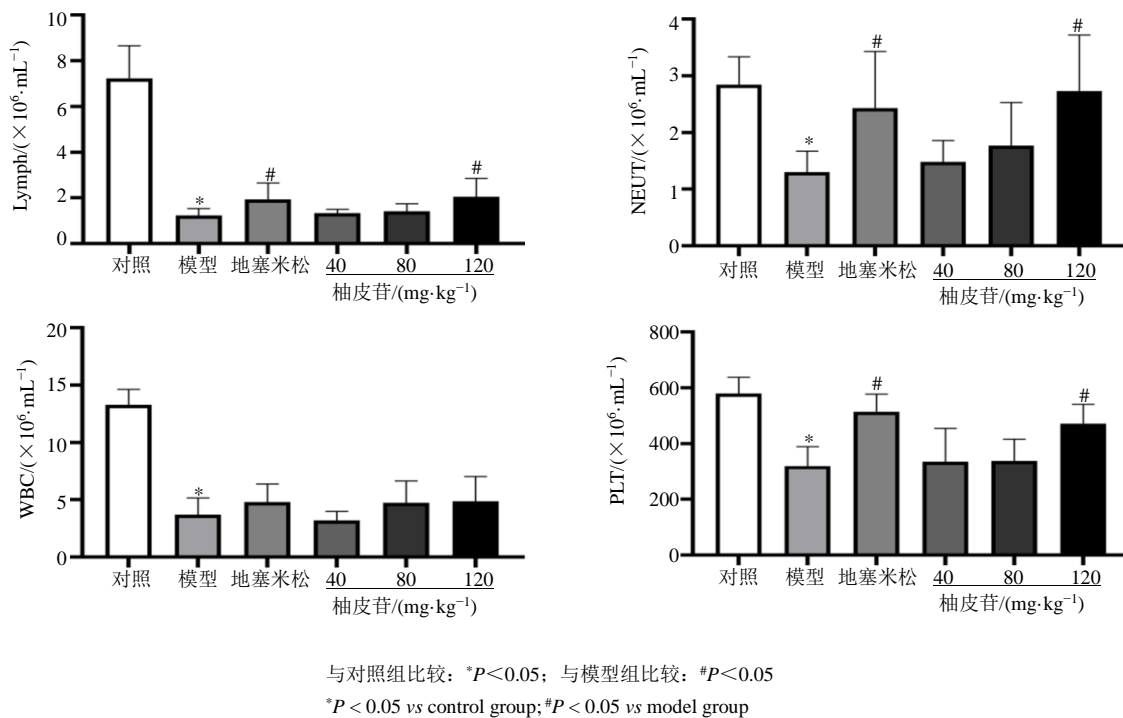


图 6 各组小鼠血液炎症细胞数变化 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 6 Changes in the number of blood inflammatory cells of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

2.6 柚皮苷对急性肺损伤小鼠内皮细胞紧密连接及水通道的影响

与对照组相比,模型组小鼠 *VE-cadherin*、*β-catenin*、*ZO-1*、*OCLN*、*AQP1*、*AQP5* mRNA 表达水平均显著降低 ($P < 0.05$),而柚皮苷各剂量组能

不同程度升高紧密连接蛋白和水通道蛋白 mRNA 表达水平 ($P < 0.05$),尤其以柚皮苷 120 mg/kg 组效果最明显,见图 8。

3 讨论

急性呼吸窘迫综合征是临床上发病率和致死

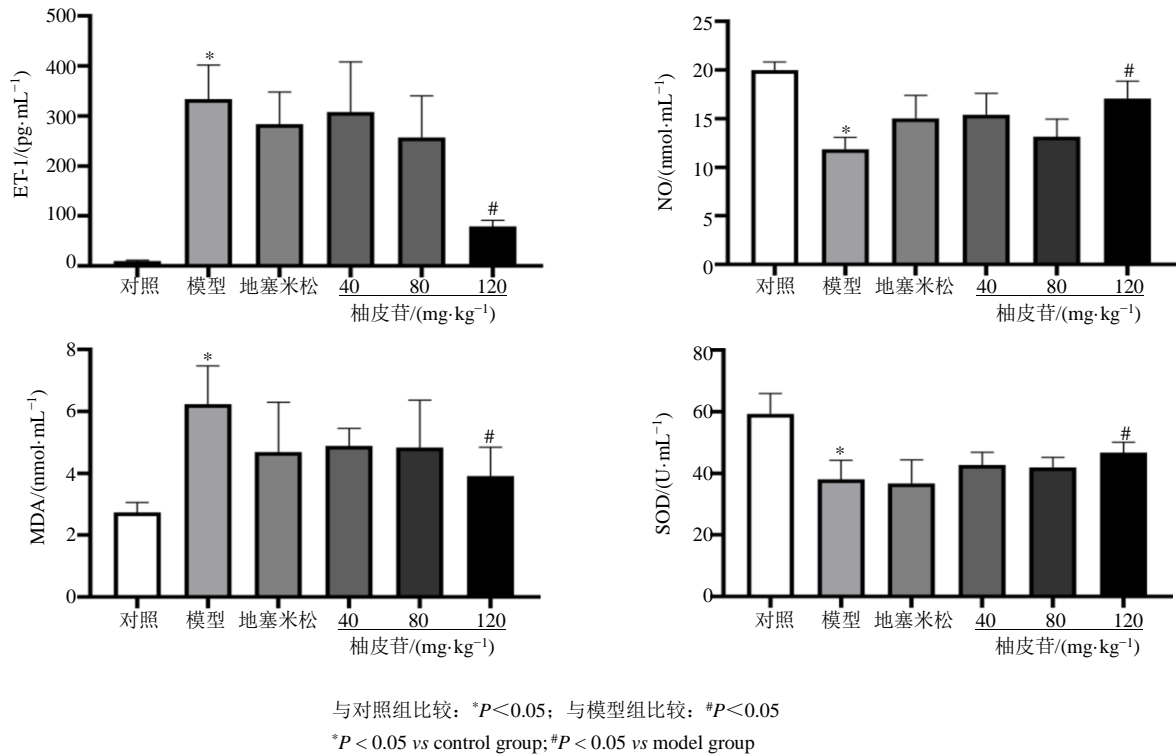


图 7 各组小鼠血清氧化应激指标变化 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 7 Changes of blood oxidative stress indexes in each group ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

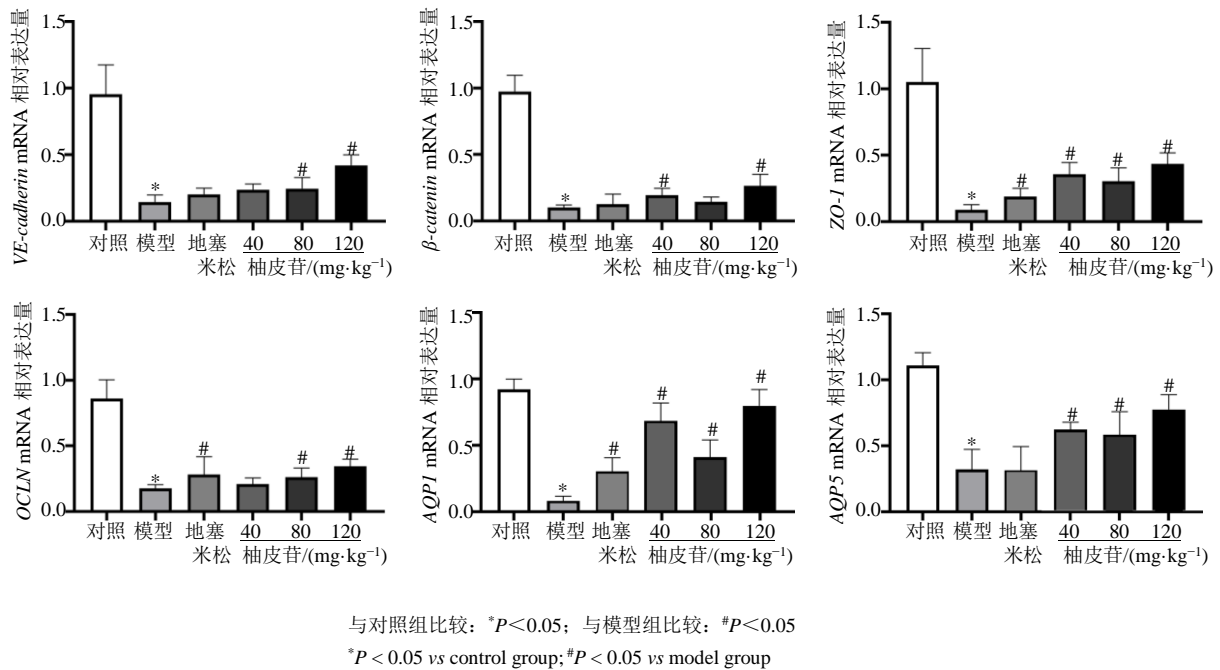


图 8 各组小鼠肺组织紧密连接蛋白和水通道蛋白 mRNA 表达变化 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 8 Changes of mRNA expression of tight-junction protein and aquaporin in lung tissue of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

率较高的呼吸疾病，目前多采用氧疗改善低氧状态结合控制原发疾病的方法治疗，但因其发病机理的复杂性，尽管针对低氧和炎症开发的药物种类众多，仍没有取得理想的治疗效果。中草药及其天然

产物在治疗急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征中也发挥了重要作用^[11]。柚皮苷是近年来研究较多的黄酮类化合物，已被证实对呼吸系统^[12]、中枢神经系统^[13]、骨再生^[14]、代谢性疾病^[15]具有显著治疗效果。

值得注意的是,在肺部疾病的研究中,柚皮苷具有化痰止咳、减轻炎症反应以及抗氧化应激的药理作用^[12]。Liu 等^[16]发现柚皮苷通过核因子- κ B (NF- κ B) 通路降低 LPS 诱导的急性肺损伤小鼠肺泡灌洗液中总细胞、中性粒细胞数以及 TNF- α 炎症因子实现抗炎效果。本研究也证实了柚皮苷能够显著改善急性肺损伤小鼠模型弥漫性肺间质及肺泡水肿,减少了肺泡及气道内炎症细胞数量和炎症因子含量,具有显著的抗炎效果。

微血管内皮细胞通透性增加,使得血管内的各种炎症细胞和炎症因子扩散到肺泡,并参与其中的炎症反应,促进弥漫性肺间质及肺泡水肿,肺间质和肺泡内积存大量富含蛋白的液体、沉积的胶原和各种炎症细胞,包括血液来源的多核中性粒细胞、血细胞、血小板等^[17]。本研究发现急性肺损伤模型小鼠肺组织渗入大量的伊文思蓝染料,并且肺泡灌洗液中含有大量蛋白和血小板,表明 LPS 能够诱导小鼠肺组织肺泡-血管通透性增加。值得注意的是,急性肺损伤小鼠模型的肺泡内炎症细胞数量显著升高,而血液内炎症细胞大量减少,验证了急性肺损伤的肺泡-血管通透性增加将促使血液内的炎症细胞进入气道和肺泡。柚皮苷不仅能够减轻伊文思蓝染料渗入肺组织,同时减少肺泡内炎症细胞、总蛋白含量,减缓血液内炎症细胞的极速流失,证实柚皮苷治疗能够显著降低血管通透性。

血管内皮通透性由内皮细胞间紧密连接构成的屏障系统以及内皮细胞的渗透性所决定。内皮屏障系统是由 ZO-1、OCLN 构成的紧密连接以及由 VE-cadherin 和 β -catenin 等蛋白构成的黏合连接,最终这些蛋白聚合物再与细胞骨架蛋白结合^[18]。水通道蛋白对肺泡-内皮细胞的渗透性具有重要的维持作用,其中 AQP1 表达于内皮细胞,AQP5 表达与肺泡 I 型上皮细胞,是调控肺泡-内皮渗透性的重要参与者^[19]。在急性肺损伤状态下,活化的中性粒细胞 (PMN)、巨噬细胞、内皮细胞等释放过量的活性氧 (ROS)^[20],启动钙离子信号通路调控与肌动蛋白相连的 VE-cadherin/catenin 紧密连接复合物,破坏内皮细胞间连接^[21],导致内皮细胞间通透性增加。此外,急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征疾病状态下水通道蛋白和离子通道蛋白表达显著降低,致使肺泡-内皮渗透性降低,肺泡内大量的水分、离子、蛋白等无法排出,加剧急性肺损伤肺水肿等病理损伤^[22]。本研究发现,LPS 诱导紧密

连接蛋白和水通道蛋白表达水平降低,尤其是血管内皮细胞特有的 VE-cadherin^[23]以及在肺血管内皮细胞高表达的 AQP1 蛋白表达显著降低。于此同时,LPS 引发了血管内氧化应激水平的增加,表现为细胞氧化损伤加重和过氧化物清除水平降低,氧化/还原失衡。柚皮苷显著提高了 SOD 含量,增加过氧化物清除效率,减少了 MDA 含量,减轻内皮细胞氧化损伤,升高了紧密连接蛋白表达,稳定内皮屏障系统,并增强水通道蛋白表达,减轻肺泡水肿。

柚皮苷作为多种中药材的黄酮类药效成分,对肺部疾病的药效药理有多篇临床前报道,具有非常明确的抗炎、抗氧化作用。但柚皮苷在血管相关的疾病,包括心血管疾病、高血压、高血脂、动脉粥样硬化、骨再生、糖尿病等的血管保护作用并未延伸到肺部疾病。急性肺损伤不仅气管、肺泡、肺间质发生病变,血管通透性也是病理进展的关键一环,因此本研究对柚皮苷降低急性肺损伤血管内皮通透性方面的药理作用探索具有重要意义。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Meyer N J, Gattinoni L, Calfee C S. Acute respiratory distress syndrome [J]. *Lancet*, 2021, 398(10300): 622-637.
- [2] Yener N, Üdürgücü M, Yılmaz R, et al. Influenza virus associated pediatric acute respiratory distress syndrome: Clinical characteristics and outcomes [J]. *J Trop Pediatr*, 2021, 67(5): fmab090.
- [3] Gibson P G, Qin L, Puah S H. COVID-19 acute respiratory distress syndrome (ARDS): Clinical features and differences from typical pre-COVID-19 ARDS [J]. *Med J Aust*, 2020, 213(2): 54-56.
- [4] Yu W Y, Gao C X, Zhang H H, et al. Herbal active ingredients: Potential for the prevention and treatment of acute lung injury [J]. *Biomed Res Int*, 2021, 2021: 5543185.
- [5] Luo Y L, Zhang C C, Li P B, et al. Naringin attenuates enhanced cough, airway hyperresponsiveness and airway inflammation in a guinea pig model of chronic bronchitis induced by cigarette smoke [J]. *Int Immunopharmacol*, 2012, 13(3): 301-307.
- [6] Chen Y, Wu H, Nie Y C, et al. Mucoactive effects of naringin in lipopolysaccharide - induced acute lung injury mice and beagle dogs [J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2014, 38(1): 279-287.
- [7] Nie Y C, Wu H, Li P B, et al. Anti-inflammatory effects of naringin in chronic pulmonary neutrophilic inflammation in cigarette smoke-exposed rats [J]. *J Med Food*, 2012,

- 15(10): 894-900.
- [8] Turgut N H, Kara H, Elagoz S, *et al.* The protective effect of naringin against bleomycin-induced pulmonary fibrosis in Wistar rats [J]. *Pulm Med*, 2016, 2016: 7601393.
- [9] Viswanatha G L, Shylaja H, Keni R, *et al.* A systematic review and meta-analysis on the cardio-protective activity of naringin based on pre-clinical evidences [J]. *Phytother Res*, 2022, 36(3): 1064-1092.
- [10] He Y Q, Zhou C C, Yu L Y, *et al.* Natural product derived phytochemicals in managing acute lung injury by multiple mechanisms [J]. *Pharmacol Res*, 2021, 163: 105224.
- [11] Gupta G, Almalki W H, Kazmi I, *et al.* Current update on the protective effect of naringin in inflammatory lung diseases [J]. *Excli J*, 2022, 21: 573-579.
- [12] 李沛波, 王永刚, 吴灏, 等. 柚皮苷及其苷元柚皮素的呼吸系统药理作用研究概述 [J]. *药学研究*, 2020, 39(5): 249-255.
- [13] 王贝, 赵雨航, 王乐伟, 等. 柚皮苷通过调节小胶质细胞极化对 APP^{swe}/PS1^{dE9} 双转基因小鼠的认知功能影响 [J]. *中国比较医学杂志*, 2021, 31(2): 1-7.
- [14] 李风波, 孙晓雷, 马剑雄, 等. 柚皮苷对破骨细胞分化的影响 [J]. *中国中药杂志*, 2015, 40(2): 308-312.
- [15] 孟娜娜, 白里雪, 李鑫鑫, 等. 柚皮苷对糖尿病及其并发症作用机制的研究进展 [J]. *药物评价研究*, 2017, 40(4): 560-565.
- [16] Liu Y, Wu H, Nie Y C, *et al.* Naringin attenuates acute lung injury in LPS-treated mice by inhibiting NF- κ B pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2011, 11(10): 1606-1612.
- [17] Butt Y, Kurdowska A, Allen T C. Acute lung injury: A clinical and molecular review [J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2016, 140(4): 345-350.
- [18] Huertas A, Guignabert C, Barberà J A, *et al.* Pulmonary vascular endothelium: The orchestra conductor in respiratory diseases: Highlights from basic research to therapy [J]. *Eur Respir J*, 2018, 51(4): 1700745.
- [19] Wang L L, Wang J, Zhu X D, *et al.* Aquaporins in respiratory system [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2023, 1398: 137-144.
- [20] Kellner M, Noonepalle S, Lu Q, *et al.* ROS Signaling in the pathogenesis of acute lung injury (ALI) and acute respiratory distress syndrome (ARDS) [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 967: 105-137.
- [21] Di A, Mehta D, Malik A B. ROS-activated calcium signaling mechanisms regulating endothelial barrier function [J]. *Cell Calcium*, 2016, 60(3): 163-171.
- [22] Yadav E, Yadav N, Hus A. Aquaporins in lung health and disease: Emerging roles, regulation, and clinical implications [J]. *Respir Med*, 2020, 174: 106193.
- [23] Schulte D, Küppers V, Dartsch N, *et al.* Stabilizing the VE-cadherin-catenin complex blocks leukocyte extravasation and vascular permeability [J]. *EMBO J*, 2011, 30(20): 4157-4170.

[责任编辑 高源]