

栀子大黄汤对四氯化碳致小鼠急性肝损伤的保护作用

李伦, 钟伟超, 梁伟海, 陈育尧, 黄少慧, 吕志平*

(南方医科大学 中医药学院, 广州 510515)

[摘要] **目的:**研究栀子大黄汤对四氯化碳(CCl_4)所致小鼠急性肝损伤的保护作用,并探讨其作用机制。**方法:**72 只 KM 小鼠随机分成 6 组,分别为正常组、模型组、联苯双脂($0.2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)组、栀子大黄汤低、中、高剂量(分别含生药 6, 12, 24 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)组。小鼠均 *ig* 给药,每天 1 次,连续 5 d,末次给药 1 h 后,除正常组外,其他各组均 *ip* CCl_4 造成急性肝损伤。采用苏木素-伊红(HE)染色观察肝组织病理变化;检测血清丙氨酸氨基转移酶(ALT),天门冬氨酸氨基转移酶(AST)活性;检测肝组织丙二醛(MDA)水平、超氧化物歧化酶(SOD)活性;蛋白质免疫印迹(Western blot)检测肝组织 B 淋巴细胞瘤-2 蛋白(Bcl-2), Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax),剪切的含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-3(Cleaved-Caspase-3)蛋白表达水平。**结果:**与正常组比较,模型组小鼠血清 ALT, AST 活性明显升高($P < 0.05$), MDA 含量升高, SOD 活性明显降低($P < 0.05$), 肝细胞变形、坏死程度较为明显,肝组织 Bax, Cleaved-Caspase-3 表达明显升高, Bcl-2 蛋白表达明显降低($P < 0.05$);与模型组比较,栀子大黄汤各组显著降低血清 ALT 活性($P < 0.05$),中、高剂量可显著降低血清 AST 活性($P < 0.05$),各组均显著降低 MDA 含量($P < 0.05$),提高肝组织 SOD 活性($P < 0.05$),肝组织切片表明各用药组能减轻肝细胞变形、坏死程度,以高剂量组最优,栀子大黄汤各剂量均能下调肝组织 Bax, Cleaved-Caspase-3 表达,上调 Bcl-2 的表达。**结论:**栀子大黄汤对 CCl_4 致小鼠急性肝损伤有保护作用,其机制可能与抗脂质过氧化和抑制细胞凋亡有关。

[关键词] 栀子大黄汤; 急性肝损伤; 四氯化碳; 脂质过氧化; 凋亡

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)12-0108-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016120108

Protective Effect of Zhizi Dahuang Tang on Carbon Tetrachloride Induced Acute Hepatic Injury in Mice

LI Lun, ZHONG Wei-chao, LIANG Wei-hai, CHEN Yu-yao, HUANG Shao-hui, LYU Zhi-ping*

(School of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the protective effect of Zhizi Dahuang Tang (ZDT) on carbon tetrachloride (CCl_4)-induced acute hepatic injury in mice. **Method:** A total of 72 KM mice were randomly divided into normal control group, model group, bifendate pill group, ZDT low-dose group, ZDT medium-dose group and ZDT high-dose group, with 12 mice in each group. Bifendate pill ($0.2 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) or different doses (6, 12, 24 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) of ZDT were given to corresponding groups by gavage for consecutively 5 days. The same volume of saline was infused in normal control group and model group. All groups of mice were intraperitoneally (*ip*) injected with CCl_4 , except for normal control group. Mice were sacrificed to collect their blood and liver specimens. Serum alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), liver superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) were detected. Histological examination was performed using hematoxylin-eosin staining and light microscopy, and Bax, Bcl-2 and Cleaved-Caspase-3 were detected for apoptosis by using Western blot. **Result:** Compared with the normal group, the normal group showed significant increases in serum AST and ALT activities ($P < 0.05$) and MDA content, decreases in SOD activity ($P < 0.05$),

[收稿日期] 20150810(005)

[基金项目] 国家自然科学基金青年基金项目(81302948)

[第一作者] 李伦,在读硕士,从事中西医结合肝病临床与基础研究, Tel: 13268268087, E-mail: lilunsmu@163.com

[通讯作者] * 吕志平, 硕士, 教授, 博士生导师, 从事中西医结合肝病临床与基础研究, Tel: 020-61648241, E-mail: lzp_smu@126.com

hepatocyte deformation and necrosis, up-regulations in Bax and Cleaved-Caspase-3 expressions and down-regulation of Bcl-2 expression; compared with the model group, ZDT groups showed significant decreases in serum ALT activity ($P < 0.05$), and ZDT medium and high-dose groups showed significant decreases in serum AST activity ($P < 0.05$), and all of the groups showed significant reduction in MDA content ($P < 0.05$) and rise in SOD activity ($P < 0.05$). According to hepatic tissue sections, all of the treatment groups showed alleviations in hepatocyte deformation and necrosis, particularly the high-dose group, and all of ZDT groups showed down-regulations in hepatic tissue Bax, Cleaved-Caspase-3 expression, and up-regulation in Bcl-2. **Conclusion:** ZDT exhibits a protective effect on CCl_4 -induced hepatic injury by resisting anti-lipid peroxidation and suppressing the apoptosis of liver tissues.

[**Key words**] Zhizi Dahuang Tang; acute hepatic injury; carbon tetrachloride; lipid peroxidation; apoptosis

栀子大黄汤出自汉代张仲景所著《金匱要略》，该方由栀子、大黄、枳实和豆豉组成。临床用于治疗热重湿轻之肝胆疾患，如急性黄疸型肝炎，也用于无黄疸型肝炎。有报道其临床用与治疗黄疸与急性胰腺炎，效果显著^[1-2]，能促进毒物排出体外，解决肠道菌群易位。现代药理学研究表明栀子大黄汤具有利胆、抗炎的作用^[3]，可以促进大鼠胆汁排泄，减轻小鼠耳肿胀。但是尚无其对急性肝损伤的研究报道，其护肝作用的机制尚不清楚。四氯化碳(CCl_4)是经典的肝毒药物，利用 CCl_4 溶液腹腔注射致急性肝损伤的动物模型操作较为简便，效果稳定，是目前公认比较好的研究急性肝损伤发病机制及寻找有效治疗药物的实验动物模型，本研究采用 CCl_4 致小鼠急性肝损伤模型，研究栀子大黄汤对小鼠急性肝损伤的保护作用，为进一步的临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 SPF 级昆明种小鼠 72 只，雄性，体重 (18~22) g，由广州中医药大学实验动物中心提供，动物合格证号 SCXK(粤)2013-0001。

1.2 药物及试剂 栀子、大黄、枳实、淡豆豉(广东致信中药饮片有限公司，批号分别为 150301, 141201, 150123, 150214)，均购于南方医科大学南方医院中药房。药物制备：栀子大黄汤按栀子 10 g，大黄 5 g，枳实 12 g，淡豆豉 10 g 的组成，经水煎提取 2 次合并滤液，用旋转蒸发仪浓缩成低质量浓度(含生药量 $0.3 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$)，中质量浓度(含生药量 $0.6 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$)，高质量浓度(含生药量 $1.2 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 的药液。阳性药联苯双酯滴丸(广州白云山星群药业股份有限公司，批号 LF40002)， CCl_4 (分析纯，天津市大茂化学试剂厂，批号 20140827)，实验时用花生油(山东鲁花集团有限公司)配制成 0.12% CCl_4 溶液；丙氨酸氨基转移酶(ALT)测定试剂盒、天门冬氨酸

氨基转移酶(AST)测定试剂盒、丙二醛(MDA)测定试剂盒、总超氧化物歧化酶(T-SOD)测试盒均购于南京建成生物工程研究所(批号分别为 20150514, 20150515, 2015015, 20150517)；B 淋巴细胞瘤-2 蛋白(Bcl-2 抗体)，Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)抗体及剪切的含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-3(Cleaved-Caspase-3)抗体(美国 Cell Signaling 公司，货号分别为 5023, 2876, 9664)。

1.3 仪器 MICROMAX 型高速离心机(美国 Thermo Jouan 公司)，Multiskan FC 型全波段酶标仪(美国 Thermo 公司)，Eclipse TS100-F 型倒置显微镜(日本 Nikon 公司)，N-1001DW 型旋转蒸发仪(日本 EYELA 公司)。

2 方法

2.1 动物分组和造模方法 72 只昆明小鼠随机分成 6 组，每组 12 只，分别为正常组，模型组，联苯双酯组($200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)，栀子大黄汤低、中、高剂量组(6, 12, 24 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)。各给药组每天按照相应浓度的药物 *ig* 1 次，*ig* 量 $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，正常组和模型组每天 *ig* 等体积的生理盐水，连续 *ig* 5 d。除正常组外，各组最后一次 *ig* 1 h 后，*ip* 0.12% CCl_4 溶液，剂量 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，正常组注射等体积的花生油，禁食，自由饮水。注射 CCl_4 16 h 后，*ip* 1% 戊巴比妥钠 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 麻醉小鼠，摘取眼球采血，全血室温放置 1 h 后，经 $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min 后取上清备用。采血后处死小鼠，取肝部分左叶置于 4% 多聚甲醛溶液中固定，剩余肝左叶放入冻存管中于 $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱冻存备用。

2.2 检测指标和检测方法

2.2.1 血清 AST, ALT 活性测定 严格按照试剂盒说明书步骤进行。

2.2.2 SOD 活力及 MDA 含量的测定 取一部分

肝脏组织用生理盐水制成 10% 肝匀浆,按试剂盒说明书方法操作,检测肝组织中 SOD 的活力,MDA 的含量。

2.2.3 肝组织病理学观察 多聚甲醛固定后的肝组织经常规脱水、石蜡包埋、切片后,经苏木素-伊红(HE)染色,观察肝组织病理学改变。

2.2.4 蛋白质免疫印迹(Western blot)检测 取一部分肝组织于烧杯中,用 4 °C PBS 充分洗涤 2 次,迅速研碎组织,加入适量含蛋白酶抑制剂、磷酸酶抑制剂和苯甲基磺酰氟(PMSF)的裂解液,在冰浴中匀浆,4 °C 静置 30 min 后,在 4 °C 下 12 000 r·min⁻¹ 离心 20 min,将上清液移于另一管中待测。待测样品用双辛丁酸(BCA)试剂测定蛋白含量后,取等量蛋白与含巯基乙醇的 2 × 凝胶加样缓冲液等体积混合,98 °C 煮沸 10 min。经 11% SDS-PAGE,转膜。含 5% 脱脂奶粉 TBST 封闭 2 h,1:1 000 稀释一抗,室温摇荡孵育 1 h,TBST 洗 3 次,1:5 000 稀释辣根过氧化物酶标记的二抗,室温孵育 1 h,TBST 洗 3 次后,压片,显影,定影。

2.3 统计学分析 数据分析由 SPSS 13.0 统计分析软件完成,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组之间比较用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对 CCl₄ 诱导急性肝损伤小鼠的 ALT,AST 影响 与正常组比较,模型组小鼠血清 ALT,AST 水平明显升高,具有显著的统计学差异($P < 0.05$),说明 CCl₄ 诱导急性肝损伤的模型建立成功;阳性药联苯双脂明显降低 ALT 水平($P < 0.05$)。与联苯双脂比较,栀子大黄汤高剂量组 ALT 差异无显著性,AST 差异有显著性($P < 0.05$)。见表 1。

3.2 对 CCl₄ 所致急性肝损伤小鼠肝组织 MDA, SOD 的影响 与正常组比较,模型组的小鼠肝组织的 MDA 含量明显升高($P < 0.05$),肝脏 SOD 活性明显降低($P < 0.05$);与模型组比较,阳性药联苯双脂和栀子大黄汤各剂量组均能明显降低肝组织 MDA 含量以及升高 SOD 活性($P < 0.05$)。与联苯双脂比较,栀子高剂量组 MDA, SOD 差异均无显著性,表明栀子大黄汤高剂量与联苯双脂效果无差异。见表 2。

3.3 对 CCl₄ 所致急性肝损伤小鼠肝组织病理变化的影响 肝组织切片经 HE 染色后光镜下观察,正常组小鼠肝组织清晰,肝小叶结构完整,肝细胞呈放射状排列,汇管区清楚。模型组小鼠肝小叶中央静脉周围明显灶状坏死,肝细胞空泡样变,排列不规

表 1 栀子大黄汤对 CCl₄ 诱导急性肝损伤小鼠的 ALT,AST 影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 1 Effects of Zhizi Dahuang Tang(ZDT) on ALT and AST in CCl₄-induced acute hepatic injury in mice serum ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	ALT	AST
正常	-	20.8 ± 8.2	48.9 ± 15.6
模型	-	209.6 ± 32.8 ¹⁾	116.6 ± 28.0 ¹⁾
联苯双脂	0.2	85.3 ± 31.6 ²⁾	110.2 ± 25.9
栀子大黄汤	6	150.3 ± 41.5 ^{2,3)}	101.0 ± 20.1
	12	128.6 ± 31.3 ^{2,3)}	86.5 ± 19.1 ^{2,3)}
	24	108.4 ± 33.8 ²⁾	77.8 ± 19.4 ^{2,3)}

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$;与联苯双脂比较³⁾ $P < 0.05$ (表 2,3 同)

表 2 栀子大黄汤对 CCl₄ 所致急性肝损伤小鼠肝组织 MDA, SOD 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 2 Effects of ZDT on MDA and SOD in CCl₄-induced acute hepatic injury in mice liver tissue ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

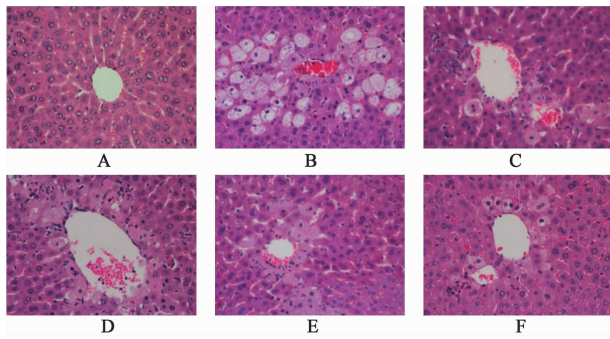
组别	剂量/g·kg ⁻¹	MDA/μmol·g ⁻¹	SOD/U·mg ⁻¹
正常	-	3.10 ± 0.98	141.8 ± 11.5
模型	-	6.99 ± 0.85 ¹⁾	94.1 ± 14.0 ¹⁾
联苯双脂	0.2	5.29 ± 0.90 ²⁾	118.7 ± 11.2 ²⁾
栀子大黄汤	6	5.85 ± 0.87 ²⁾	108.8 ± 12.5 ²⁾
	12	5.18 ± 1.10 ²⁾	118.1 ± 10.3 ²⁾
	24	4.63 ± 0.79 ²⁾	126.4 ± 13.2 ²⁾

整,可见小灶状炎细胞浸润。与模型组比较,阳性药联苯双脂组和栀子大黄汤各剂量组肝组织坏死区域减小,细胞肿胀、变性等病理性损伤均有不同程度减轻,以栀子大黄汤高剂量损伤程度最低。见图 1。

3.4 对 CCl₄ 所致急性肝损伤小鼠肝脏中 Bax, Bcl-2 和 Cleaved-Caspase-3 表达的影响 与正常组比较,模型组 Bax 和 Cleaved-Caspase-3 表达水平明显增加($P < 0.05$), Bcl-2 表达水平明显减少($P < 0.05$),说明 CCl₄ 引发了小鼠肝细胞凋亡。与模型组比较,阳性药联苯双脂和栀子大黄汤各剂量明显下调 Bax 和 Cleaved-Caspase-3 表达($P < 0.05$),上调 Bcl-2 表达($P < 0.05$)。栀子大黄汤中剂量和高剂量组下调 Cleaved-Caspase-3 强于联苯双脂($P < 0.05$)。见图 2,表 3。

4 讨论

肝损伤是指在一系列理化因素的作用下,肝细胞发生不同程度的肿胀、变性、坏死和凋亡,是各种



A. 正常组; B. 模型组; C. 联苯双脂组; D. 栀子大黄汤 6 g·kg⁻¹ 组; E. 栀子大黄汤 12 g·kg⁻¹ 组; F. 栀子大黄汤 24 g·kg⁻¹ 组(图 2 同)

图 1 栀子大黄汤对 CCl₄ 所致肝损伤小鼠肝组织病理变化的影响 (HE, ×400)

Fig. 1 Effect of ZDT on histologic change of hepatic tissue of mice (HE, ×400)

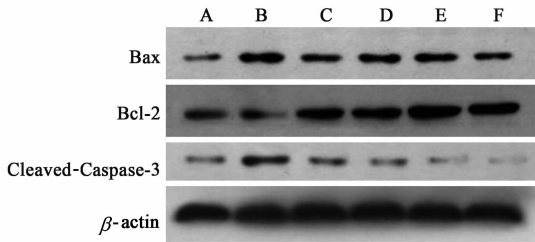


图 2 栀子大黄汤对 CCl₄ 所致急性肝损伤小鼠肝脏中 Bax, Bcl-2 和 Cleaved-Caspase-3 蛋白表达的影响

Fig. 2 Effect of ZDT on Bax, Bcl-2 and Cleaved-Caspase-3 protein in hepatic tissue of mice

表 3 栀子大黄汤对 CCl₄ 所致急性肝损伤小鼠肝脏中 Bax, Bcl-2 和 Cleaved-Caspase-3 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Effect of ZDT on Bax, Bcl-2 and Cleaved-Caspase-3 protein in hepatic tissue of mice ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	Bax	Bcl-2	Cleaved-Caspase-3
正常	-	0.18 ± 0.02	0.44 ± 0.03	0.13 ± 0.03
模型	-	0.46 ± 0.03 ¹⁾	0.34 ± 0.04 ¹⁾	0.35 ± 0.04 ¹⁾
联苯双脂	0.2	0.30 ± 0.03 ²⁾	0.58 ± 0.08 ²⁾	0.16 ± 0.02 ²⁾
栀子大黄汤	6	0.38 ± 0.03 ^{2,3)}	0.56 ± 0.05 ²⁾	0.12 ± 0.02 ²⁾
	12	0.37 ± 0.02 ²⁾	0.71 ± 0.08 ²⁾	0.10 ± 0.02 ^{2,3)}
	24	0.30 ± 0.03 ²⁾	0.69 ± 0.09 ²⁾	0.09 ± 0.03 ^{2,3)}

肝病发生发展的最基本病理状态^[4]。CCl₄ 是经典的肝毒药物,本研究采用的 CCl₄ 致急性肝损伤动物模型是目前公认比较好的研究急性肝损伤发病机制及寻找有效治疗药物的实验动物模型^[5]。CCl₄ 在体内经肝微粒体细胞色素 P450 代谢激活,产生一系列自由基(·CCl₃, CCl₃OO·等),过量的自由基与肝细胞膜上的磷脂分子结合,引起脂质过氧化,导致

膜的流动性和通透性改变从而破坏细胞膜结构,并可与核蛋白和 DNA 等大分子共价结合,损伤核糖和碱基,直接破坏核酸,引起 DNA 中化学键的断裂或 DNA 键与蛋白的交联,影响信息传递及转录复制等,造成细胞坏死和凋亡^[6-8]。

ALT 主要分布在肝细胞浆,AST 则分布在肝细胞浆和肝细胞的线粒体中,由于细胞膜和线粒体膜的选择通透性,血清中含量很低。当肝细胞膜结构被破坏或者通透性改变时,AST,ALT 可以大量释放进入血液,血清中 AST 和 ALT 的升高可以反映出肝细胞的坏死程度^[9]。本实验研究中,栀子大黄汤各组可以降低 CCl₄ 所致急性肝损伤小鼠血清中 ALT 水平,中剂量和高剂量可以降低 AST 水平。HE 染色的组织切片可以较为直观地反映肝组织损伤程度和病理改变,与模型组比较,阳性对照组和给药组肝组织坏死区域减小,细胞肿胀、变性等病理性损伤均有不同程度减轻。

CCl₄ 经代谢产生的自由基介导的氧化应激是公认的 CCl₄ 致急性肝损伤的主要损伤途径之一^[10]。SOD 是体内清除自由基、抑制自由基反应的物质基础之一,对损伤起到一定的缓解作用。生物体内,自由基作用于脂质过发生氧化的终产物和主要产物为 MDA。因此 SOD 活性和 MDA 含量常可以反映体内脂质过氧化程度,间接反映体内组织、细胞损伤程度^[11]。本实验研究模型组,SOD 活性明显降低,MDA 含量显著升高,然而,栀子大黄汤预处理组与模型组比较可以显著降低小鼠肝组织内 MDA 含量,提高 SOD 活性,表明栀子大黄汤可以通过促进肝脏抗氧化水平,减轻氧化应激导致的肝损伤。

不少研究表明 CCl₄ 可以引起肝细胞凋亡^[7, 12-13],细胞凋亡是由多种基因控制的一种细胞生理性自行消亡过程,主要有外在途径、线粒体途径和内质网途径。其中线粒体途径由许多应激条件、化学试剂和药物所引起。线粒体途径受多种基因调控,Bax 和 Bcl-2 是重要的调控因子,其中 Bcl-2 具有抗细胞凋亡的作用,而 Bax 则是促进凋亡的因子,Bcl-2 可与促凋亡 Bax 形成二聚体,如果 Bax 相对量高于 Bcl-2,则 Bax 同二聚体的数量增多,从而促进细胞死亡;而如果 Bcl-2 相对量高于 Bax,则促进形成 Bcl-2/Bax 异二聚体,并使 Bcl-2 同二聚体的量增多,从而抑制细胞死亡^[14-15]。Caspase-3 作为 Caspase 家族成员中执行细胞凋亡的关键酶之一,是细胞凋亡的中枢效应器。又有研究证实,线粒体通路激活的标志性蛋白就是 Caspase-3,多种刺激因素

的启动信号均可激活 Caspase-3,经剪切活化成 Cleaved-Caspase-3,然后裂解多种蛋白,阻止 DNA 复制和细胞修复破坏细胞核整体结构,最终导致细胞凋亡。因此,Cleaved-Caspase-3 可作为判断细胞凋亡严重性的可靠指标之一^[16]。本实验研究表明,与模型组比较,栀子大黄汤可以上调 Bcl-2 的表达,下调 Bax 和 Cleaved-Caspase-3 的表达,从而抑制细胞凋亡。表明栀子大黄汤可以从抑制细胞凋亡的途径保护肝细胞损伤。

中医学认为,栀子大黄汤具有泄热祛湿、开郁除烦之功,《金匱要略》以本方治疗酒黄疸,心中懊恼,或热痛者。方中栀子、豆豉清心除烦,大黄、枳实祛湿泄热,用于治疗热重湿轻之肝胆疾患,如急性黄疸肝炎和其他黄疸病,也将其用于无黄疸型肝炎。本实验以四氯化碳致小鼠肝损伤型,探索栀子大黄汤保肝护肝机制,证明栀子大黄汤具有抗氧化,抑制细胞凋亡的作用,然而中药复方成分多,作用机制较为复杂,栀子大黄汤是否存在其他保肝机制还需进一步探究。

[参考文献]

[1] 刘通英,张统水. 栀子大黄汤加减治疗黄疸 45 例 [J]. 中国中医药现代远程教育,2009,7(7):90.
[2] 王伟. 复方栀子大黄汤治疗急性胰腺炎临床研究 [J]. 河北中医,2001,23(4):252-253.
[3] 许阳贤,杨吉勇,曹锦峰. 栀子大黄汤利胆抗炎作用的实验研究[J]. 江苏中医药,2013(9):74-75.
[4] 黄晓菡,曾文铤,朱科伦,等. 丹芪活肝胶囊对 D-氨基半乳糖致大鼠肝损伤的保护作用[J]. 广州医药,2009,40(5):44-47.
[5] 凌银婵,刘海燕,黄巨恩,等. 急性肝损伤实验动物模型的研究进展 [J]. 解剖学杂志,2012,35(3):389-391.
[6] Zhang F, Wang X, Qiu X, et al. The protective effect of

esculentoside A on experimental acute liver injury in mice[J]. PLoS One,2014,9(11):e113107.
[7] Karakus E, Karadeniz A, Simsek N, et al. Protective effect of *Panax ginseng* against serum biochemical changes and apoptosis in liver of rats treated with carbon tetrachloride (CCl₄) [J]. J Hazard Mater,2011,195:208-213.
[8] 刘彦双,朱淑霞,王永利. 急性肝损伤模型的研究进展[J]. 河北医药,2007,29(6):613-614.
[9] 陈雪龙,齐艳萍. 四氯化碳急性肝损伤小鼠血清及肝脏组织学变化[J]. 中国兽医杂志,2011,47(1):39-40,98.
[10] Weber L W, Boll M, Stampfl A. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model[J]. Crit Rev Toxicol,2003,33(2):105-136.
[11] 蔡秀江,丁安伟,闫冰,等. 二至丸保肝活性成分群对四氯化碳致小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(20):145-148.
[12] Sun F, Hamagawa E, Tsutsui C, et al. Evaluation of oxidative stress during apoptosis and necrosis caused by carbon tetrachloride in rat liver [J]. Biochim Biophys Acta,2001,1535(2):186-191.
[13] Shi J, Aisaki K, Ikawa Y, et al. Evidence of hepatocyte apoptosis in rat liver after the administration of carbon tetrachloride[J]. Am J Pathol,1998,153(2):515-525.
[14] Lindsay J, Esposti M D, Gilmore A P. Bcl-2 proteins and mitochondria--specificity in membrane targeting for death [J]. Biochim Biophys Acta,2011,1813(4):532-539.
[15] Ola M S, Nawaz M, Ahsan H. Role of Bcl-2 family proteins and caspases in the regulation of apoptosis[J]. Mol Cell Biochem,2011,351(1/2):41-58.
[16] 王继慧,张小卿,马月丹,等. 绞股蓝总皂苷对光老化人皮肤成纤维细胞 Caspase-3 信号通路的影响[J]. 中国全科医学,2014,17(18):2109-2114.

[责任编辑 周冰冰]