

[文章编号] 1000-4718(2007)03-0495-05

## 小檗碱抗小鼠脂多糖性肺损伤的作用机制\*

张昊晴<sup>1</sup>, 邹鹏<sup>2</sup>, 王华东<sup>1Δ</sup>, 陆大祥<sup>1</sup>, 李梅爱<sup>3</sup>, 戚仁斌<sup>1</sup>, 王彦平<sup>1</sup>, 付咏梅<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>暨南大学医学院病理生理教研室, 国家中医药管理局三级科研实验室, <sup>2</sup>暨南大学华侨医院麻醉科, 广东广州 510632; <sup>3</sup>广州市儿童医院检验科, 广东广州 510120)

**[摘要]** 目的: 探讨小檗碱(Ber)对抗脂多糖(LPS)性急性肺损伤(ALI)的作用机制。方法: 雄性 BALB/c 小鼠随机分为对照组、ALI 组和 Ber 防治组, 分别予以双蒸水、Ber(50 mg/kg)灌胃, 1 次/d, 连续 3 d, 于实验第 3 d 灌胃后 1 h, 腹腔注射生理盐水或 LPS(20 mg/kg)。测定各组 12 h 肺湿/干重比值(W/D), 肺泡灌洗液(BALF)中微量总蛋白含量、白细胞(WBC)和中性粒细胞(PMN)总数; 观察肺组织病理改变及磷酸化胞浆型磷脂酶 A<sub>2</sub>(cPLA<sub>2</sub>) 在肺组织中的表达。进一步用酶联免疫吸附法(ELISA)测定 BALF 中血栓素 B<sub>2</sub>(TXB<sub>2</sub>) 的含量, 并测定肺组织丙二醛(MDA) 的含量和超氧化物歧化酶(SOD) 的活性。结果: ALI 组, LPS 攻击后 12 h 肺 W/D、BALF 中蛋白含量、WBC 及 PMN 总数显著高于对照组( $P < 0.05$ ); 病理检查发现肺间质充血、水肿, 大量炎性细胞浸润。免疫组织化学观察显示肺组织中磷酸化 cPLA<sub>2</sub> 的表达明显增加; 同时, BALF 中 TXB<sub>2</sub> 含量、肺组织 MDA 的含量显著高于对照组( $P < 0.05$ )。Ber 防治组, 肺 W/D、BALF 中蛋白含量、WBC 及 PMN 总数均明显低于 ALI 组; 与 ALI 组比较, Ber 防治组肺组织病理损伤明显减轻( $P < 0.05$ ); 而且, 肺组织中磷酸化 cPLA<sub>2</sub> 的表达明显减少( $P < 0.05$ ); BALF 中 TXB<sub>2</sub> 含量和肺组织 MDA 的含量显著低于 ALI 组。结论: 抑制肺组织 cPLA<sub>2</sub> 的磷酸化并对抗脂质过氧化损伤可能是 Ber 防治小鼠脂多糖性肺损伤的重要机制。

**[关键词]** 小檗碱; 脂多糖; 急性肺损伤; 胞浆型磷脂酶 A<sub>2</sub>; 小鼠; 丙二醛

**[中图分类号]** R363 **[文献标识码]** A

## Mechanisms for protection of berberine against LPS – induced acute lung injury in mice

ZHANG Hao – qing<sup>1</sup>, ZOU Peng<sup>2</sup>, WANG Hua – dong<sup>1</sup>, LU Da – xiang<sup>1</sup>, LI Mei – ai<sup>3</sup>, QI Ren – bin<sup>1</sup>, WANG Yan – ping<sup>1</sup>, FU Yong – mei<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> Department of Pathophysiology, <sup>2</sup> Department of Anesthesiology, The First Affiliated Hospital, Medical College of Jinan University, Guangzhou 510632, China; <sup>3</sup> Guangzhou Children's Hospital, Guangzhou 510120, China. E – mail: owanghd@jnu.edu.cn)

**[ABSTRACT]** **AIM:** To investigate the mechanisms by which berberine attenuates LPS – induced acute lung injury, and provide a new strategy for the treatment of the lung injury due to LPS. **METHODS:** BALB/c mice were randomly assigned into three groups (control, LPS group, and berberine treatment group). Mice were administered intragastrically with distilled water (0.1 mL/10 g) or neutral sulfate berberine (50 mg/kg) once a day for 3 days, 1 h after intragastrical treatment on day 3, LPS (20 mg/kg) or normal saline was injected intraperitoneally (ip). All animals were sacrificed 12 h after LPS injection, the left lung tissue sections were prepared for histology analysis and the right lung were used to determine the ratio of wet to dry lung tissue weight (W/D). In another experiment, bronchoalveolar lavage fluid (BALF) was collected, and then the total protein content, and the amounts of white blood cells (WBC) and polymorphonuclear neutrophils (PMN) in BALF were determined. Furthermore, the phosphorylation of cytosolic phospholipase A<sub>2</sub> (cPLA<sub>2</sub>) was detected with immunohistochemical analysis by using phospho – cPLA<sub>2</sub> (Ser505) antibody, and the contents of thromboxane B<sub>2</sub> (TXB<sub>2</sub>) in BALF, malondialdehyde (MDA) in the lungs, and activity of superoxide dismutase (SOD) in lung tissues were also determined. **RESULTS:** LPS induced acute lung injury, activated cPLA<sub>2</sub>, and increased TXB<sub>2</sub> content in the BALF and MDA level in the lung tissue. The pretreatment with berberine significantly attenuated lung injury, lung edema and protein leakage induced by intraperitoneal injection of LPS. The expression of phospho – cPLA<sub>2</sub> in the lung tissues and

[收稿日期] 2006-09-05 [修回日期] 2006-11-25

\* [基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (No. 30670826); 广东省自然科学基金重点项目 (No. 05103294); 广州市科技计划项目 (No. 2005J1 – C0352); 暨南大学重点实验室开放基金资助项目

Δ通讯作者 Tel: 020 – 85220269; E – mail: owanghd@jnu.edu.cn

TXB<sub>2</sub> content in the BALF in the berberine treatment group were lower than those in LPS group ( $P < 0.05$ ). In addition, the content of MDA in the lung tissue was lower in the berberine treatment group than LPS group ( $P < 0.05$ ), but there was no significant difference in activity of lung SOD between the berberine treatment and LPS group ( $P > 0.05$ ). **CONCLUSION:** Pretreatment with berberine remarkably reduces the LPS - induced lung injury, which is, at least in part, through inhibiting phosphorylation of cPLA<sub>2</sub> and decreasing lipid peroxidation. These findings provide a new strategy for the prevention and treatment of LPS - induced acute lung injury.

[**KEY WORDS**] Berberine; Lipopolysaccharide; Acute lung injury; Cytosolic phospholipase A<sub>2</sub>; Mice; Malondialdehyde

急性肺损伤(acute lung injury, ALI)是以大量中性粒细胞浸润,微血管和肺泡上皮广泛损伤,肺水肿及肺出血为病理特征的一种失控性炎症反应,是急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)的早期阶段。虽然近几年对ALI的发病机制有了进一步的了解,但ALI患者的死亡率仍高达30% - 40%<sup>[1]</sup>。因此,寻找有效的方法降低ALI患者的死亡率是临床上迫切需要解决的问题。

小檗碱(Berberine, Ber)为异喹啉类生物碱,是从毛茛科黄连属植物黄连的根茎中提取的主要有效成分,具有广谱抗病原菌的作用,对革兰氏阴性、阳性细菌、真菌及病毒等均有抑制或杀灭作用<sup>[2]</sup>。我们前期的研究发现,小檗碱能显著降低内毒素血症小鼠的死亡率,还能减轻革兰氏阴性细菌内毒素或脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)引起的肺损伤<sup>[3]</sup>,但其确切机制尚不清楚。另一方面,有研究表明,胞浆型磷脂酶A<sub>2</sub>(cytosolic phospholipase A<sub>2</sub>, cPLA<sub>2</sub>)和氧自由基在脂多糖引起的急性肺损伤中发挥重要的介导作用<sup>[4,5,8]</sup>。因此,本研究进一步观察小檗碱对脂多糖性肺损伤的防治作用,并从cPLA<sub>2</sub>和脂质过氧化物的角度探讨其作用机制,为临床治疗ALI提供新的思路。

## 材 料 和 方 法

### 1 实验动物

清洁级雄性BALB/c小鼠,6-8周龄,体重21-23g,购自广东省实验动物中心。

### 2 主要试剂与仪器

LPS(大肠杆菌055:B5),中性硫酸小檗碱均购自美国Sigma公司;丙二醛(malondialdehyde, MDA)测试盒、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)测试盒购自南京建成生物工程研究所;磷酸化胞浆型磷脂酶A<sub>2</sub>抗体[phospho-cPLA<sub>2</sub>(Ser505)antibody]购自Cell Signaling Technology公司;血栓素B<sub>2</sub>(TXB<sub>2</sub>)ELISA试剂盒购自R&D Systems;免疫组化用ABC试剂盒和DAB试剂盒购自福州迈新生物技术开发有限公司。主要仪器包括:7600-020型生

化自动分析仪(HITACHI);721型可见光分光光度计(上海第三分析仪器厂);Model550型酶标仪(美国BIO-RAD);BI2000图像分析系统(成都泰盟电子有限公司)。

### 3 方法

**3.1 实验分组及ALI模型建立** 将雄性BALB/c小鼠随机分为3组:对照组,LPS组与Ber防治组,每组10只。实验前将小鼠置于实验环境[温度(24±2)℃,相对湿度60%-80%]适应2-3d。分别以双蒸水(0.1mL/10g)或Ber(50mg/kg)灌胃,1次/d,连续3d,第3d灌胃后1h,腹腔注射生理盐水(NS,0.2mL/10g)或LPS(20mg/kg)。

**3.2 肺组织病理学检查** 各组小鼠腹腔注射NS或LPS后12h,处死小鼠,开胸取左肺,固定于10%甲醛溶液中,随后进行石蜡切片及常规HE染色,光学显微镜下观察肺组织病理改变。由同一个实验者在光镜下观察以下组织学特征:炎症细胞浸润和肺出血。并根据其严重程度进行病理评分:0=正常;1=25%的视野有损伤;2=50%的视野有损伤;3=75%的视野有损伤;4=弥漫性肺损伤<sup>[6]</sup>。

**3.3 肺湿/干重比值(W/D)测定** 各组小鼠腹腔注射NS或LPS后12h,留取右肺,用滤纸吸净表面血液,称肺湿重(W)后将肺组织置于80℃烤箱内烘烤72h至组织完全脱水,称肺干重(D),计算肺W/D值,以评价肺组织的水肿程度。

### 3.4 支气管肺泡灌洗(bronchoalveolar lavage, BAL)

各组小鼠腹腔注射NS或LPS后12h,戊巴比妥钠(50mg/kg,ip)麻醉小鼠,仰卧位固定,剪开颈部皮肤暴露气管,在环状软骨处剪开气管,插入20G静脉留置针,前端不超过胸骨上窝。以37℃无菌NS2mL分2次进行肺泡灌洗,回收肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)约1.8-1.9mL。BALF经4℃、1800r/min离心10min,吸取上清液分装置-80℃保存以测定微量总蛋白及TXB<sub>2</sub>含量;细胞沉渣加1mLNS悬浮,进行白细胞及中性粒细胞计数。

### 3.5 免疫组化分析磷酸化cPLA<sub>2</sub>在肺组织中的表

达 各组小鼠腹腔注射 NS 或 LPS 后 12 h, 留取左肺, 10% 甲醛溶液固定, 常规石蜡切片后用免疫组织化学方法分析肺组织中 cPLA<sub>2</sub> 磷酸化情况。并用 BI2000 图像分析系统记录阳性细胞数。

**3.6 肺组织中 MDA 含量及 SOD 活性的测定** 腹腔注射 NS 或 LPS 后 12 h, 立即处死小鼠取右肺匀浆, 测定肺组织中 MDA 含量及 SOD 活性, 具体操作按南京建成生物工程研究所试剂盒操作说明进行。

**4 统计学处理**

用 SPSS 13.0 统计软件分析。实验数据采用均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 多组间比较用 ANOVA (S - N - K), 两组间比较用 t 检验; 等级资料用 K Inde-

pendent Samples (Kruskal - Wallis H) 比较, 两组间比较用 Mann - Whitney, 检验水准  $\alpha = 0.05$ ,  $P < 0.05$  时, 认为差异有统计学意义。

**结 果**

**1 肺组织病理学改变**

光镜下观察, 可见对照组肺组织结构完整, 无出血、水肿; LPS 组可见大量炎性细胞浸润, 肺泡壁结构破坏、肺间质水肿, 片状出血灶、肺泡腔和间质可见大量红细胞; 与 LPS 相比, Ber 防治组肺泡结构损伤轻微, 间质水肿、炎性细胞浸润和出血均显著减轻 (见图 1)。组织学评分结果分析见表 1。

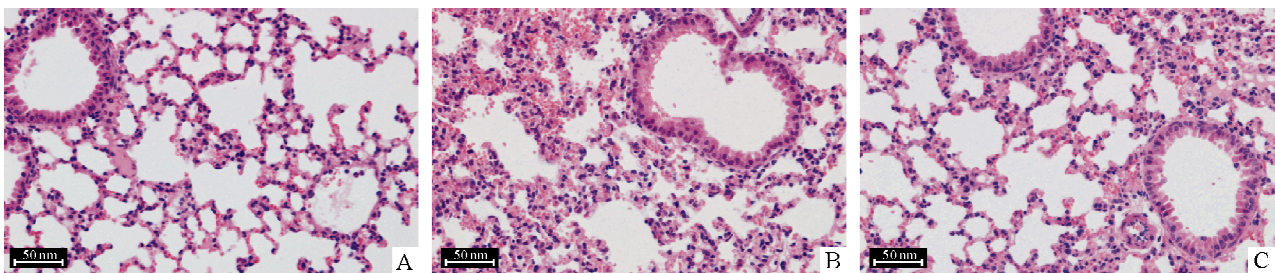


Fig 1 Histological changes in the lung of mice 12 h after LPS or normal saline injection (H&E staining, ×400). Scale bar 50 μm. A: control group; B: LPS group; C: Ber + LPS group.

图 1 小檗碱对脂多糖性肺损伤小鼠肺组织结构的影响

表 1 肺组织病理评分统计结果 (以平均秩表示)

Tab 1 The mean rank of lung histopathological score (n = 10)

Group	Inflammation	Hemorrhage
Control	6.75	7.50
LPS	23.00**	23.70**
Ber + LPS	16.75***	15.30**

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs control group; #  $P < 0.05$  vs LPS group.

**2 肺 W/D 比值的改变**

LPS 组 W/D 明显高于对照组 ( $P < 0.05$ ) 及 Ber 防治组 ( $P < 0.01$ ), 对照组与 Ber 防治组肺 W/D 无显著差异 ( $P > 0.05$ ), 见图 2。

**3 BALF 中白细胞 (WBC)、中性粒细胞 (PMN) 计数及微量总蛋白含量的变化**

从表 2 可以看出, LPS 组 BALF 中 WBC、PMN 计数及微量总蛋白含量明显高于对照组 ( $P < 0.01$ ); 而 Ber 防治组 WBC 总数、PMN 计数及微量总蛋白含量均明显低于 LPS 组 ( $P < 0.05$ ), 与对照组比较无明显差异 ( $P > 0.05$ )。

**4 磷酸化 cPLA<sub>2</sub> 在肺组织中的表达**

光镜下可见磷酸化 cPLA<sub>2</sub> 在胞浆中呈现浅棕色, 在表达多的部位, 如核膜, 呈现深棕色 (图 3)。LPS 组及 Ber 防治组磷酸化 cPLA<sub>2</sub> 阳性细胞数均高

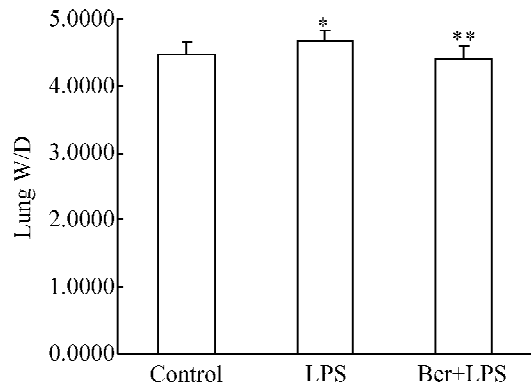


Fig 2 The effect of berberine on wet to dry weight ratio of lung 12 h after LPS (20 mg/kg) or normal saline injection in various groups.  $\bar{x} \pm s$ . n = 10. \*  $P < 0.05$  vs control group; \*\*  $P < 0.01$  vs LPS group.

图 2 小檗碱对脂多糖性肺损伤小鼠肺湿重/干重比值的影响

表 2 BALF 中 WBC、PMN 计数及蛋白含量

Tab 2 The amount of WBC and PMN and the level of protein in BALF 12 h after LPS or normal saline injection in various groups ( $\bar{x} \pm s$ . n = 10)

Group	WBC ( $\times 10^7/L$ )	PMN ( $\times 10^7/L$ )	Protein level (mg/L)
Control	32.8 ± 6.2	1.3 ± 2.4	17.40 ± 11.97
LPS	84.2 ± 39.9**	46.4 ± 33.2**	52.30 ± 49.34**
Ber + LPS	43.4 ± 24.1*	14.0 ± 10.2*	21.00 ± 9.67*

\*  $P < 0.05$  vs LPS group; \*\*  $P < 0.01$  vs control group.

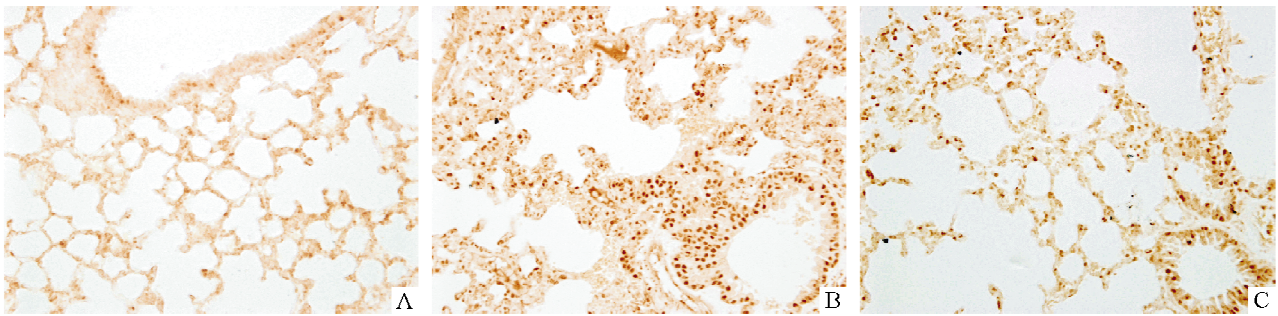


Fig 3 The immunohistochemical staining by using phosphor - cPLA<sub>2</sub> (Ser505) antibody in the lung tissue of mice 12 h after LPS or normal saline injection in various groups (×400). A; control group; B; LPS group; C; Ber + LPS group.

图3 各组小鼠肺组织磷酸化 cPLA<sub>2</sub> 的免疫组织化学染色

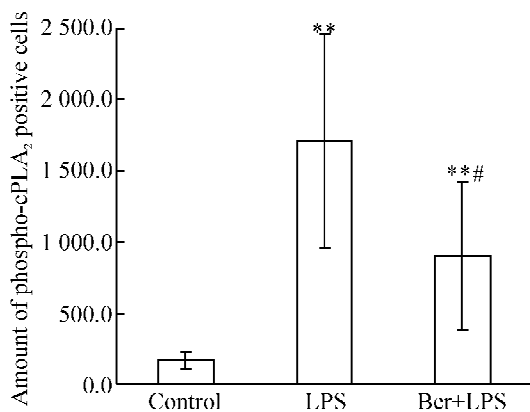


Fig 4 The effect of berberine on amount of phosphor - cPLA<sub>2</sub> (Ser505) positive cells in the lung 12 h after LPS or normal saline injection in various groups. \*\**P* < 0.01 vs control group; \**P* < 0.05 vs LPS group.  $\bar{x} \pm s$ . *n* = 10.

图4 小檗碱对脂多糖性肺损伤小鼠肺组织 cPLA<sub>2</sub> 磷酸化的影响

于对照组 (*P* < 0.01), 但 Ber 防治组磷酸化 cPLA<sub>2</sub> 阳性细胞数明显低于 LPS 组 (*P* < 0.05), 见图 4。

### 5 Ber 对脂多糖性肺损伤小鼠 BALF 中 TXB<sub>2</sub> 含量的影响

LPS 组 BALF 中 TXB<sub>2</sub> 的含量明显高于对照组 (*P* < 0.05), 而 Ber 防治组 TXB<sub>2</sub> 水平明显低于 LPS 组 (*P* < 0.05), Ber 防治组 BALF 中 TXB<sub>2</sub> 的含量与对照组比较无显著差异 (*P* > 0.05), 见图 5。

### 6 肺组织中 MDA 含量与 SOD 活性的变化

LPS 组肺组织中 MDA 含量明显高于对照组 (*P* < 0.05), 而 Ber 防治组肺组织中 MDA 含量明显低于 LPS 组 (*P* < 0.05); LPS 组与 Ber 防治组 SOD 活性均明显高于对照组 (*P* < 0.05), 但 Ber 防治组与 LPS 组比较 SOD 活性无显著差异 (*P* > 0.05), 见表 3。

## 讨 论

我们在先前的实验中发现, 事先给予中性硫酸小檗碱能以时间和剂量依赖的方式明显降低内毒素

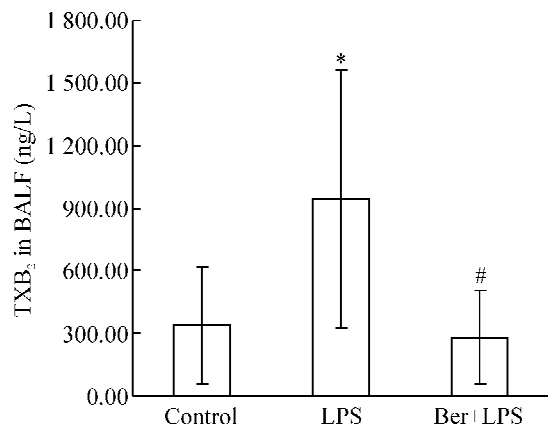


Fig 5 Effects of berberine on TXB<sub>2</sub> content in BALF 12 h after LPS or normal saline injection in various groups. \**P* < 0.05 vs control group; #*P* < 0.05 vs LPS group.  $\bar{x} \pm s$ . *n* = 10.

图5 小檗碱对脂多糖性肺损伤小鼠 BALF 中 TXB<sub>2</sub> 含量的影响

表3 各组小鼠肺组织中 MDA 含量与 SOD 活性的比较

Tab 3 The level of MDA and SOD activity in lung tissue 12 h after LPS or normal saline injection in each group ( $\bar{x} \pm s$ . *n* = 10)

Group	MDA (nmol/mg protein)	SOD (U/mg protein)
Control	0.665 ± 0.083	0.641 ± 0.276
LPS	0.795 ± 0.120*	0.971 ± 0.258*
Ber + LPS	0.657 ± 0.139#	0.953 ± 0.321*

\* *P* < 0.05 vs control group; # *P* < 0.05 vs LPS group.

血症小鼠的死亡率, 并能减轻小鼠肝、肾、肺及小肠的组织损伤<sup>[3]</sup>, 本实验进一步利用内毒素性肺损伤模型观察小檗碱对小鼠急性肺损伤的影响及其作用机制。

腹腔注射 LPS 12 h 后, 光镜下可见肺组织有大量炎性细胞浸润、肺泡结构破坏、肺泡间隔增厚及片状出血灶; 肺湿/干重比值明显增高; BALF 中 WBC、PMN 计数及蛋白水平明显高于对照组。而 Ber 防治

组肺组织损伤明显减轻,炎性细胞浸润和肺出血病理评分均低于 LPS 组;肺水肿程度减轻;BALF 中 WBC、PMN 计数及蛋白含量明显低于 LPS 组,表明小檗碱能减轻内毒素性肺组织损伤,抑制 LPS 诱导的肺水肿、蛋白漏出及炎性细胞的浸润。

PLA<sub>2</sub> 参与磷脂和肺泡表面活性物质的代谢,在 ALI 和 ARDS 等疾病中起着重要作用<sup>[7]</sup>。PLA<sub>2</sub> 亚型 cPLA<sub>2</sub> 被证明是急性肺损伤发生的一个重要介导因子,敲除 cPLA<sub>2</sub> 基因能明显降低 LPS 诱导的肺水肿、炎性细胞浸润、蛋白漏出<sup>[5]</sup>, cPLA<sub>2</sub> 抑制剂能明显减轻内毒素性肺损伤<sup>[4]</sup>;这些研究都表明, cPLA<sub>2</sub> 在内毒素性肺损伤的发生机制中发挥着重要作用。本研究采用免疫组化方法研究了在内毒素性肺损伤时,肺组织中 cPLA<sub>2</sub> 的磷酸化水平以及小檗碱对其活化的影响。发现 LPS 组有大量磷酸化 cPLA<sub>2</sub>,而 Ber 防治组 cPLA<sub>2</sub> 磷酸化水平明显低于 LPS 组,表明小檗碱能抑制 cPLA<sub>2</sub> 的活化。进一步分析 BALF 中 TXB<sub>2</sub> 含量,结果发现 Ber 防治组 TXB<sub>2</sub> 含量明显低于 LPS 组,进一步证明了小檗碱能抑制 cPLA<sub>2</sub> 的活化,从而干扰花生四烯酸的代谢,减少促炎因子的释放,起到防治肺损伤的作用。

另一方面,内毒素性肺损伤时,机体炎症介质失衡,同时产生大量的氧自由基,引起脂质过氧化,直接导致组织损伤;组织 MDA 的水平反映组织脂质过氧化程度,抑制脂质过氧化可显著减轻内毒素诱导的肺损伤<sup>[8,9]</sup>。因此,我们测定了肺组织中 MDA 的含量,发现小檗碱防治组 MDA 含量明显低于 LPS 组,提示小檗碱能减轻脂质过氧化,降低脂质过氧化终产物的生成,从而减轻脂多糖引起的肺组织损伤。SOD 是机体重要的抗氧化酶,可清除自由基,减轻氧化损伤<sup>[10]</sup>。本实验进一步检测了肺组织 SOD 的活性,发现小檗碱并不能增强 SOD 的活性,表明小檗碱减轻脂质过氧化可能与 SOD 无关,其确切机制尚需进一步研究。

综上所述,小檗碱能明显减轻内毒素诱导的急性肺损伤,减少中性粒细胞浸润,减轻肺水肿,其机制可能是通过抑制 cPLA<sub>2</sub> 磷酸化,减少其活化,从而减少花生四烯酸代谢产物的产生及炎症介质的释放,减轻脂质过氧化而发挥作用。本研究发现小檗

碱可作为 cPLA<sub>2</sub> 抑制剂防治内毒素诱导的肺损伤,为急性肺损伤的防治提供了一种新的方法。鉴于小檗碱的广泛药理作用,它不仅能防治内毒素性肺损伤,还能降低内毒素血症小鼠的死亡率,临床上将其作为预防或治疗内毒素性肺损伤的药物,值得进一步研究。

#### [参 考 文 献]

- [1] Matthay MA, Zimmerman GA, Esmon C, et al. Future research directions in acute lung injury summary of a national heart lung and blood institute working group [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2003, 167(7): 1027 - 1035.
- [2] Cernakova M, Kostalova D. Antimicrobial activity of berberine - a constituent of *Mahonia aquifolium* [J]. *Folia Microbiol*, 2002, 47(4): 375 - 378.
- [3] Li F, Wang HD, Lu DX, et al. Neutral sulfate berberine modulates cytokine secretion and increases survival in endotoxemic mice [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2006, 27(9): 1199 - 1205.
- [4] Nagase T, Uozumi N, Aoki - Nagase T, et al. A potent inhibitor of cytosolic phospholipase A<sub>2</sub>, arachidonyl trifluoromethyl ketone, attenuates LPS - induced injury in mice [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2003, 284: L720 - L726.
- [5] Nagase T, Uozumi N, Ishii S, et al. Acute lung injury by sepsis and acid aspiration: a key role for cytosolic phospholipase A<sub>2</sub> [J]. *Nature Immunology*, 2000, 7: 42 - 46.
- [6] Su X, Bai C. Effect of continuous hemofiltration on hemodynamics, lung inflammation and pulmonary edema in a canine model of acute lung injury [J]. *Intensive Care*, 2003, 29: 2034 - 2042.
- [7] Fowler AA, Hamman RF. Adult respiratory distress syndrome: risk with common predispositions [J]. *Ann Intern Med*, 1983, 98: 593 - 597.
- [8] Chabot F, Mitchell JA, Gutteridge JMC, et al. Reactive oxygen species in acute lung injury [J]. *Eur Respir J*, 1998, 11(3): 745 - 757.
- [9] 李建强, 高晓玲, 刘卓拉, 等. 胆红素对抗脂多糖诱导的大鼠急性肺损伤的实验研究 [J]. *中国病理生理杂志*, 2005, 21(4): 780 - 783.
- [10] 王秋林, 王浩毅, 王树人. 氧化应激状态的评价 [J]. *中国病理生理杂志*, 2005, 21(10): 2069 - 2074.