

刘英辉,周东方,金国华,等. 葛根素对急性肝衰竭小鼠的治疗作用及其作用机制[J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(8): 68-74.

Liu YH, Zhou DF, Jin GH, et al. Protective effect of puerarin on acute liver failure in mice and its mechanism of action [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(8): 68-74.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2019.08.011

葛根素对急性肝衰竭小鼠的治疗作用及其作用机制

刘英辉,周东方,金国华,闫文昭,程欣

(河北医科大学第三医院,石家庄 050000)

【摘要】目的 探讨葛根素(puerarin, Pue)对D-氨基半乳糖所致小鼠急性肝衰竭(ALF)的保护作用及初步观察其作用机制。**方法** 将50只昆明小鼠随机分为5组,造模前两周Pue组、LY294002组(LY组)、Pue+LY组尾部静脉注射300 mg/kg Pue、10 mg/kg LY和300 mg/kg Pue+10 mg/kg LY,每天1次,正常对照组和模型组给予等量无菌生理盐水,末次给药后禁食24 h,除正常组外,其他组腹腔注射半乳糖构建ALF模型,正常对照组注射等量无菌生理盐水。生化反应仪检测血清中丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸基转移酶(AST)、总胆红素(TBil)水平,试剂盒法检测肝组织中丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)含量;HE染色、TUNEL染色和蛋白免疫印迹法分别检测小鼠肝脏组织的病理学变化、肝细胞凋亡数量和P-Akt、P-GSK-3 β 、cleaved caspase-3蛋白表达水平。**结果** 与正常对照组相比,模型组小鼠肝细胞凋亡数量,血清ALT、AST、Tbil水平,肝组织MDA含量及cleaved caspase-3蛋白表达水平明显升高($P<0.05$),SOD、GSH-Px含量及P-Akt、P-GSK-3 β 蛋白表达水平明显下降($P<0.05$);Pue组治疗后,与模型组相比,Pue组中各指标的变化均明显改善($P<0.05$),LY组、Pue+LY组与模型组相比组间差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** Pue可能通过激活PI3K/Akt信号通路,从而减轻肝功能的损伤程度,发挥对D-氨基半乳糖诱导的ALF小鼠肝脏的保护作用。

【关键词】 葛根素;D-氨基半乳糖;急性肝衰竭;氧化应激;PI3K;小鼠

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2019) 08-0068-07

Protective effect of puerarin on acute liver failure in mice and its mechanism of action

LIU Yinghui, ZHOU Dongfang, JIN Guohua, YAN Wenzhao, CHENG Xin
(The Third Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, China)

【Abstract】Objective To investigate the protective effect of puerarin (Pue) on acute liver failure (ALF) induced by d-galactosamine in mice and its mechanism. **Methods** Fifty Kunming mice were randomly divided into five groups. Two weeks before modeling, the Pue group, LY294002 group (LY group), and Pue + LY group were injected with 300 mg/kg Pue, 10 mg/kg LY, or 300 mg/kg Pue + 10 mg/kg LY, respectively, into the caudal vein once daily. The normal control and model group rats were administered the same amount of sterile physiological saline. After the final administration and fasting for 24 h, the ALF model was established by intraperitoneal injection of galactose in all groups except the control group which received the same amount of sterile normal saline. Serum levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate transferase (AST), and total bilirubin (TBil) were detected by a biochemical analyzer, and levels of malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), and glutathione peroxidase (GSH-Px) in liver tissues were

detected by kits. Hematoxylin and eosin staining, TUNEL staining, and western blotting were used to detect pathological changes in the mouse liver tissue, apoptosis in liver cells, and the expression levels of P-Akt, P-glycogen synthase kinase (GSK)-3 β , and cleaved caspase-3 protein, respectively. **Results** Compared with the control group, significant increases were detected in the number of apoptotic hepatocytes, serum ALT, AST, and TBil levels, the liver tissue MDA content, and cleaved caspase-3 protein expression levels in the model group ($P < 0.05$), while protein expression levels of SOD, GSH-Px, P-Akt, and P-GSK-3 β were significantly decreased ($P < 0.05$). After treatment, all indices in the Pue group were significantly improved compared with the model group ($P < 0.05$), while there were no significant differences between indices among the LY group, Pue+LY group, and model group ($P > 0.05$). **Conclusions** Puerarin may play a protective role in the liver of mice with d-galactosaminoglycan-induced acute liver failure by activating the PI3K/Akt signaling pathway, thereby reducing the degree of liver function damage.

【Keywords】 puerarin; D-galactosamine; acute liver failure; oxidative stress; PI3K; mice

急性肝衰竭(acute liver failure, ALF)是可由多种原因引起的危重疾病,主要临床表现多为同时出现凝血机制障碍、黄疸、腹水等症候^[1]。ALF 具有隐匿性强、发病迅速等特点,虽然发病率较低,然而目前尚缺乏特异性的治疗措施,致死率很高,引起医学界的广泛关注^[2]。ALF 发病机制复杂,其病理基础是肝脏细胞在短时间内大量死亡,导致肝脏合成、解毒、转化等能力发生功能性障碍或失代偿^[3]。研究表明,在细胞凋亡过程中,磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B (PI3K/Akt) 信号通路对相关蛋白的调节发挥关键作用,可将膜受体信号传递至细胞内,来实现维持细胞增殖和抑制细胞凋亡过程^[4]。作为 Akt 的底物,糖原合成酶激酶-3 β (GSK-3 β) 是调节细胞凋亡的关键元件^[5]。葛根作为我国传统名贵的中草药,具有多种活性成分,其中葛根素除具有提高免疫、增强心肌收缩力,保护心肌细胞,降血压等作用外,对肝损伤的保护作用也已广泛报道^[6]。但葛根素(puerarin, Pue)对 D-氨基半乳糖所致的急性肝衰竭小鼠肝脏的保护作用机制,目前尚鲜见报道。因此本研究采用 D-氨基半乳糖诱导急性肝衰竭小鼠模型,探讨葛根素对肝脏的保护作用,同时分析其对 PI3K/Akt/GSK-3 β 信号通路的调控作用,为进一步研究相关机制提供相应的实验基础。

1.1 实验动物

SPF 级成年雄性昆明小鼠 50 只,体重在(20 $\pm$ 5)g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司[SCXK(京)2011-0011],所有动物均在本实验室 SPF 级动物房饲养[SYXK(冀)2015-0042]。动物的使用及操作按照本院动物管理委员会(IACUC2017-002)的规定执行。实验过程中遵守 3R 原则。

1.2 主要试剂与仪器

葛根素(批号:070319812,纯度>98%)购自昆明

制药厂,用前以生理盐水稀释(pH 7.0),根据体重计算给药体积,4℃保存;丙二醛(malondialdehyde, MDA)(批号:SGA103),超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)(批号:SE103)和谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)(批号:SA625)试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司;丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)(批号:2017030928),天门冬氨酸基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)(批号:2017110812),总胆红素(total bilirubin, TBil)(批号:2017210612),试剂盒购自上海瀚鸿化工科技有限公司;TUNEL 试剂盒(批号:C503028)购自德国罗氏公司;LY294002(批号:BE28491)购自瀚香生物科技有限公司;D-氨基半乳糖(批号:AP1062)购自美国 Sigma 公司,BCA 蛋白浓度检测试剂盒(20170212)、DAB 化学发光试剂盒(批号:D29183874)、P-Akt(批号:E289180)、P-GSK-3 β (批号:A1209300)、cleaved caspase-3(批号:A1805603)抗体均购自上海仁捷生物科技有限公司。万濠 VTM-4030 光学显微镜,上海长岛生物技术有限公司 AVDIA2400 全自动生化反应仪检。

1.3 实验方法

1.3.1 动物分组及模型制备

将 50 只昆明小鼠适应性饲养 7 d 后随机分为 5 组,每组 10 只:(1)正常对照组;(2)模型组;(3)Pue 组(300 mg/kg);(4)P13 K 特异性抑制剂 LY294002 组(LY, 10 mg/kg);(5)Pue(300 mg/kg)联合 LY294002(10 mg/kg)组(Pue+LY 组)。Pue 组、LY 组及 Pue+LY 组造模前根据实验设计需要给予相应药物,每日 1 次,连续给药两周,给药方式为尾部静脉注射,正常对照组和模型对照组均以同样方式注射等量无菌生理盐水。末次给药后禁食 24 h,除正常组外,其他组腹腔注射 10% D-氨基半乳糖(1.2 mL/100 g)

造模,正常对照组注射等量生理盐水。

1.3.2 血清及肝脏生化指标检测

建模后 8 h,采集各组小鼠静脉血,引颈处死小鼠后固定,沿腹中线切开腹壁,暴露腹腔组织,小心分离肝脏。常规分离静脉血血清,4 h 内采用全自动生化反应仪检测小鼠 ALT、AST、Tbil、Alb 肝功能指标。准确称量部分肝脏组织,加入预冷的 PBS 缓冲液制成 10% 匀浆,4℃ 下 4000 r/min 离心 10 min,取上清依据 SOD、GSH-Px 和 MDA 检测试剂盒说明书所示的操作方法进行测定,并计算每克肝组织中的活性或含量。

1.3.3 HE 染色观察小鼠肝脏组织形态变化

切取部分肝脏右叶,采用 4% 的甲醛固定 24 h 后进行常规脱水和石蜡包埋,将小鼠肝脏组织石蜡块切成 5 μm 厚度的切片,进行 HE 染色,光学显微镜下观察组织学改变。

1.3.4 TUNEL 法检测肝脏细胞凋亡

取小鼠部分肝脏组织切片按试剂盒步骤进行 TUNEL 染色。主要步骤为切片脱蜡水化后,蛋白酶 K(10 mmol/L)处理 20 min,PBS 清洗 5 min×3 次,将载玻片浸入 TUNEL 反应混合物在 37℃ 下避光温育 60 min,PBS 清洗 5 min×3 次;在 37℃ 下,用 POD 反应液避光温育 30 min;PBS 清洗 5 min×3 次;滴加 DAB 底物溶液显色,室温孵育 10 min,乙醇梯度脱水,二甲苯透明,中性树脂封片,光学显微镜下观察肝细胞凋亡情况。以显示蓝色的核染色为正常细胞,细胞核中有棕黄色颗粒为阳性细胞(凋亡细胞)。凋亡细胞所占百分比(凋亡率):每只小鼠取 4 张切片,每张切片在 200 倍视野下随机选取 3 个不重叠视野,每个视野计数阳性细胞占总细胞的比例,取平均值即为细胞凋亡率。

1.3.5 Western blot 法检测肝脏组织中 P-Akt、P-

GSK-3β、cleaved caspase-3 表达的影响

取小鼠部分肝脏组织加入 RIPA 组织裂解液中匀浆器打碎,冰浴 5 min 后离心,离心条件:13000 r/min,4℃,时间 10 min,获得上清,BCA 蛋白定量试剂盒进行上清中蛋白浓度的定量检测,用 2×电泳缓冲液稀释蛋白至相同浓度。10% 的聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离蛋白,用 Tris/甘氨酸缓冲液将蛋白转移至 PVDF 膜上,5% TBST 液中室温封闭 2 h,将 PVDF 膜放入相应一抗稀释液(均为 1:1000)中孵育,4℃ 过夜。次日,将膜取出,TBST 液洗涤 10 min,加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG 二抗稀释液(均为 1:10 000),室温孵育 2 h,加入 DAB 发光液,凝胶成像仪下读取读取灰度值,以 GAPDH 作为内参,计算目的蛋白相对表达水平。

1.4 统计学方法

数据分析采用软件 SPSS 16.0,符合正态分布的计量资料采用平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)进行表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两间比较采用独立 *t* 检验,蛋白条带的量化采用 Image J 软件进行,多组间均数差异用单因素方差分析(one-way ANOVA),两两间比较用 SNK-*q* 检验。以 *P* < 0.05 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 葛根素对 ALF 小鼠肝功能的影响

血清 ALT、AST、Tbil 水平是临床反映肝细胞损伤和坏死程度的敏感指标,与正常对照组相比,模型组小鼠 ALT、AST、Tbil 指标明显升高,差异有统计学意义(*P* < 0.05),经 Pue 预处理后,与模型组相比,Pue 组肝功能指标出现明显下降,差异有统计学意义(*P* < 0.05),LY 组、Pue+LY 组与模型组相比组间差异无统计学意义(*P* > 0.05),结果见表 1。

表 1 葛根素对 ALF 小鼠肝功能的影响
Table 1 Effects of puerarin on liver function in the ALF mice

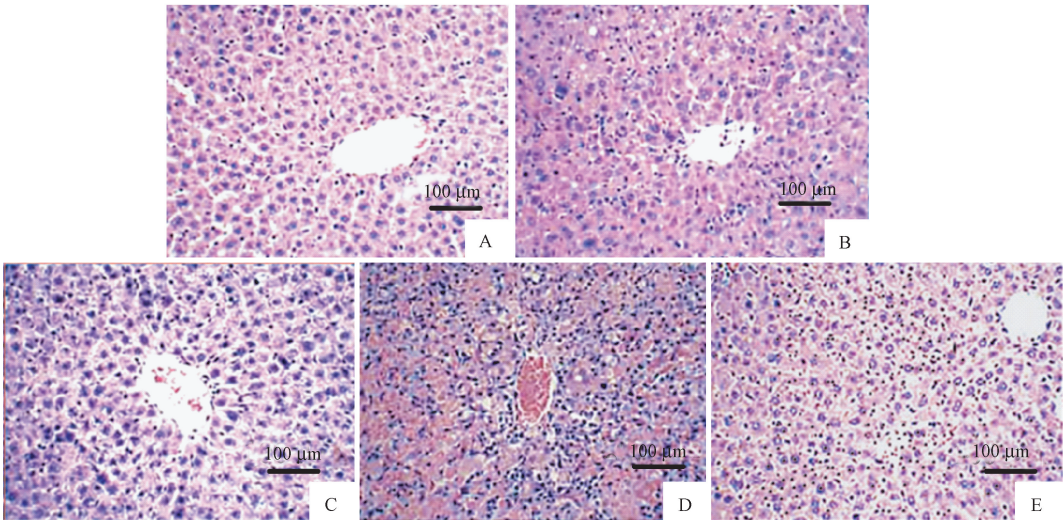
组别 Groups	丙氨酸氨基转移酶 (U/L) ALT	天门冬氨酸基转移酶 (U/L) AST	总胆红素 (μmol/L) Tbil
正常对照组 Normal group	38.74±5.05	131.79±11.86	6.63±0.12
模型组 Model group	212.40±11.39 [*]	336.00±11.51 [*]	38.84±6.82 [*]
Pue 组 Pue group	82.38±11.71 [#]	209.21±12.45 [#]	22.28±3.22 [#]
LY 组 LY group	238.19±10.70	352.71±12.13	42.63±7.28
Pue+LY 组 Pue+LY group	186.78±11.63	279.39±11.24	33.19±5.29

注:与正常对照组相比,^{*}*P* < 0.05;与模型组相比,[#]*P* < 0.05。
Note. Compared with the normal group, ^{*}*P* < 0.05. Compared with the model group, [#]*P* < 0.05.

2.2 葛根素对 ALF 小鼠肝脏病理的影响

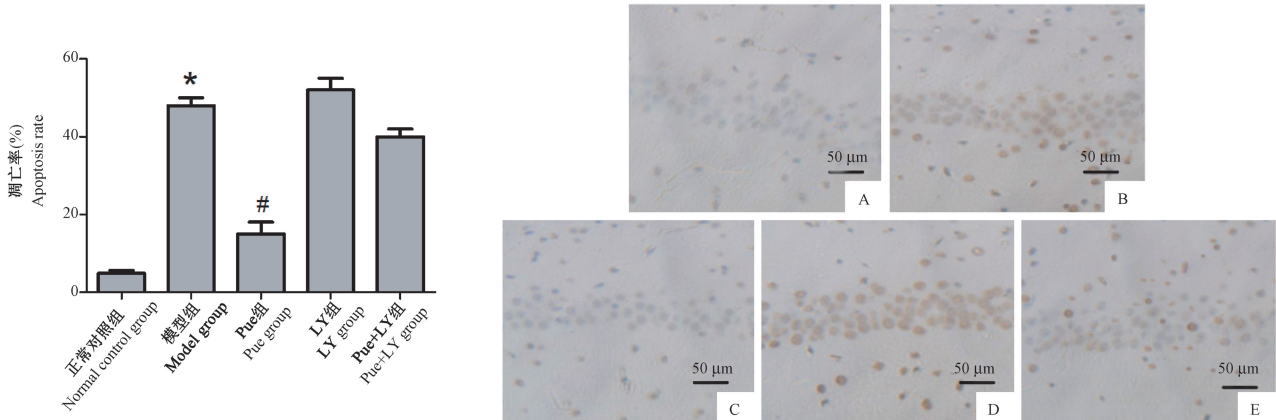
HE 染色结果显示,正常对照组小鼠肝脏细胞结构完整,排列有序,细胞核体积较大,具有明确的核染色和正常的形态,并没有发生损伤坏死现象;

模型组小鼠肝脏细胞变小、变圆,有小的、质密不规则的固缩核为死亡的肝脏细胞;Pue 可明显减少肝脏细胞丢失,改善细胞异常形态;LY 组、LY+Pue 组小鼠肝脏病理结构与模型组相似。见图 1。



注:A:正常对照组,B:模型组,C:Pue 组,D:LY 组,E:Pue+LY 组。
图 1 葛根素对 ALF 小鼠肝脏病理的影响(×200)
Note. A, Normal group. B, model group. C, Pue group. D, LY group. E, Pue+LY group.

Figure 1 Effects of puerarin on liver pathology of the ALF mice



注:A:正常对照组,B:模型组,C:Pue 组,D:LY 组,E:Pue+LY 组。与正常对照组相比,* $P<0.05$,与模型组相比,# $P<0.05$ 。
图 2 葛根素对 ALF 小鼠肝脏细胞凋亡的影响(TUNEL 染色)
Note. A, Normal group. B, Model group. C, Pue group. D, LY group. E, Pue+LY group. Compared with the normal control group, * $P<0.05$. Compared with the model group, # $P<0.05$.

Figure 2 Effect of puerarin on the hepatocyte apoptosis in ALF mice. TUNEL staining

2.3 葛根素 ALF 小鼠肝脏细胞凋亡的影响

ALF 小鼠肝脏经过 TUNEL 法染色在光镜下观察呈棕色,如图 2 所示,正常对照组肝脏细胞并未出现明显凋亡现象,与正常对照组相比,模型组小鼠肝脏细胞出现严重凋亡,差异具有统计学意义($P<0.05$);与模型组相比,Pue 组小鼠肝脏细胞凋亡明

显降低,差异具有统计学意义($P<0.05$);LY 组、Pue+LY 组与模型组相比组间差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.4 葛根素对 ALF 小鼠肝脏组织中氧化应激的影响

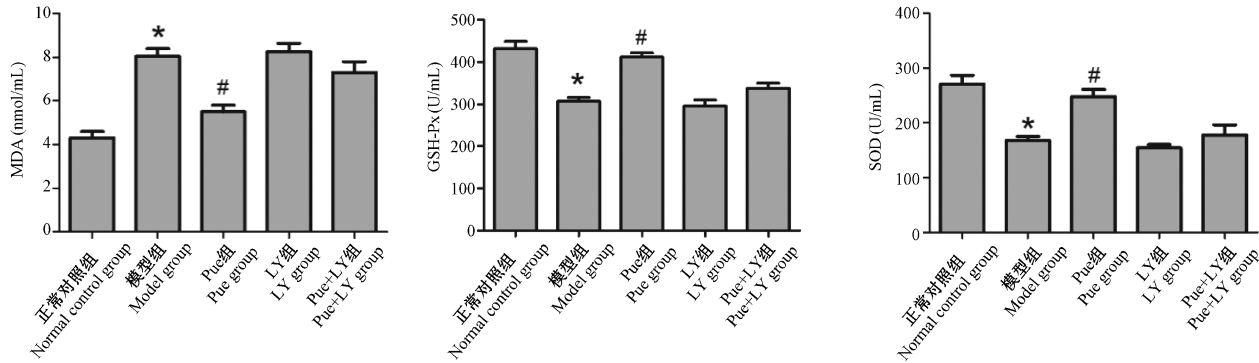
SOD、GSH-Px 和 MDA 作为机体氧化应激反应

的代表物质,本研究检测了 ALF 小鼠肝脏组织中 SOD、GSH-Px 和 MDA 的水平,结果显示和正常对照组相比,模型组中 SOD、GSH-Px 水平出现明显的降低,MDA 水平明显的升高 ($P<0.05$);与模型组相比,Pue 组中 SOD、GSH-Px 水平出现明显的升高,MDA 水平明显的降低 ($P<0.05$);LY 组、Pue+LY 组小鼠肝脏组织 SOD、GSH-Px 和 MDA 的水平与模型组相比,差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见图 3。

2.5 葛根素对 ALF 小鼠肝脏组织中 P-Akt、P-GSK-3β 及 cleaved caspase-3 表达的影响

为了进一步观察 Pue 对 ALF 小鼠模型肝脏的

保护作用机制,本研究采用蛋白免疫印迹法检测了肝脏组织中 Akt、GSK-3β 和 cleaved caspase-3 蛋白磷酸化水平,结果显示与正常对照组相比,模型组中 Akt、GSK-3β 磷酸化水平明显下降 ($P<0.05$),cleaved caspase-3 明显升高 ($P<0.05$);与模型组相比,Pue 组小鼠肝组织中 Akt、GSK-3β 磷酸化明显升高,差异具有统计学意义 ($P<0.05$),cleaved caspase-3 明显下降 ($P<0.05$),LY 组、Pue+LY 组与模型组相比组间差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见图 4。

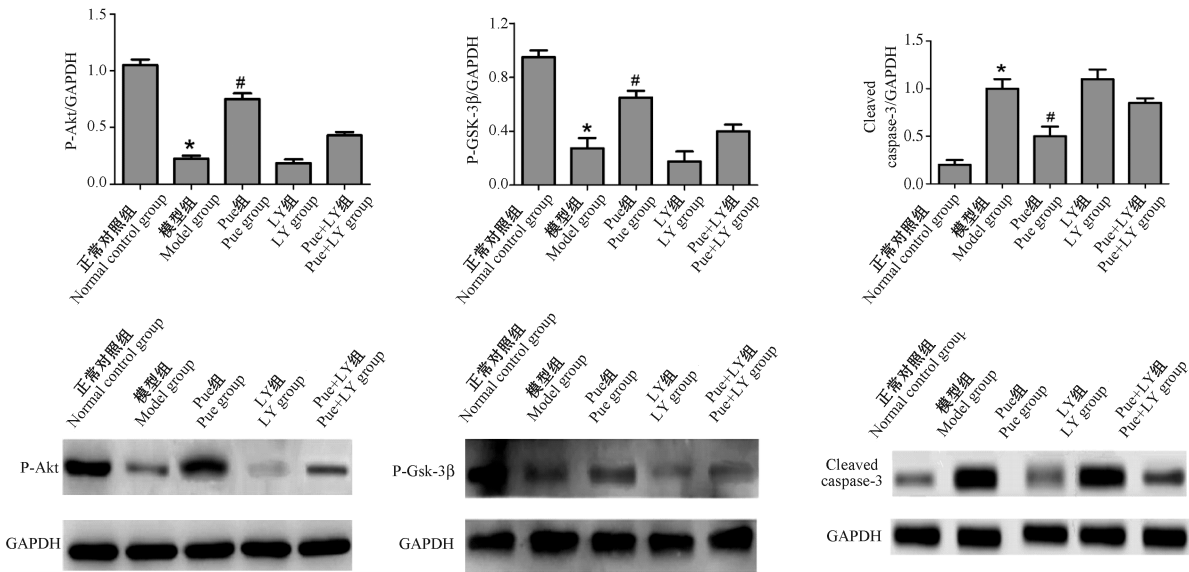


注:与正常对照组相比, * $P<0.05$,与模型组相比, # $P<0.05$ 。

图 3 葛根素对 ALF 小鼠肝脏组织中氧化应激的影响

Note. Compared with the normal control group, * $P<0.05$. Compared with the model group, # $P<0.05$.

Figure 3 Effect of puerarin on oxidative stress in the liver tissues of ALF mice



注:与正常对照组相比, * $P<0.05$,与模型组相比, # $P<0.05$ 。

图 4 Pue 对 ALF 小鼠肝脏组织中 P-Akt、P-GSK-3β、cleaved caspase-3 表达的影响

Note. Compared with the normal control group, * $P<0.05$. Compared with the model group, # $P<0.05$.

Figure 4 Effects of Pue on the expression of p-akt, p-gsk-3 and cleaved caspase-3 in the liver tissues of ALF mice

3 讨论

ALF 是以肝功能迅速恶化为临床特点的急性综合征^[7]。患有慢性肝炎、肝纤维化等慢性肝病的患者可在劳累、饮酒、病毒感染等诱因下出现肝脏大面积死亡直至衰竭,其中以感染最为多见^[8],治疗困难,给患者家庭造成沉重的负担。研究 ALF 疾病的发展规律、促进临床治疗及肝脏组织修复一直以来是科学界研究的热点之一。

现代药理学认为,Pue 可以提高自身免疫力,降血脂等多种生物学功能^[9],随着研究的深入,Pue 对肝脏细胞损伤方面的研究逐渐增多。金若天等^[10]采用透射电镜发现 Pue 预处理可以显著降低肝脏缺血再灌注损伤后大鼠肝细胞凋亡率。另有报道,通过研究 Pue 对葛根素对四氯化碳所诱导肝纤维化大鼠的肝脏的影响,发现 Pue 对于肝脏组织中 caspase-9 蛋白的表达具有显著的抑制作用,且通过 TUNEL 染色法发现肝脏细胞凋亡率明显减少,提示 Pue 对于多种原因引起的肝细胞凋亡起到保护作用^[11]。本研究通过 D-氨基半乳糖诱导 ALF 小鼠模型研究 Pue 的药理作用,发现模型组小鼠肝功能指标明显降低,且肝脏组织细胞凋亡数目增多。本研究根据预实验结果选择 Pue 给药浓度,结果表明,经过 Pue 预处理的小鼠与模型组相比,减轻 D-氨基半乳糖对肝功能的损伤程度,肝细胞凋亡受到抑制,与既往研究结果一致。

细胞内经过一系列复杂的信号传递实现了机体生物学行为,PI3K/Akt 信号通路通过胞内信号传递在细胞迁移、动员、分化和抗凋亡等细胞生存调节过程中发挥重要的作用,在近年来的研究中越来越受到重视^[12]。LY294002 是公认的 PI3K 抑制剂,可特异性抑制 PI3K110 亚基单元的活性,阻断 PI3K 介导的信号通路^[13]。本研究中使用 LY294002 验证 Pue 对 PI3K/Akt/GSK3 β 信号通路的调节保护 D-氨基半乳糖诱导的 ALF 的作用机制,结果显示,Akt 和 GSK-3 β 磷酸化水平在 Pue 组与模型组相比大幅增加,而 Pue+LY 组较 Pue 组下降明显,LY294002 逆转了 Pue 介导的 Akt 和 GSK3 β 磷酸化水平,提示 Pue 可通过 PI3K 来实现 Akt 和 GSK3 β 磷酸化进程。有研究表明^[14],PI3K/Akt/GSK-3 β 信号通路抑制肝脏细胞的凋亡,同时在后期参与了其修复过程,从而对肝脏生理功能起到保护作用。与 Pue 组相比,Pue+LY 组小鼠肝功能明显降低,且肝细胞凋

亡的数量增加,提示 Pue 可能是通过调控 PI3K/Akt/GSK-3 β 信号通路实现对肝细胞的保护作用。

天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白激酶家族(caspases)在细胞凋亡过程中发挥重要作用,caspase 可将自身底物水解传递至凋亡通路,引起蛋白酶级联反应导致细胞程序性死亡^[15]。cleaved caspase-3 是 caspases 级联反应中下行的最关键蛋白酶,在凋亡程序中起到中枢作用^[16]。本研究 ALF 小鼠经 Pue 预处理后检测 cleaved caspase-3 的表达,结果显示,cleaved caspase-3 出现下调,提示 Pue 抑制 D-氨基半乳糖诱导所致 ALF 小鼠肝细胞凋亡可能是通过下调 cleaved caspase-3 来实现的。与 Pue 组相比,Pue+LY 组 cleaved caspase-3 表达明显增加,说明该作用机制与 PI3K/Akt 通路有关。

文献报道称^[17],PI3K/Akt/GSK-3 β 信号通路可介导细胞发生氧化应激反应。Lee 等^[18]研究发现,随着 GSK-3 β 磷酸化水平的升高,血清中 SOD 活性和 GSH/GSSG 的比值随之增高,同时 MDA 含量下降,通过 GSK-3 β 抑制剂(TDZD-8)处理后,抗氧化作用被明显逆转。而氧化应激在 ALF 的发生发展中发挥着关键作用^[19]。肝脏组织在自由基的作用下发生脂质过氧化,生成 MDA 等物质,严重者会造成肝组织细胞的 DNA 损伤^[20]。本研究中,模型组昆明小鼠肝脏组织因注射 D-氨基半乳糖,其肝组织中 SOD 活性和 GSH-Px 含量明显降低,而 MDA 的含量明显上升,说明 D-氨基半乳糖诱导的 ALF 模型小鼠机体内发生氧化应激反应,并对小鼠肝组织造成氧化性损伤。Pue 组可以明显改善小鼠肝组织中 SOD、GSH-Px 和 MDA 水平,而 LY 组、Pue+LY 组氧化应激指标与模型组相比差异无统计学意义($P>0.05$),提示 Pue 会减轻 D-氨基半乳糖诱导的 ALF 小鼠氧化应激状态而对肝脏起到保护作用,可能与 GSK-3 β 信号通路有关。

综上所述,Pue 可能通过激活 PI3K/Akt 信号通路,从而减轻肝功能的损伤程度,抑制肝脏细胞凋亡的发生,减轻机体氧化应激状态,发挥对 D-氨基半乳糖诱导的 ALF 小鼠肝脏的保护作用。但 Pue 是否还能通过调节其他通路来影响疾病进程,仍需进一步的研究。

参考文献:

- [1] 苗静,吴素琼,郭丽颖,等. 甲胎蛋白和胆碱酯酶在乙型肝炎病毒相关慢急性肝衰竭患者中应用价值的研究[J]. 中华危重病急救医学, 2016, 28(3): 257-261.

- [2] 李晨,吕飒,朱冰,等.乙型肝炎病毒相关慢加急性肝衰竭患者近期预后危险因素的研究[J].中华肝脏病杂志,2016,24(3):207-213.
- [3] Hillman L, Gottfried M, Whitsett M, et al. Corrigendum: clinical features and outcomes of complementary and alternative medicine induced acute liver failure and injury [J]. Am J Gastroenterol, 2016, 111(10):1504.
- [4] Li Y, Lu L, Luo N, et al. Inhibition of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway protects against d-galactosamine/lipopolysaccharide-induced acute liver failure by chaperone-mediated autophagy in rats [J]. Biomed Pharmacother, 2017, 92: 544-553.
- [5] Wang W, Gu L, Verkhatsky A, et al. Ammonium increases TRPC1 expression via Cav-1/PTEN/AKT/GSK3 β pathway [J]. Neurochem Res, 2017, 42(3): 762-776.
- [6] 周步高,邹勇,王馨,等.葛根素对损伤后肝细胞再生障碍大鼠的肝保护作用评价[J].中华中医药杂志,2017,32(5):2046-2049.
- [7] Shi XL, Gao Y, Yan Y, et al. Improved survival of porcine acute liver failure by a bioartificial liver device implanted with induced human functional hepatocytes [J]. Cell Res, 2016, 26(2): 206-216.
- [8] Alexopoulou A, Koskinas J, Deutsch M, et al. Acute liver failure as the initial manifestation of hepatic infiltration by a solid tumor: report of 5 cases and review of the literature [J]. Tumori, 2016, 92(4): 354-357.
- [9] 赵海梅,徐荣,黄敏芳,等.葛根素对肝损伤后肝细胞再生障碍大鼠外周血中 T 细胞亚群的影响[J].世界中西医结合杂志,2016,11(5):593-596.
- [10] 金若天,殷涛.葛根素对大鼠肝脏缺血再灌注损伤后细胞凋亡的影响及作用机制[J].中国老年学杂志,2017,37(6):1344-1346.
- [11] Li L, Yin H, Zhao Y, et al. Protective role of puerarin on LPS/D-Gal induced acute liver injury via restoring autophagy [J]. Am J Transl Res, 2018, 10(3): 957-965.
- [12] 谈志丽,钟欢,朱彤,等.糖原合成激酶 3 β 在急性肝衰竭免疫炎症反应中的作用及机制研究进展[J].免疫学杂志,2017,33(6):547-552.
- [13] 杨柳,刘晓军,王宏宇,等.环孢素 A 对肝细胞中磷酸化 AKT 蛋白表达的影响[J].中国比较医学杂志,2016,26(6):18-22.
- [14] Gong X, Cao P, Liu L, et al. Tamoxifen prevents D-galactosamine/lipopolysaccharide-induced murine acute hepatic failure through inhibition of oxidative stress and Mmd-2 upregulation [J]. Immunol Invest, 2018, 47(6): 547-557.
- [15] Bryant AM, Plante K, Ross A, et al. Lipid binding preferences of the alternatively translated region of PTEN-long [J]. Biophys J, 2018, 114(3): 277a.
- [16] Polivka J Jr, Janku F. Molecular targets for cancer therapy in the PI3K/AKT/mTOR pathway [J]. Pharmacol Ther, 2014, 142(2): 164-175.
- [17] Zhang H, Jia R, Wang F, et al. Catalpol protects mice against lipopolysaccharide/D-galactosamine-induced acute liver injury through inhibiting inflammatory and oxidative response [J]. Oncotarget, 2018, 9(3): 3887-3894.
- [18] Lee SH, Choi NY, Yu HJ, et al. Atorvastatin protects NSC-34 motor neurons against oxidative stress through the activation of PI3K, ERK and free radical scavenging [J]. Mol Neurobiol, 2016, 53(1): 695-705.
- [19] Zhang X, Jiang W, Zhou AL, et al. Inhibitory effect of oxymatrine on hepatocyte apoptosis via TLR4/PI3K/Akt/GSK-3 β signaling pathway [J]. World J Gastroenterol, 2017, 23(21): 3839-3849.
- [20] López ML, Uribe-Cruz C, Osvaldt A, et al. Encapsulated platelets modulate Kupffer cell activation and reduce oxidative stress in a model of acute liver failure [J]. Liver Transpl, 2016, 22(11): 1562-1572.

[收稿日期] 2019-01-22