

# 黄桷树叶总黄酮提取物对脓毒症小鼠肝、肺的保护作用研究

张雪梅\*, 晏洁, 李施慧, 刘祥云, 马灵莉, 项青青, 白群华#

重庆医科大学公共卫生学院, 重庆

收稿日期: 2023年12月27日; 录用日期: 2024年1月24日; 发布日期: 2024年1月31日

## 摘要

目的: 了解不同浓度黄桷树叶总黄酮提取物(FLA)对脂多糖(LPS)诱导的脓毒症小鼠肝、肺损伤的保护作用。方法: 将SPF级C57/6J雄性小鼠随机分成对照组(CON组)、LPS模型组(LPS组)、LPS + 40 mg/kg FLA组(LPS + FLA-L组)和LPS + 80 mg/kg FLA组(LPS + FLA-H组), 每组6只。适应性喂养一周, 再分别灌胃生理盐水和不同浓度FLA一周后, CON组腹腔注射PBS缓冲液, 其余组均腹腔注射10 mg/kg LPS诱导建立脓毒症小鼠模型, 腹腔注射12小时后进行血清和肝、肺组织的收集。ELISA检测血清中炎症因子IL-6和TNF- $\alpha$ 的含量; HE染色观察肝、肺组织的病理情况; 试剂盒检测血清ALT和AST水平; RT-qPCR检测肝、肺组织中炎症因子水平。结果: LPS + FLA-L组和LPS + FLA-H组均能逆转LPS导致的血清促炎因子IL-6 (从 $507.00 \pm 121.43$ 降至 $348.46 \pm 87.65$ 和 $310.13 \pm 68.62$  pg/ml)和TNF- $\alpha$  (从 $364.60 \pm 68.60$ 降至 $245.22 \pm 58.94$ 和 $192.14 \pm 35.85$  pg/ml)的升高( $n = 4, P < 0.05$ ), 减轻肝、肺组织的病理损伤, 降低血清ALT (从 $168.42 \pm 38.21$ 降至 $111.62 \pm 34.86$ 和 $94.58 \pm 19.96$  U/L)和AST (从 $361.32 \pm 56.99$ 降至 $250.01 \pm 57.50$ 和 $225.01 \pm 61.79$  U/L)水平( $n = 4, P < 0.05$ ), 下调肝、肺组织的促炎因子(IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8和TNF- $\alpha$ )水平( $n = 6, P < 0.05$ ), 除了LPS + FLA-L组和LPS组的肺组织TNF- $\alpha$ 水平之间没有统计学意义( $n = 6, P > 0.05$ )。结论: 黄桷树叶总黄酮提取物能有效改善LPS诱导的脓毒症小鼠炎症失衡和肝、肺损伤。

## 关键词

黄桷树叶总黄酮提取物, 脓毒症, 脂多糖, 预防治疗

## Protective Effect of Total Flavonoids Extract from the Leaves of *Ficus lacor* on Liver and Lung of Mice with Sepsis

Xuemei Zhang\*, Jie Yan, Shihui Li, Xiangyun Liu, Lingli Ma, Qingqing Xiang, Qunhua Bai#

\*第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 张雪梅, 晏洁, 李施慧, 刘祥云, 马灵莉, 项青青, 白群华. 黄桷树叶总黄酮提取物对脓毒症小鼠肝、肺的保护作用研究[J]. 临床医学进展, 2024, 14(1): 1982-1990. DOI: 10.12677/acm.2024.141279

## Abstract

**Objective:** To investigate the protective effects of different concentrations of total flavonoids extract from the leaves of *Ficus lacor* (FLA) on liver and lung injury induced by lipopolysaccharide (LPS) in mice with sepsis. **Methods:** SPF grade C57/6J male mice were randomly divided into control group (CON group), LPS model group (LPS group), LPS + 40 mg/kg FLA group (LPS + FLA-L group) and LPS + 80 mg/kg FLA group (LPS + FLA-H group), with 6 mice in each group. After one week of adaptive feeding, and then one week of intragastric administration of normal saline and different concentrations of FLA, CON group was intraperitoneally injected with PBS buffer, and other groups were intraperitoneally injected with 10 mg/kg LPS to induce the establishment of sepsis mouse model. Serum, liver and lung tissues were collected 12 hours after intraperitoneal injection. Serum levels of inflammatory cytokines IL-6 and TNF- $\alpha$  were detected by ELISA. The pathological conditions of liver and lung were observed by HE staining. Serum ALT and AST levels were detected by the kit. The levels of inflammatory factors in liver and lung tissues were detected by RT-qPCR. **Results:** Both LPS + FLA-L and LPS + FLA-H groups could reverse the increase of serum pro-inflammatory factors IL-6 (reduced from  $507.00 \pm 121.43$  to  $348.46 \pm 87.65$  and  $310.13 \pm 68.62$  pg/ml) and TNF- $\alpha$  (reduced from  $364.60 \pm 68.60$  to  $245.22 \pm 58.94$  and  $192.14 \pm 35.85$  pg/ml) induced by LPS ( $n = 4$ ,  $P < 0.05$ ), alleviate the pathological injury of liver and lung tissue, reduce the levels of serum ALT (reduced from  $168.42 \pm 38.21$  to  $111.62 \pm 34.86$  and  $94.58 \pm 19.96$  U/L) and AST (reduced from  $361.32 \pm 56.99$  to  $250.01 \pm 57.50$  and  $225.01 \pm 61.79$  U/L) ( $n = 4$ ,  $P < 0.05$ ), and down-regulated the levels of proinflammatory factors (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 and TNF- $\alpha$ ) in liver and lung tissue ( $n = 4$ ,  $P < 0.05$ ), there was no statistical significance between TNF- $\alpha$  levels in lung tissues except LPS + FLA-L and LPS groups ( $n = 6$ ,  $P > 0.05$ ). **Conclusion:** The total flavone extract from leaves of *Ficus virens* can effectively improve the inflammation imbalance and liver and lung injury induced by LPS in mice with sepsis.

## Keywords

Total Flavonoids Extract from the Leaves of *Ficus lacor*, Sepsis, Lipopolysaccharide, Preventive Treatment

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

脓毒症(sepsis)是一种危及生命的器官功能障碍,由机体对感染的反应失调引起,其死亡率接近 60% [1]。脓毒症表现为对感染的全身炎症反应综合征,是全球死亡的主要原因之一[2]。多器官功能衰竭是导致脓症患者死亡的重要原因之一,器官功能障碍的严重程度往往决定脓毒症的预后[3] [4]。在脓毒症过程中,过量的促炎细胞因子分泌到外周血液和器官中,导致组织缺氧、代谢衰竭,最终导致多器官功能障碍和死亡[5]。因此,具有有效抗炎特征和靶向多器官的化合物将有益于脓毒症治疗。

黄桷树为桑科榕属植物,在中国分布范围广,资源丰富。1986年,重庆市宣布将其作为市树[6]。黄桷树叶多用于民间经验用药,《生草药性备要》和《全国中草药汇编》记录其能消炎止痛,治跌打肿痛

[7]。我们的前期研究发现黄桷树叶总黄酮提取物(total flavonoids extract from the leaves of *Ficus lacor*, FLA)在体外具有抗炎、抗氧化等多种药理特性[8] [9]。但现代对黄桷树叶的药用价值研究不多,尚无对其药效进行系统科学的研究报道。本文研究了黄桷树叶总黄酮提取物(FLA)对脂多糖(LPS)诱导的脓毒症小鼠肝、肺组织病理变化及其炎症的影响。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 实验动物

24只实验小鼠购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司(许可证号:SCXK(湘)2019-0004;质量合格证号:430727230100805565),均为SPF级C57/6J雄性小鼠,7~8周龄(21~24g)。饲养于重庆医科大学动物中心SPF级动物代养室,温度22℃~24℃,湿度50%~60%,12h明暗循环(动物伦理审查批号:IACUC-CQMU-2023-09035)。

### 2.2. 实验药物

黄桷树叶采自重庆医科大学校园内,按课题组前期方法[8]制备总黄酮提取物。方法为:将成熟的黄桷树叶洗净、烘干、粉碎、过筛。称取适量过筛后的粉末,按1:50g/ml的比例加入60%乙醇溶液,于25℃下用功率420W超声波作用20min总黄酮。将得到的提取液再经过滤、萃取、浓缩后,再进行大孔树脂纯化、冷冻干燥,将干燥后的粉末溶于生理盐水后,使用芦丁标准品(GlpBio,美国)对溶液中黄酮进行定量。然后将溶液配成以芦丁计2.93mg/ml和5.86mg/ml的黄酮溶液进行小鼠灌胃治疗。

### 2.3. 主要试剂与仪器

LPS(Sigma,美国,批号:L2630)。IL-6和TNF- $\alpha$ 的ELISA试剂盒(Elabscience,武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司)。谷丙转氨酶(ALT)试剂盒、谷草转氨酶(AST)试剂盒(Abbkine,美国)。多聚甲醛(成都市科龙化工试剂厂);氯仿(重庆川东化工有限公司);异丙醇(重庆川东化工有限公司);无水乙醇(重庆川东化工有限公司);TRIzol Reagent(GlpBio,美国);PrimeScript<sup>TM</sup> RT Master Mix (TaKaRa,日本);TB Green Premix Ex Taq<sup>TM</sup> II (TaKaRa,日本)。旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);CFX Connect<sup>TM</sup> Real-Time PCR仪(Bio-Rad,美国);T100<sup>TM</sup> ThermoCycle PCR仪(Bio-Rad,美国)。

### 2.4. 方法

#### 2.4.1. 动物实验设计

将小鼠适应性喂养1周后,随机分成4组( $n=6$ ):对照组(CON组)、LPS模型组(LPS组)、LPS+40mg/kg FLA组(LPS+FLA-L组)和LPS+80mg/kg FLA组(LPS+FLA-H组)。CON组和LPS组每天生理盐水灌胃,LPS+FLA-L组和LPS+FLA-H组分别每天灌胃40mg/kg和80mg/kg的黄桷树叶总黄酮提取物。灌胃7天后,CON组腹腔注射PBS缓冲液,其余组均腹腔注射10mg/kg LPS。腹腔注射12小时后进行血清和肝、肺组织的收集。

#### 2.4.2. 酶联免疫吸附实验(ELISA)检测血清中IL-6和TNF- $\alpha$ 含量

收集小鼠眼球血,室温放置30分钟后,4℃条件下3500r/min $\times$ 15in获得血清。根据试剂生厂商的说明书,使用ELISA试剂盒测定小鼠血清中IL-6和TNF- $\alpha$ 水平。

#### 2.4.3. 组织病理学

小鼠肝、肺组织固定在4%多聚甲醛中,脱水后,用石蜡包埋并切割成切片。用苏木精和伊红染色,然后在显微镜下观察肝、肺组织的病理情况。

#### 2.4.4. 生化实验

根据试剂商的说明使用试剂盒测定小鼠血清中 ALT 和 AST 水平。

#### 2.4.5. 实时荧光定量 PCR (RT-qPCR)检测相关炎症因子

RT-qPCR 法检测肝、肺组织中 IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8 和 TNF- $\alpha$  在 mRNA 上的表达水平。所使用的引物序列如下：

Gene	Forward primer sequences(5'-3')	Reverse primer sequences (5'-3')
<i>GAPDH</i>	TGGCCTCCGTGTTCTAC	GAGTTGCTGTTGAAGTCGCA
IL-1 $\beta$	GAAATGCCACCTTTTGACAGTG	TGGATGCTCTCATCAGGACAG
IL-6	CTGCAAGAGACTTCCATCCAG	AGTGGTATAGACAGGTCTGTTGG
IL-8	TTGTCAGCAAGGAGTTCT	TAGAGGGTAGTAGAGGTGTT
TNF- $\alpha$	CATCTTCTCAAATTCGAGTGACAA	TGGGAGTAGACAAGGTACAACCC

#### 2.4.6. 统计学方法

实验数据均用均数  $\pm$  标准误差表示。统计分析和作图使用了 GraphPad Prism 9.5.0。使用单因素方差分析检测各组间的显著差异，当  $P < 0.05$  时认为具有统计学意义。

### 3. 结果

#### 3.1. FLA 对 LPS 诱导的脓毒症小鼠的保护作用

血清中 IL-6 和 TNF- $\alpha$  的表达水平代表了机体的炎症程度。ELISA 结果显示，LPS 刺激小鼠 12 h 后，小鼠血清中 IL-6 ( $507.00 \pm 121.43$  pg/ml) 和 TNF- $\alpha$  ( $364.60 \pm 68.60$  pg/ml) 的水平较 CON 组的 IL-6 ( $100.96 \pm 25.97$  pg/ml) 和 TNF- $\alpha$  ( $92.00 \pm 17.83$  pg/ml) 的水平 ( $n = 4, P < 0.05$ )；而与 LPS 组相比，低浓度和高浓度 FLA 的干预都有效抑制了血清中 IL-6 (分别是  $348.46 \pm 87.65$  和  $310.13 \pm 68.62$  pg/ml) 和 TNF- $\alpha$  (分别是  $245.22 \pm 58.94$  和  $192.14 \pm 35.85$  pg/ml) 的产生 ( $n = 4, P < 0.05$ ) (见图 1)。

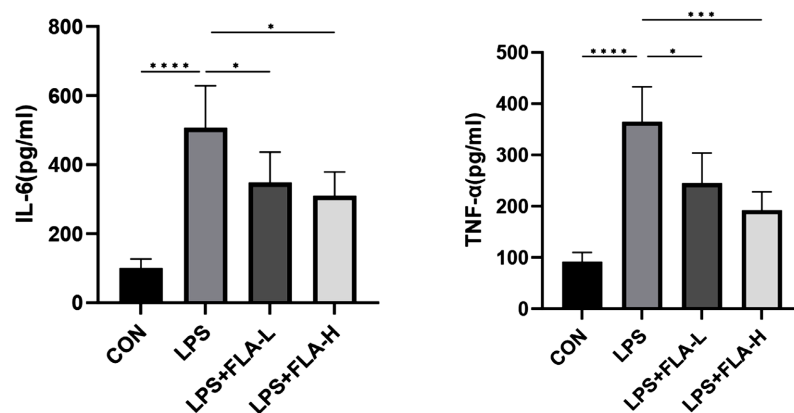


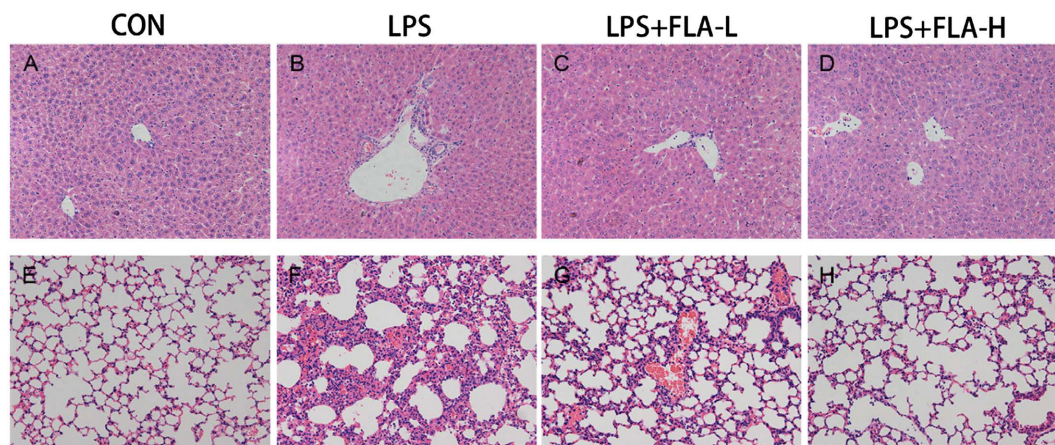
Figure 1. The expression level of IL-6 and TNF- $\alpha$  in serum

图 1. 血清中 IL-6 和 TNF- $\alpha$  的表达水平

#### 3.2. 肝、肺组织病理学变化

HE 结果显示，CON 组小鼠的肝组织表现出正常的肝细胞和完整的肝组织结构，而 LPS 组小鼠出现

严重的肝小叶结构破坏、肝组织出血、空泡变形和炎症细胞浸润，用 FLA 治疗的小鼠肝组织显示出明显的肝损伤，炎症细胞浸润较少；与 CON 组相比，LPS 组小鼠的肺组织充血、炎症细胞浸润、肺泡结构破坏并伴有肺泡数量减少，而 FLA 给药可明显改善 LPS 引起的肺损伤(见图 2)。



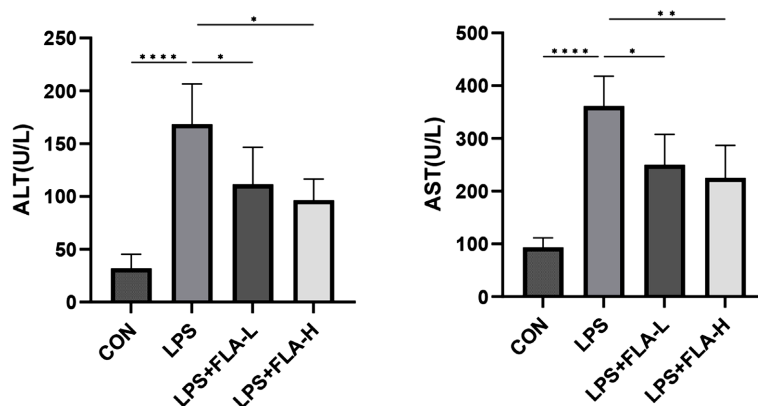
A~D: 肝组织切片 HE 染色；E~H: 肺组织切片 HE 染色；A、E: CON 组；B、F: LPS 组；C、G: LPS + FLA-L 组；D、H: LPS + FLA-H 组。

**Figure 2.** HE staining of liver and lung tissue sections ( $\times 200$ )

**图 2.** 肝、肺组织切片 HE 染色( $\times 200$ )

### 3.3. FLA 对 LPS 诱导的脓毒症小鼠肝功的影响

血清 ALT 和 AST 水平反映了肝细胞损伤和肝功能障碍。与 CON 组的血清 ALT 和 AST (分别是  $31.99 \pm 13.30$  和  $93.48 \pm 17.86$  U/L)相比，LPS 刺激导致小鼠血清 ALT ( $168.42 \pm 38.21$  U/L)和 AST ( $361.32 \pm 56.99$  U/L)的水平显著增加( $n = 4, P < 0.05$ )，FLA 的干预明显降低了血清 ALT (分别是  $111.62 \pm 34.86$  和  $94.58 \pm 19.96$  U/L)和 AST (分别是  $250.01 \pm 57.50$  和  $225.01 \pm 61.79$ )表达水平( $n = 4, P < 0.05$ ) (见图 3)。这些结果表明，FLA 对逆转脓毒症相关的肝功能障碍具有有益的作用。



**Figure 3.** Serum ALT and AST levels

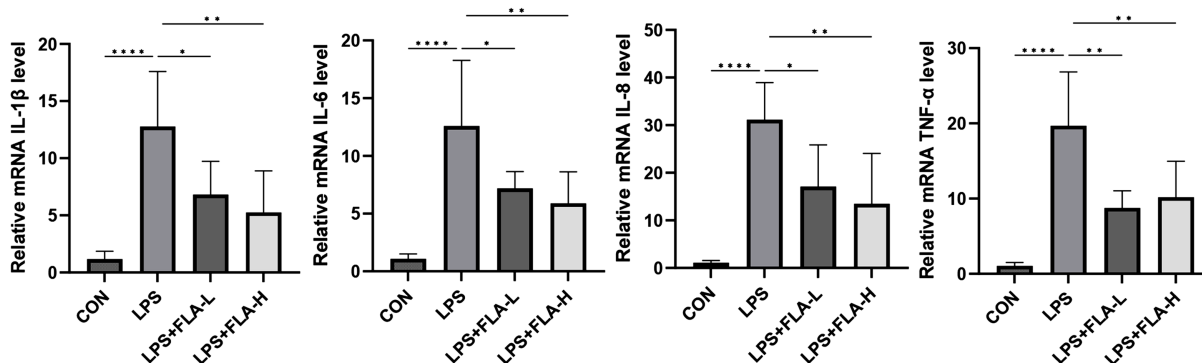
**图 3.** 血清 ALT 和 AST 水平

### 3.4. FLA 对肝脏炎症细胞因子表达水平的影响

采用 RT-qPCR 方法检测小鼠肝脏组织炎症因子(IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8 和 TNF- $\alpha$ )的含量水平，从而判断



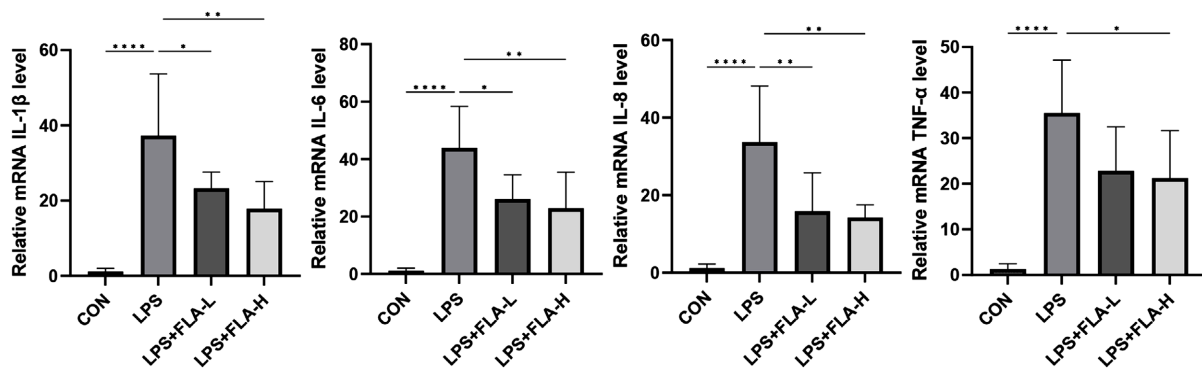
小鼠肝脏组织炎症的严重程度。RT-qPCR 结果表明, LPS 组小鼠肝脏组织炎症水平显著高于 CON 组( $n = 6, P < 0.05$ ), 而高浓度和低浓度的 FLA 都可有效抑制炎症因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8 和 TNF- $\alpha$  的表达( $n = 6, P < 0.05$ ), 且高浓度 FLA 组的预防治疗效果较低浓度 FLA 组的更加显著(见图 4)。



**Figure 4.** Expression of inflammatory cytokines in liver  
**图 4.** 肝脏炎症细胞因子表达情况

### 3.5. FLA 对肺炎症细胞因子表达水平的影响

RT-qPCR 检测结果显示, LPS 刺激后显著上调了炎症细胞因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8 和 TNF- $\alpha$  的 mRNA 表达( $n = 6, P < 0.05$ ), 相比之下, FLA 给药显著降低了这些细胞因子的 mRNA 水平( $n = 6, P < 0.05$ ), 且表现出了不明显的剂量效应, 除了 LPS + FLA-L 组的 TNF- $\alpha$  水平与 LPS 组的差异没有统计学意义(见图 5)。图 5 的所有数据汇总见表 1。



**Figure 5.** Expression of inflammatory cytokines in the lung  
**图 5.** 肺炎症细胞因子表达情况

**Table 1.** Summary

**表 1.** 汇总

	CON 组	LPS 组	LPS + FLA-L 组	LPS + FLA-H 组
血清 IL-6 (pg/ml)	100.96 ± 25.97****	507.00 ± 121.43	348.46 ± 87.65*	310.13 ± 68.62*
血清 TNF- $\alpha$ (pg/ml)	92.00 ± 17.83****	364.60 ± 68.60	245.22 ± 58.94*	192.14 ± 35.85****
血清 ALT (U/L)	31.99 ± 13.30****	168.42 ± 38.21	111.62 ± 34.86*	94.58 ± 19.96*
血清 AST (U/L)	93.48 ± 17.86****	361.32 ± 56.99	250.01 ± 57.50*	225.01 ± 61.79**

续表

肝 IL-1 $\beta$	1.17 $\pm$ 0.69****	12.77 $\pm$ 4.82	6.83 $\pm$ 2.90*	5.25 $\pm$ 3.64**
肝 IL-6	1.08 $\pm$ 0.43****	12.60 $\pm$ 5.68	7.19 $\pm$ 1.44*	5.90 $\pm$ 2.72**
肝 IL-8	1.09 $\pm$ 0.47****	31.16 $\pm$ 7.77	17.11 $\pm$ 8.75*	13.49 $\pm$ 10.59**
肝 TNF- $\alpha$	1.07 $\pm$ 0.43****	19.69 $\pm$ 7.15	8.75 $\pm$ 2.29**	10.20 $\pm$ 4.78**
肺 IL-1 $\beta$	1.18 $\pm$ 0.85****	37.27 $\pm$ 16.39	23.30 $\pm$ 4.29*	17.86 $\pm$ 7.22**
肺 IL-6	1.23 $\pm$ 0.86****	43.98 $\pm$ 14.39	26.12 $\pm$ 8.43*	22.95 $\pm$ 12.48**
肺 IL-8	1.25 $\pm$ 1.02****	33.72 $\pm$ 14.48	15.88 $\pm$ 9.87**	14.28 $\pm$ 3.25**
肺 TNF- $\alpha$	1.31 $\pm$ 1.09****	35.51 $\pm$ 11.60	22.83 $\pm$ 9.65	21.28 $\pm$ 10.36*

#### 4. 讨论

脓毒症可由感染、烧伤或外伤引起，由于对感染不受控制的全身炎症反应，会引起多个功能器官的功能障碍和损伤，严重时可能危及生命[10]。尽管已经开展了大量研究来探讨脓毒症的发病机制和治疗，但脓毒症导致器官功能障碍和损伤的具体机制非常复杂，目前尚无专门针对脓毒症的药物获批[11]。脓毒症的治疗仍是非特异性的，且脓毒症在世界范围内的发病率和死亡率都很高，死亡率在 15%到 56%之间[12][13]。由于脓毒症发展过程中的全身炎症和免疫反应涉及许多因素，因此具有各种生物活性和多个靶器官的天然提取物在脓毒症治疗中可能比具有特定靶点的合成药物更有效。基于这一特性，近年来，中医药被广泛用于预防和治疗脓毒症。

黄酮类化合物是一类多酚类生物活性化合物，是植物的次生代谢产物，具有广泛的化学结构和性质[14]。研究表明，黄酮类化合物具有许多特性，包括抗氧化、抗炎、镇痛、抗增殖、抗癌、抗血管生成、抗微生物、抗病毒和抗疟疾特性以及神经保护活性，对许多感染性疾病(细菌性疾病和病毒性疾病)和退行性疾病(如心血管疾病、癌症和其他与年龄相关的疾病)具有保护作用[15]。众所周知，黄酮类化合物具有良好的抗炎特性。在黄酮类化合物中，芹菜素被证明可以降低 TNF- $\alpha$  诱导的稳态 mRNA 水平，从而降低细胞间粘附分子-1 (ICAM-1)、E-选择素和血管细胞粘附分子-1 (VCAM-1)在内皮细胞上的表达[16]。儿茶素和槲皮素可以通过联合抑制 IL-35 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  来增强 IL-10 (一种抗炎化合物)的产生[17]。据报道，黄酮类化合物能够抑制诱导型一氧化氮合酶、环氧合酶和脂氧合酶亚型的表达，这些亚型负责产生大量的一氧化氮、前列腺素类化合物、白三烯和其他炎症过程介质，如细胞因子、趋化因子或粘附分子[18]。此外，黄酮类化合物能螯合铁并抑制补体系统激活，从而降低炎症[19]。

黄桉树为桑科榕属植物，在中国分布范围广，《全国中草药汇编》和《中华本草》中有记载黄桉树的根、叶均可入药。在经验性用药中，黄桉树叶多用于消炎止痛，外用治跌打肿痛[7]。但现代对黄桉树叶的药用价值研究不多，尚无对其药效进行系统科学的研究报道。我们的前期研究发现黄桉树叶中含有大量黄酮类物质，且所得到的黄酮类化合物能够明显抑制脂多糖诱导的 BV-2 小胶质细胞的活化和炎症相关因子 NO、IL-1 $\beta$  的分；以及具有保护鱼藤酮诱导的 A549 细胞损伤的作用[8][9]。

脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)是脓毒症和脓毒性休克中最常见的微生物介质，它是革兰氏阴性菌的主要成分[20]。通常使用腹腔注射 LPS 造成全身炎症，来建立脓毒症动物模型。一旦宿主细胞识别 LPS，它们就会释放促炎细胞因子，包括肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素(ILs) [21]。如果促炎介质和抗炎介质之间发生不平衡，发生炎症反应失调，不同器官系统的功能就会受到损害[22]。一般来说，呼吸系统是第一个发生故障的系统，其次是肝、肾、心脏等系统。衰竭器官的数量与脓毒症患者的死亡率密切相关

关[23]。失控的炎症反应在脓毒症的发生中起着关键作用[24]。因此，有效的炎症控制是脓毒症治疗的重要组成部分。此外，研究发现减少这些细胞因子的分泌可延缓脓毒症的发展，并降低脓毒症患者的死亡率[25]。本研究采用腹腔注射 LPS 建立脓毒症小鼠模型，提前使用 FLA 进行预防，观察不同浓度的 FLA 对脓毒症小鼠的保护作用。与许多研究结果一致，LPS 造模导致小鼠血清 IL-6 和 TNF- $\alpha$  水平明显升高，而本研究显示 FLA 干预可有效降低 LPS 诱导的血清 IL-6 和 TNF- $\alpha$  水平升高。

肺是脓毒症中最常见的受损器官，在脓毒症相关并发症中，肺炎最常见，约占所有病例的一半[26]。细胞浸润和促炎介质的释放导致急性肺损伤的发展，其特征是水肿、出血和肺泡壁破坏，炎性细胞在脓毒性条件下严重浸润[27]。在这项研究中，我们观察到 LPS 组的肺组织变性、血管充血、炎症细胞浸润、肺泡结构破坏并伴有肺泡数量减少。而 FLA 给药可明显改善 LPS 导致的肺损伤，且以高剂量 FLA 效果最好。本研究结果显示，当脓毒症发生时，肺组织中多种炎症因子如 IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8 和 TNF- $\alpha$  的基因表达量是显著升高的，我们发现 FLA 预处理明显降低了 LPS 诱导的炎症因子的 mRNA 表达升高。肝脏是最重要的器官之一，许多临床研究认为脓毒性肝功能障碍是多器官功能障碍综合征的另一个主要组成部分，这会导致脓毒性严重程度和不良结局[28]。本研究显示，FLA 处理组的肝脏组织学结构基本正常。LPS 组表现为肝变性、局灶性坏死、炎症细胞浸润、血管充血。众所周知，ALT 和 AST 升高是肝功能损伤的一个指标，提示肝细胞坏死的急性程度。我们的结果表明，与 LPS 给药相比，FLA 干预显著降低了循环中的 ALT 和 AST 水平，表明 FLA 改善了脓毒症小鼠的肝功能，在保护肝脏方面具有有利作用。本研究 qPCR 结果显示，LPS 模型组小鼠肝脏 IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8 和 TNF- $\alpha$  的 mRNA 表达水平显著高于对照组，而 FLA 可有效抑制促炎因子的高表达，达到预防缓解肝脏炎症的效果。

## 5. 结论

综上，本研究初步证明黄桷树叶总黄酮提取物对脓毒症的预防保护效果，结果显示两种浓度的 FLA 均能有效改善 LPS 诱导的脓毒症小鼠的炎症失衡和肝、肺损伤，但研究不够深入，可为后续研究奠定一定的基础。

## 基金项目

重庆医科大学公共卫生学院第二届“公卫菁英”项目(No. GWJY2022sy002)。

## 参考文献

- [1] Singer, M., Deutschman, C.S., Seymour, C.W., *et al.* (2016) The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*, **315**, 801-810. <https://doi.org/10.1001/jama.2016.0287>
- [2] Srzić, I., Nesek Adam, V. and Tunjić Pejak, D. (2022) Sepsis Definition: What's New in the Treatment Guidelines. *Acta Clinica Croatica*, **61**, 67-72. <https://doi.org/10.20471/acc.2022.61.s1.11>
- [3] 陈芳芳, 娄高彦, 朱利华, 等. 脓症患者继发多器官功能障碍综合征的影响因素[J]. 中国民康医学, 2023, 35(18): 18-20, 24.
- [4] 汪媛, 雷建卫, 宣向飞. CRRT 联合血液灌流治疗对脓毒血症合并多器官功能衰竭患者预后的影响[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(5): 679-681.
- [5] Gourd, N.M. and Nikitas, N. (2020) Multiple Organ Dysfunction Syndrome. *Journal of Intensive Care Medicine*, **35**, 1564-1575. <https://doi.org/10.1177/0885066619871452>
- [6] 刘永红. 黄葛树叶药效成分的提取及体内代谢初步研究[D]: [硕士学位论文]. 重庆: 重庆医科大学, 2020.
- [7] 周燕青, 刘永红, 李艳婷, 等. HPLC-PDA 测定黄桷树叶提取液中绿原酸和芦丁的含量(英文)[J]. 中国药学(英文版), 2023, 32(1): 45-51.
- [8] 赖凤, 李琪莹, 杨蕊菡, 等. 黄桷树叶黄酮的提取纯化及抗 BV-2 细胞炎性活化的作用研究[J]. 重庆医学, 2019,



- 48(4): 554-558, 563.
- [9] 汪洋, 胡魁, 陈玲, 等. 黄桷树叶总黄酮提取物对 A549 细胞的保护作用研究[J]. 重庆医学, 2017, 46(16): 2178-2182.
- [10] Huang, M., Cai, S. and Su, J. (2019) The Pathogenesis of Sepsis and Potential Therapeutic Targets. *International Journal of Molecular Sciences*, **20**, Article 5376. <https://doi.org/10.3390/ijms20215376>
- [11] Ackerman, M.H., Ahrens, T., Kelly, J. and Pontillo, A. (2021) Sepsis. *Critical Care Nursing Clinics of North America*, **33**, 407-418. <https://doi.org/10.1016/j.cnc.2021.08.003>
- [12] Bauer, M., Gerlach, H., Vogelmann, T., et al. (2020) Mortality in Sepsis and Septic Shock in Europe, North America and Australia between 2009 and 2019—Results from a Systematic Review and Meta-Analysis. *Critical Care*, **24**, Article No. 239. <https://doi.org/10.1186/s13054-020-02950-2>
- [13] Salomão, R., Ferreira, B.L., Salomão, M.C., et al. (2019) Sepsis: Evolving Concepts and Challenges. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **52**, e8595. <https://doi.org/10.1590/1414-431x20198595>
- [14] Al-Khayri, J.M., Sahana, G.R., Nagella, P., et al. (2022) Flavonoids as Potential Anti-Inflammatory Molecules: A Review. *Molecules*, **27**, Article 2901. <https://doi.org/10.3390/molecules27092901>
- [15] Sun, Q., Liu, Q., Zhou, X., et al. (2022) Flavonoids Regulate Tumor-Associated Macrophages—From Structure-Activity Relationship to Clinical Potential (Review). *Pharmacological Research*, **184**, Article ID: 106419. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2022.106419>
- [16] Salehi, B., Venditti, A., Sharifi-Rad, M., et al. (2019) The Therapeutic Potential of Apigenin. *International Journal of Molecular Sciences*, **20**, Article 1305. <https://doi.org/10.3390/ijms20061305>
- [17] Josiah, S.S., Famusiwa, C.D., Crown, O.O., et al. (2022) Neuroprotective Effects of Catechin and Quercetin in Experimental Parkinsonism through Modulation of Dopamine Metabolism and Expression of IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B, I $\kappa$ KB, and p53 Genes in Male Wistar Rats. *Neurotoxicology*, **90**, 158-171. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2022.03.004>
- [18] Santos, D.M.D., Da Silva, E.A.P., Oliveira, J.Y.S., et al. (2021) The Therapeutic Value of Hydralazine in Reducing Inflammatory Response, Oxidative Stress, and Mortality in Animal Sepsis: Involvement of the PI3K/AKT Pathway. *Shock*, **56**, 782-792. <https://doi.org/10.1097/SHK.0000000000001746>
- [19] De Oliveira Rodrigues Junior, E., De Santana, I.R., Durço, A.O., et al. (2023) The Effects of Flavonoids in Experimental Sepsis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Phytotherapy Research*, **37**, 2531-2551. <https://doi.org/10.1002/ptr.7846>
- [20] Ciesielska, A., Matyjek, M. and Kwiatkowska, K. (2021) TLR4 and CD14 Trafficking and Its Influence on LPS-Induced Pro-Inflammatory Signaling. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **78**, 1233-1261. <https://doi.org/10.1007/s00018-020-03656-y>
- [21] Li, Y., Zhang, H., Chen, C., et al. (2022) Biomimetic Immunosuppressive Exosomes That Inhibit Cytokine Storms Contribute to the Alleviation of Sepsis. *Advanced Materials*, **34**, e2108476. <https://doi.org/10.1002/adma.202108476>
- [22] Chakraborty, R.K. and Burns, B. (2023) Systemic Inflammatory Response Syndrome. Stat Pearls, Treasure Island.
- [23] Liu, D., Huang, S.Y., Sun, J.H., et al. (2022) Sepsis-Induced Immunosuppression: Mechanisms, Diagnosis and Current Treatment Options. *Military Medical Research*, **9**, Article No. 56. <https://doi.org/10.1186/s40779-022-00422-y>
- [24] Li, Y.F., Sheng, H.D., Qian, J. and Wang, Y. (2022) The Chinese Medicine Babaodan Suppresses LPS-Induced Sepsis by Inhibiting NLRP3-Mediated Inflammasome Activation. *Journal of Ethnopharmacology*, **292**, Article ID: 115205. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115205>
- [25] Zhang, Y.Y. and Ning, B.T. (2021) Signaling Pathways and Intervention Therapies in Sepsis. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, **6**, Article No. 407.
- [26] Zhang, H., Liu, J., Zhou, Y., et al. (2022) Neutrophil Extracellular Traps Mediate m6A Modification and Regulates Sepsis-Associated Acute Lung Injury by Activating Ferroptosis in Alveolar Epithelial Cells. *International Journal of Biological Sciences*, **18**, 3337-3357. <https://doi.org/10.7150/ijbs.69141>
- [27] Kumar, V. (2020) Pulmonary Innate Immune Response Determines the Outcome of Inflammation during Pneumonia and Sepsis-Associated Acute Lung Injury. *Frontiers in Immunology*, **11**, Article 1722. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01722>
- [28] Jin, G.L., Liu, H.P., Huang, Y.X., et al. (2022) Koumine Regulates Macrophage M1/M2 Polarization via TSPO, Alleviating Sepsis-Associated Liver Injury in Mice. *Phytomedicine*, **107**, Article ID: 154484. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2022.154484>