

二至丸预防和治疗性给药对大鼠损伤后肝细胞再生障碍的保护作用

赵海梅¹, 周步高^{2,3}, 王馨³, 邹勇³, 徐荣³, 岳海洋³, 左铮云^{4*}, 刘端勇^{3*}

(1. 江西中医药大学 生命科学学院, 南昌 330004; 2. 江西中医药大学 科技学院, 南昌 330025;
3. 江西中医药大学 研究生院, 南昌 330004; 4. 江西中医药大学 附属医院, 南昌 330006)

[摘要] 目的:观察二至丸预防和治疗性给药对大鼠损伤后肝细胞再生障碍的保护作用,并探讨其作用机制。方法:将50只Wistar大鼠随机分为5组,分别为正常组,模型组,二至丸预防组(6.48 g·kg⁻¹),二至丸治疗组(6.48 g·kg⁻¹),雷帕霉素组(1 mg·kg⁻¹)。除正常组建立肝部分切除术(partial hepatectomy, PHx)模型外,其余各组ig给予2-乙酰氨基苄(2-acetylaminofluorene, 2AAF) ig 7 d,同时二至丸预防组预防性给药7 d,第8天行肝部分切除术建立损伤后肝细胞再生抑制复合模型(2AAF/PHx),预防组和治疗组分别于术后24 h再行预防性给药组及治疗性给药3 d。大鼠处死后计算肝重指数,观察肝脏病理形态学变化,收集大鼠血清并采用自动生化分析仪检测血清丙氨酸氨基转移酶(ALT),天门冬氨酸氨基转移酶(AST)及白蛋白。同时采用流式检测肝细胞凋亡水平及天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)表达。结果:与正常组比较,模型组大鼠肝重指数和白蛋白水平明显降低,ALT和AST水平明显升高,大鼠肝细胞坏死细胞(non-viable non-apoptotic cell, NVNAC),早期凋亡细胞(viable apoptotic cell, VAC),晚期凋亡细胞(non-viable apoptotic cell, NVAC)水平及Caspase-3表达明显降低,而活性细胞(living cell, LC)则明显降低($P < 0.05$, $P < 0.01$),肝脏病理损伤较为明显;与模型组比较,二至丸预防组及治疗组均可明显升高大鼠肝重指数和白蛋白水平,同时降低其ALT和AST水平,且大鼠NVNAC, VAC, NVA水平及Caspase-3表达明显降低($P < 0.05$, $P < 0.01$),而LC则明显升高($P < 0.05$, $P < 0.01$),病理学观察提示明显好转。结论:二至丸预防性及治疗性给药可显著抑制损伤后肝细胞再生障碍大鼠肝细胞凋亡,并降低Caspase-3表达,肝功能损伤得以恢复,提示二至丸对大鼠损伤后肝细胞再生障碍具有良好的预防保护作用。

[关键词] 二至丸; 预防; 损伤后肝细胞再生障碍; 疗效

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)16-0128-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017160128

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170526.1021.042.html>

[网络出版时间] 2017-05-26 10:21

Protective Effect of Erzhiwan by Two Different Administrations for Rats with Liver Cytothsis Obstacle After Injury

ZHAO Hai-mei¹, ZHOU Bu-gao^{2,3}, WANG Xin³, ZOU Yong³, XU Rong³,
YUE Hai-yang³, ZUO Zheng-yun^{4*}, LIU Duan-yong^{3*}

(1. College of Life Science, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Nanchang 330004, China;
2. College of Science and Technology, Jiangxi University of TCM, Nanchang 330025, China;
3. Graduate School, Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China;
4. The Affiliated Hospital of Jiangxi University of TCM, Nanchang 330006, China)

[收稿日期] 20161220(029)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81360525,81260595);江西省自然科学基金项目(20142BAB205077);2014年度国家留学基金委地方合作项目(201408360106,201408360110)

[第一作者] 赵海梅,博士,副教授,从事中药抗炎与免疫药理,Tel:13879105420,E-mail: haimeiy9@163.com

[通讯作者] *左铮云,教授,博士生导师,从事中药复方新药研究与开发,Tel:13907096886,E-mail: zzy61@163.com;

*刘端勇,博士,副教授,从事中药抗炎与免疫药理,Tel: 13970933193, E-mail: liuduanyong@163.com

[Abstract] **Objective:** To observe the protective effects of Erzhiwan by prophylactic and therapeutic administrations for the liver cytothrosis obstacle in rats after injury, and investigate its mechanism. **Method:** The 50 Wistar rats were randomly divided into 5 groups: normal group, model group, Erzhiwan prophylactic group ($6.48 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), Erzhiwan therapeutic group ($6.48 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), and Rapamycin group ($1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$). In normal group, partial hepatectomy (PHx) was conducted to establish PHx models; in the other groups, animals received intragastric administration of 2-acetylaminofluorene/partial hepatectomy (2-AAF) for 7 days; meanwhile, in the Erzhiwan prophylactic group, those rats were administrated with Erzhiwan for 7 days, and on the 8th day, PHx was conducted to establish compound models of liver cytothrosis obstacle after injury (2AAF/PHx models). 24 h after surgery, the rats in the prophylactic and therapeutic groups were administrated with Erzhiwan for three days. After rats were killed, the index of liver weight was calculated; liver pathomorphological changes were observed; and the levels of alanine transaminase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and albumin in serum were detected by using automatic biochemical analyzer. In addition, liver apoptosis and Caspase-3 expression levels were analyzed by flow cytometry. **Result:** As compared with the normal group, the index of liver weight, albumin level and count of living cell (LC) were significantly decreased, while ALT and AST levels, non-viable non-apoptotic cell (NVNAC), viable apoptotic cell (VAC), non-viable apoptotic cell (NVAC) and Caspase-3 expression levels were significantly increased in model group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). As compared with the model group, the index of liver weight, level of albumin and count of LC were increased, however, the levels of ALT, AST, NVNAC, VAC, NVAC and Caspase-3 expression levels were decreased in both Erzgu pill prophylactic and therapeutic groups ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Meanwhile pathological observation hinted that injured livers were improved markedly. **Conclusion:** Erzhiwan remarkably inhibited liver apoptosis, and decreased Caspase-3 expression of 2-AAF/PHx rats to remit damaged liver function. So Erzhiwan play a favorable and protective role in treatment of cytothrosis obstacle of damaged liver in rats

[Key words] Erzhiwan; prevent; cytothrosis obstacle of damaged liver; therapeutic effect

肝细胞再生障碍是指当肝脏受到内源或外源性因素的损伤,导致肝细胞在自身再生修复过程中发生停滞或者再生修复程序发生障碍,肝细胞再生障碍势必诱导肝损伤性疾病的发生,可见肝细胞再生障碍是众多肝脏疾患的共同病理变化特征之一,因此,改善损伤后肝细胞再生水平和状态也是有效缓解肝损伤的重要手段之一^[1-2]。中医认为,肝主藏血,以血为本,以气为用,肝体用而用阳。肝细胞再生障碍所引发的疾病多归为“黄疸”、“胁痛”、“肝癖”、“肝着”、“鼓胀”、“肝积”、“积聚”等范畴。慢性肝病久治不愈,容易耗伤肝肾之阴,肝肾阴虚是肝细胞再生障碍所致各类肝系疾病的共同病机之一,因此,肝肾阴虚证是肝细胞再生障碍性相关疾病的主要辨证分型之一,多采用滋补肝肾之阴的方法进行治疗^[3-4]。二至丸出自《医方集解》,由女贞子、墨旱莲 2 味药组成,具有补益肝肾、滋阴止血之功效,是平补肝肾之常用方和基础方。现在研究表明二至丸具有保肝降酶、抗肝纤维化等药理学作用,常用于缓解亚健康,或作为肝脏疾患的基础方广泛运用于临床^[5-6]。然而其缓解亚健康及防治肝脏疾患的作

用机制并不明朗。为此笔者复制损伤后肝细胞再生障碍大鼠模型,采用预防性和治疗性给药 2 种不同方式进行干预,并从疗效评价及细胞凋亡等角度,评价其疗效及可能的作用机制。

1 材料

1.1 动物 清洁级健康 Wistar 大鼠 50 只(雄性),体重(200 ± 10)g,由北京维通利华实验动物有限公司提供,合格证号 SCXK(京)2012-0001。所有动物饲养及实验操作方案(JZ2014-216)均遵守江西中医药大学实验动物伦理委员会相关规定执行。适应性饲养 3 d 后用于实验,自由摄食和饮水,自然光照,室温控制在(20 ± 2) $^{\circ}\text{C}$ 。

1.2 药物及试剂 2-乙酰氨基苄(2AAF,美国 Sigma 公司,批号 A7015);雷帕霉素(美国 Wyeth Pharmaceuticals 公司,批号 20150483);二至丸(江中集团,批号 Z32020882);头孢噻肟钠注射液(上海先锋药业有限公司,批号国药准字 H31020925);Annexin V:FITC 凋亡检测试剂盒 I,cleaved-天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)抗体,固定/透化作用集中(美国 Ebioscience 公司,批号分别为

556547,9669,00-5123-43);胎牛血清(北京全式金
生物技术有限公司,批号 I40312)。

1.3 仪器 5804R 型低温高速离心机(德国
Eppendorf 公司),BD FACSC Canto II 型流式细胞仪
(美国 BD 公司)。

2 方法

2.1 实验分组及模型复制 大鼠 50 只随机分为 5
组,分别为正常组、模型组、二至丸预防组、二至丸治
疗组、雷帕霉素组,每组 10 只,参考文献[7-8]采用
经典的肝部分切除术(PHx)模型+肝细胞再生抑制
模型(2AAF),建立损伤后肝细胞再生抑制复合模
型(2AAF/PHx)。简单操作如下:实验组大鼠按
 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 的剂量予 0.2% 的 2AAF 灌胃 7 d,
二至丸预防组同时另给予 $6.48\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 二至丸浸膏
剂灌胃,第 8 天禁食 12 h,麻醉后从腹中线切开上腹
部,结扎并切除肝左叶,切除量约占全肝 30% ~
35%。保留下腔静脉周围肝脏,观察有无出血,关闭
腹腔。术后按体重腹腔注射头孢塞污钠以抗炎并保
暖。所有手术均在无菌操作台内进行。

2.2 给药方法 二至丸预防组自术前 7 d 开始给
药,第 8 天肝部分切除 24 h 后,按体表面积换算给
药 3 d,合计 10 d,而二至丸治疗组、雷帕霉素组亦于
第 8 天肝部分切除 24 h 后开始给药,二至丸治疗组
予 $6.48\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 二至丸浸膏剂,雷帕霉素组给予
 $1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 雷帕霉素,均灌胃给药 3 d,麻醉后腹主动
脉采血提取血清、处死动物,分离肝脏,并称质量计
算肝重指数后备用。

2.3 肝功能检测 腹主动脉采血后,制备血清,采
用自动生化分析仪检测血清丙氨酸氨基转移酶
(ALT),天门冬氨酸氨基转移酶(AST),白蛋白。

2.4 病理学观察 剪取部分肝脏,置于 4% 多聚甲
醛固定 10 d 左右,梯度脱水、浸蜡、切片 $5\text{ }\mu\text{m}$,脱
蜡,梯度入水,常规苏木素-伊红(HE)染色,由本校
病理科王骁敏副教授进行病理学观察,以评价肝脏
损伤情况。

2.5 肝细胞 annexinV + PI 流式检测 治疗 3 d 后,
按 $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 体重注射 10% 乌拉坦麻醉,暴露腹
腔,分离肝脏,称质量后,取部分肝脏置于 3% FCS +
PBS 培养液中,300 目不绣钢网碾磨滤过,洗涤 2
次, $3\text{ 000 r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min 后,弃其上清,混匀定
容于 1.0×10^6 后置 $4\text{ }\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱保存。取上述细胞悬
液,加入 PBS 1 mL 洗涤细胞,离心后弃上清,加结合
缓冲液 100 μL ,震匀后置 $4\text{ }\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱保存,上机前加
FITC-Annexin V + PI 0.3 μL 避光孵育 30 min, PBS

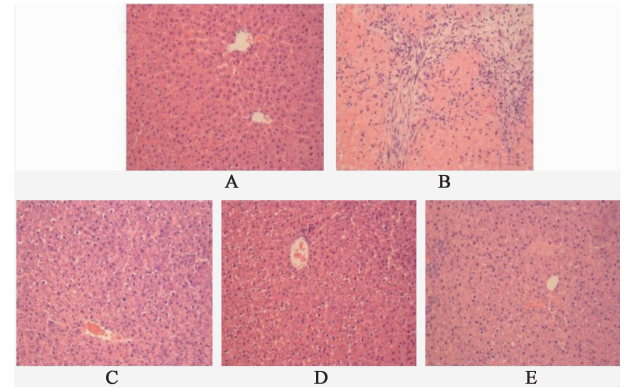
清洗后上机检测,检测大鼠肝细胞坏死细胞
(NVNAC),早期凋亡细胞(VAC),晚期凋亡细胞
(NVAC)及活性细胞(LC)水平。

2.6 肝细胞 Caspase-3 流式检测 取上述细胞悬
液,加入 PBS 1 mL 洗涤细胞,离心后弃上清后,分别
加入配置好的破膜固定液 300 μL ,混匀后室温避光
孵育 1 h,cleaved-Caspase-3 抗体 0.5 μL 染色,混匀,
常温避光孵育 1 h,每次加 perm/wash 缓冲液 100 μL
洗涤细胞,弃上清后,每管加入 1% 多聚甲醛的 PBS
300 μL 固定后置 $4\text{ }\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱保存,待上机检测。

2.7 统计学分析 采用 SPSS 16.0 统计分析软件
处理,计量资料数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 *t*
检验,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

**3.1 对 2-AAF/PHx 大鼠肝重指数及病理形态学
的影响** 见图 1 所示,正常组大鼠病理分析可见肝细
胞排列紧密,围绕中央静脉似呈放射状排列,中央静
脉形状规则,肝细胞大小均匀,而模型组大鼠则可
见,中央静脉减少或缺如,肝细胞排列紊乱,大量纤
维素样细胞,淋巴细胞浸润,少量肝细胞脂肪变性,
部分肝细胞呈片状坏死。而预防组和治疗组中央静
脉充血,少量肝细胞脂肪变性,淋巴细胞浸润减少、
肝细胞大小不等或有双核。



A. 正常组;B. 模型组;C. 二至丸预防组;D. 二至丸治疗组;E. 雷帕
霉素组

图 1 二至丸对 2-AAF/PHx 大鼠肝脏病理变化的影响(HE, $\times 200$)
Fig. 1 Effect of Erzhiwan on pathological change of 2-AAF/PHx
rats(HE, $\times 200$)

**3.2 对 2-AAF/PHx 大鼠肝重指数及外周血清白
蛋白,AST,ALT 水平的影响** 术后 3 d 肝部分切除
之后,大鼠体重下降,活动度降低,毛发疏松,精神萎
靡,与正常组比较,模型组大鼠肝重指数明显下降
($P<0.05$),而预防组和治疗组大鼠肝重指数明显
增加($P<0.05$)。预防组与治疗组组间比较无明显
统计学差异。与正常组比较,模型组大鼠白蛋白水

平明显下降,ALT 和 AST 则明显升高($P < 0.05, P < 0.01$);而与模型组比较,除预防组对 AST 仅有下降作用趋势外,二至丸预防组和治疗组大鼠白蛋白水平则明显升高($P < 0.05, P < 0.01$),且 ALT 和 AST 明显下降($P < 0.05$)。预防组与治疗组间比较无明显统计学差异。见表 1。

3.3 对 2-AAF/PHx 大鼠肝细胞细胞凋亡情况的影响 与正常组比较,模型组大鼠 NVNAC, VAC, NVAC 数量明显增加($P < 0.05, P < 0.01$),而 LC 则显著下降($P < 0.01$)。与模型组比较,二至丸预防组和治疗组大鼠 NVNAC, VAC, NVAC 数量明显下降($P < 0.05$),而 LC 则明显增加($P < 0.05, P < 0.01$)。预防组与治疗组间比较无明显统计学差异。见表 2。

表 1 二至丸对 2-AAF/PHx 大鼠肝重指数及肝功能水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of Erzhiwan on index of liver weight and function in 2-AAF/PHx rats($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	肝重指数/%	白蛋白/g·L ⁻¹	AST/U·L ⁻¹	ALT/U·L ⁻¹
正常	-	4.18 ± 0.32	35.45 ± 3.67	8.44 ± 1.14	6.99 ± 1.51
模型	-	3.79 ± 0.34 ¹⁾	23.45 ± 1.13 ²⁾	11.16 ± 2.61 ¹⁾	11.67 ± 4.06 ¹⁾
二至丸预防	6.48	4.37 ± 0.59 ³⁾	26.69 ± 1.25 ⁴⁾	10.01 ± 1.21	6.11 ± 2.95 ³⁾
二至丸治疗	6.48	4.32 ± 0.43 ³⁾	25.75 ± 1.71 ³⁾	7.75 ± 1.39 ³⁾	7.59 ± 2.76 ³⁾
雷帕霉素	0.001	4.34 ± 0.59 ³⁾	30.12 ± 6.43 ³⁾	10.23 ± 1.63	7.81 ± 3.21 ³⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2,3 同)。

表 2 二至丸对 2-AAF/PHx 大鼠肝细胞凋亡的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of Erzhiwan on hepatocyte apoptosis in 2-AAF/PHx rats($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	VAC	LC	NVAC	NVNAC
正常	-	6.38 ± 2.18	74.09 ± 8.38	3.79 ± 0.64	13.71 ± 4.09
模型	-	14.39 ± 3.32 ²⁾	43.05 ± 15.85 ²⁾	8.56 ± 2.50 ²⁾	20.75 ± 6.52 ¹⁾
二至丸预防	6.48	10.56 ± 2.10 ³⁾	61.91 ± 13.82 ³⁾	3.81 ± 1.15 ³⁾	15.00 ± 4.42 ³⁾
二至丸治疗	6.48	9.82 ± 2.21 ³⁾	73.75 ± 7.83 ⁴⁾	3.84 ± 0.91 ³⁾	13.43 ± 4.17 ³⁾
雷帕霉素	0.001	9.68 ± 3.25 ³⁾	63.30 ± 16.02 ⁴⁾	4.05 ± 1.37 ³⁾	13.81 ± 4.17 ³⁾

表 3 二至丸对 2-AAF/PHx 大鼠肝细胞凋亡的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of Erzhiwan on hepatocyte apoptosis in 2-AAF/PHx rats($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	Caspase-3/%
正常	-	20.91 ± 7.34
模型	-	32.03 ± 4.23 ¹⁾
二至丸预防	6.48	22.05 ± 6.46 ³⁾
二至丸治疗	6.48	20.34 ± 6.75 ³⁾
雷帕霉素	0.001	20.30 ± 6.94 ³⁾

白蛋白水平明显升高,且 ALT 和 AST 水平明显下降,且病理学观察提示肝损伤明显好转,提示预防性

3.4 对 2-AAF/PHx 大鼠肝细胞 Caspase-3 表达水平的影响 Caspase-3 是早期细胞凋亡的标志,与正常组比较,模型组大鼠肝细胞 Caspase-3 表达明显升高($P < 0.05$),而预防组和治疗组大鼠肝细胞 Caspase-3 表达下降($P < 0.05$)。预防组与治疗组间比较无明显统计学差异。见表 3。

4 讨论

肝功能检查是探测肝脏有无疾病、肝脏损害程度以及查明肝病原因、判断预后的重要手段之一,白蛋白主要是由肝细胞合成,而 ALT 和 AST 能敏感地反映肝细胞损伤与否及损伤程度。急慢性肝脏疾患发作时,ALT 和 AST 迅速升高^[9]。在本实验中,二至丸经预防性给药和治疗性给药干预损伤后肝细胞再生障碍大鼠后,可见大鼠肝重指数明显升高,同时

给药和治疗性给药后,其肝功能损伤得以明显修复。近年来的研究表明,肝细胞过度凋亡在各种肝脏疾病的发病过程扮演重要角色,在急性肝损伤、慢性肝炎迁延过程及肝硬化过程中都存在肝细胞过度凋亡,肝细胞凋亡程度与肝损伤程度呈正相关^[10-12]。在笔者的试验中发现,二至丸预防给药和治疗性给药后,肝脏坏死细胞、早期凋亡细胞及晚期凋亡细胞明显减少,且作为细胞早期凋亡的标志 Caspase-3 的表达明显下降,提示二至丸预防性和治疗性给药均有明显抑制肝细胞过度凋亡,从而保护受损肝脏。二至丸的现代药理学研究表明,二至丸具有保肝护肝降低各种转氨酶、抑制肝纤维化增强机体免疫力、抗

氧化等作用^[13-16],然而其具体如何降低转氨酶,抑制肝纤维化的明确机制尚不清楚。

综上所述,本课题立足观察二至丸在预防和治疗过程中抑制肝细胞凋亡,促进肝细胞增殖的角度,阐明了二至丸的可能作用方向,然其从何种途径调控肝细胞凋亡的水平,还有待于进一步深入研究。

[参考文献]

[1] 于乐成. 肝细胞损伤和修复研究进展[J]. 肝脏, 2015,20(11): 883-885.

[2] 陈阳,陈京,张尉华. 肝脏疾病的活检病理分析[J]. 中国老年学杂志, 2014, 34(23): 6810-6811.

[3] 钟建平,兰少波,费迎明. 从肝肾同源论治肝病[J]. 浙江中医杂志, 2016,51(9): 687.

[4] 杜进军. 肝病从脾论治[J]. 吉林中医药, 2013, 33(7): 663-664.

[5] 邹勇,左铮云,赵海梅,等. 二至丸药理作用研究进展[J]. 江西中医药,2015,28(3):1-4.

[6] 刘端勇,赵海梅. 从滋阴入手,以二至丸调治亚健康理论解析[J]. 时珍国医国药,2012, 23(1): 217-219.

[7] Juza R M, Pauli E M. Clinical and surgical anatomy of the liver: a review for clinicians [J]. Clin Anat,2014, 27(5):764-769.

[8] 潘孝本,刘峰,王松霞,等. 大鼠肝脏再生过程中细胞标志物演变与骨髓细胞增生[J]. 世界华人消化杂

志,2005,13(5):612-616.

[9] 苏锦良. 肝功能与血清学指标检测对脂肪肝的诊断价值[J]. 中国现代医药杂志,2017,19(2):85-86.

[10] Glowacki M K, Cieřla A, Cibor D, et al. Selected apoptotic markers in serum of patients with chronic viral hepatitis C[J]. Przegl Lek,2014,71(7):369-373.

[11] Potz B A, Lawandy I J, Clements R T, et al. Alcohol modulates autophagy and apoptosis in pig liver tissue [J]. J Surg Res,2016,203(1):154-162.

[12] Mughal M J, XI P, YI Z, et al. A flatoxin B₁ invokes apoptosis via death receptor pathway in hepatocytes [J]. Oncotarget,2017,8(5):8239-8249.

[13] 闫冰,蔡秀江,姚卫峰,等. 二至丸保肝活性成分群对四氯化碳致小鼠急性肝损伤保护作用研究[J]. 中国中药杂志,2012,37(9):1303-1306.

[14] 聂映,姚卫峰. 二至丸不同极性部位对抗大鼠酒精性肝损伤的作用及机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014,20(20):145-149.

[15] 安德明,郑培永,季光. 不同治则中药复方对胆汁淤积性肝纤维化大鼠尿激酶型纤溶酶原激活剂的影响[J]. 中国中医药信息杂志,2009,16(5):31-34.

[16] 张喆,高长玉,韩伟丽,等. 二至丸对 D-半乳糖诱导衰老模型大鼠血清 POD 活性、LPO 含量影响的实验研究[J]. 中医药学报,2013,41(6):79-81.

[责任编辑 周冰冰]