

刘丹,曹硕,刘阳,等. 地鳖肽对 CCl₄ 诱导的慢性肝损伤小鼠的抗氧化保护作用的研究[J]. 中国实验动物学报, 2020, 28(1): 73-80.

Liu D, Cao S, Liu Y, et al. Protective effects of ESW peptides on carbon tetrachloride-induced chronic liver injury in mice [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2020, 28(1): 73-80.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2020.01.011

地鳖肽对 CCl₄ 诱导的慢性肝损伤小鼠的抗氧化保护作用的研究

刘丹¹, 曹硕¹, 刘阳¹, 刘杰¹, 王朕¹, 张永红^{1,2*}, 沈红^{1,2*}

(1. 北京农学院动物科学技术学院 动物类国家级实验教学示范中心, 北京 102206;
2. 北京农学院 兽医学(中医药)北京市重点实验室, 北京 102206)

【摘要】 目的 探讨地鳖肽对 CCl₄ 致诱导的慢性肝损伤小鼠的抗氧化保护作用。**方法** 小鼠随机分为正常组、模型组、地鳖肽组(50、100、200 mg/kg)及阳性药组, 正常组小鼠灌服生理盐水, 地鳖肽组小鼠每天灌服不同剂量地鳖肽、阳性药组小鼠每天灌胃水飞蓟素(100 mg/kg), 连续6周, 同时除正常组小鼠腹腔注射花生油溶液外, 其余组小鼠腹腔注射0.1% CCl₄ 花生油溶液10 mL/kg, 每周2次连续6周, 末次给药24 h后小鼠称重处死取肝组织, HE染色观察肝组织学变化, 分光光度法检测肝功能酶(AST、ALT)、抗氧化酶(SOD、CAT、GSH-Px)、过氧化物(MDA), 荧光定量PCR法测定炎症因子、凋亡因子、纤维化因子基因表达, ELISA测定炎症因子蛋白水平。**结果** 显微镜观察结果正常组小鼠肝细胞未见异常, 模型组小鼠肝细胞出现充血、坏死、纤维化现象、肝小叶消失, 地鳖肽组小鼠肝细胞形态结构损伤, 随地鳖肽剂量增加肝细胞损伤程度明显减弱, 小鼠肝脾指数明显低于模型组; 与模型组比较, 地鳖肽组小鼠血清中AST、ALT活力显著降低、肝中MDA含量明显降低、抗氧化酶(SOD、CAT、GSH-Px)活力显著提高, 炎症因子(IL-6、TNF-α、iNOS)蛋白与基因表达水平均显著降低, 促凋亡因子(Bax、Caspase-3)和纤维化因子(α-SMA、TGF-β)基因水平表达也明显降低。**结论** 地鳖肽可有效改善CCl₄致小鼠慢性肝损伤, 其保护效应可能与地鳖肽抗氧化作用密切相关。

【关键词】 小鼠; 地鳖肽; 四氯化碳; 抗氧化; 肝纤维化

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2020) 01-0073-08

Protective effects of ESW peptides on carbon tetrachloride-induced chronic liver injury in mice

LIU Dan¹, CAO Shuo¹, LIU Yang¹, LIU Jie¹, WANG Zhen¹, ZHANG Yonghong^{1,2*}, SHEN Hong^{1,2*}

(1. College of Animal Science and Technology / National Demonstration Center for Experimental animal Education, Beijing 102206, China. 2. Beijing Key Laboratory of Traditional Chinese Veterinary Medicine, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206)

Corresponding author: SHEN Hong. E-mail: shenhong912@sina.com; ZHANG Yonghong. E-mail: yhh2266@126.com

【Abstract】 Objective To investigate the antioxidative protective effects of *Eupolyphaga sinensis* Walker (ESW) polypeptides on carbon tetrachloride (CCl₄)-induced chronic liver injury in mice. **Methods** Mice were randomly divided

[基金项目] 北京市教委科研计划一般项目(KM201910020006); 2019年北京高等学校高水平人才交叉培养实培计划大学生毕业设计(科研类)项目(PXM2020_014207_000009); 北京农学院教学团队项目(BUA2017JG068)。

Funded by Beijing Municipal Education Commission Research Project General Project (KM201910020006), Beijing Agricultural College Undergraduate Education Management Quality Improvement Project in 2019 (PXM2020_014207_000009), Beijing University of Agricultural Teaching Team Project (BUA2017JG068).

[作者简介] 刘丹(1993—), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 兽医药理与毒理。Email: vetliudan@163.com

[通信作者] 沈红(1961—), 女, 教授, 研究方向: 兽医药理与毒理。Email: shenhong912@sina.com;

张永红(1963—), 男, 副教授, 研究方向: 动物疾病诊断与防控。Email: yhh2266@126.com。 * 共同通信作者

into the normal, model, ESW peptides (50, 100, 200 mg/kg) or positive drug groups. Mice in control group were intraperitoneally administered physiological salt solution. Mice in the ESW peptides group were intraperitoneally administered different doses of ESW peptides, and the positive drug group was intraperitoneally administered 100 mg/kg silymarin daily for 6 consecutive weeks. All mice except those in the normal group were intraperitoneally injected with 0.1% CCl_4 peanut oil solution (10 mL/kg) twice weekly for 6 consecutive weeks. Twenty-four hours after the final administration, the mice were weighed and sacrificed, and their liver tissues were removed, processed and stained with hematoxylin and eosin to evaluate the changes in liver histology. Liver function enzymes (AST and ALT), antioxidant enzymes and peroxide (MDA) were detected via spectrophotometry. Inflammatory factors, apoptotic factors and fibrosis factor gene expression were determined via quantitative PCR. Enzyme-linked immunosorbent assay was used to assay inflammatory factor protein levels.

Results No microscopic abnormalities were found in the liver cells of the normal group. In the model group, the hepatocytes showed hyperemia, necrosis and fibrosis, and the hepatic lobules had disappeared. The morphological structures of the hepatocytes in the ESW peptides group were damaged, but increasing the ESW peptide dose significantly lessened the degree of the injury, and the liver and spleen indices of these mice were significantly lower than those of the model group. Compared with the model group, the serum Aspartate aminotransferase (AST) and Alanine aminotransferase (ALT) enzyme activities and the MDA content in the livers of the mice in the ESW peptides group were significantly decreased. Additionally, the antioxidant enzyme (SOD, CAT, GSH-Px) activities were significantly improved, the inflammatory factor (IL-6, TNF- α , iNOS) protein and gene expression levels were significantly decreased, and the pro-apoptotic factor (Bax, Bcl-2, Caspase-3) and fibrosis factor (α -SMA, TGF- β) gene levels were significantly decreased and positively correlated with the ESW polypeptide dose. **Conclusions** ESW peptides attenuates CCl_4 -induced chronic liver injury in mice, and these protective effects may be closely related to the peptides' antioxidant effects.

【Keywords】 mouse; ESW peptide; carbon tetrachloride; antioxidant; liver fibrosis

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

肝是机体重要代谢器官,对机体内去氧化、肝糖储存、分泌蛋白等起重要作用,其还担负机体解毒、消化等重要的生理功能^[1-2]。肝损伤多是由体内产生自由基过多,过氧化导致,临床表现为食欲减退、体重减轻、腹胀等^[3]。肝疾病是严重危害机体健康的疾病之一,其最常见致病因素如病毒、细菌、药物、酒精、缺血、肝部分切除等,造成肝细胞的一系列病变,及慢性肝损伤^[4-5]。四氯化碳(CCl_4)对动物肝具有强烈的毒性,引起肝组织脂质过氧化和炎症反应,导致肝细胞损伤和坏死,甚至肝纤维化, CCl_4 常用于建立动物慢性肝损伤模型^[6]。中医药古籍记载地鳖(*Eupolyphaga sinensis* Walker, ESW)具有活血化瘀、通经活络、接骨续筋等功效^[7]。现代技术分析地鳖有多种有效成分,主要有蛋白质、维生素、矿物元素、多糖、生物碱等^[8]。研究表明,地鳖有效提取成分之一地鳖肽具有明显清除自由基,抗氧化和抗衰老等作用^[9]。研究表明,采用酶解蛋白获得多肽及生物技术提取小分子肽清除自由基能力强^[10]。本研究基于前期研究成果地鳖肽抗氧化作用,拟通过四氯化碳诱导小鼠建立慢性肝损伤模型,探讨地鳖肽对肝损伤小鼠的抗氧化保护作用及其机制,为其开发作为抗氧化剂提供试验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

6 ~ 8 周龄健康昆明小鼠,体重 20 ~ 22 g,清洁级,购于中国军事医学科学院实验动物中心【SCXK(京)2016-0002】。饲养和无菌手术均在北京农学院实验动物示范中心屏障动物实验设施进行【SYXK(京)2015-0004】,并按实验动物使用的 3R 原则给予人道的关怀。小鼠饲养期间自由饮水,饲喂由中国军事医学科学院实验动物中心提供的普通维持饲料,温度和湿度恒定,饲养符合实验动物要求。

1.1.2 试剂与仪器

谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、过氧化氢酶(CAT)和丙二醛(MDA)试剂盒均购自南京建成生物有限公司,HiFi-MMLV cDNA Kit 购自康为试剂生物科技有限公司,小鼠 TNF- α 、IL-6 和 iNOS ELISA 试剂盒购自 Elabscier 公司,四氯化碳(CCl_4)、地鳖肽 ESW peptides 由本实验室制备;所有引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

UV-3 紫外可见分光光度(上海美普达有限公

司),低温高速离心机(Eppendorf 公司),超低温冰箱(日本 SANYOO 公司),NanoDrop2000 核酸蛋白分析仪(Thermo Fisher Scientific),S1000 Thermal Cycler 梯度 PCR 仪(Bio-Rad),CFX Connect 荧光定量 PCR 检测系统。

1.2 方法

1.2.1 动物分组与处理

取小鼠随机分为正常组(Control group, C)、模型组(Model group, M)、阳性药组(Positive group, P)、地鳖肽(50 mg/kg、100 mg/kg、200 mg/kg)组。除正常组外其余所有小鼠腹腔注射 0.1%CCl₄ 花生油溶液 10 mL/kg,每周 2 次连续 6 周;地鳖肽组小鼠分别灌服不同剂量地鳖肽,阳性药组小鼠灌服水飞蓟素 100 mg/kg,模型组和正常组小鼠灌服生理盐水 10 mL/kg,每天 1 次连续 6 周。

1.2.2 一般指标观察及脏器指数

肉眼观察小鼠的一般情况,每周称重并记录。末次给药 24 h 后,眼球采血,制备血清备用。颈椎脱臼处死小鼠,剖腹取肝脾称重,按公式计算脏器指数=脏器质量(mg)/体重(g)。

1.2.3 小鼠肝组织结构的观察

取小鼠肝右叶、用 4%多聚甲醛溶液浸泡固定、制作肝组织切片、HE 染色,光学显微镜下观察肝组织结构变化,拍照。

1.2.4 肝功能酶和指标抗氧化酶活性和 MDA 含量炎症因子蛋白水平检测

取待测血清,按照试剂盒说明测定肝功能酶

(ALT、AST)活性;称取小鼠肝左叶 0.2 g,生理盐水清洗,匀浆制备 10%肝匀浆,按照试剂盒说明书操作测定抗氧化酶(SOD、CAT、GSH-PX)活性和 MDA 含量,炎症因子(IL-6、TNF-α、iNOS)含量。

1.2.5 肝组织炎症凋亡及纤维化因子基因表达的检测

采用 TRIzon 提取小鼠肝组织总 RNA,逆转录合成 cDNA,荧光定量 PCR 仪实时定量扩增,以 GAPDH 为内参,根据 IL-6、TNF-α、iNOS、Bax、Bcl-2、Caspase-3、α-SMA、TGF-β1 引物,Tm 值进行分析,SDS 软件分析数据,比较 Ct 值分析结果。

1.3 统计学分析

结果用平均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。应用 SPSS 19.0 软件进行统计分析,选择 LSD 法进行组间比较,以 $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 小鼠一般情况及肝组织形态结构变化分析

整个试验过程中正常组小鼠生长状况良好;模型组小鼠随着 CCl₄ 灌服出现精神萎靡、食量减少、大便稀溏等现象;阳性药组和地鳖肽组小鼠状态较模型组明显有所改善,毛色有光泽。肉眼观察肝组织,结果正常组小鼠肝颜色呈红褐色,表面光滑,质地柔软;模型组小鼠肝颜色发黯,质地松软;阳性药物组和地鳖肽组与模型组比较小鼠肝损伤均有所减轻,高剂量地鳖肽组小鼠肝外观接近对照组(图 1)。

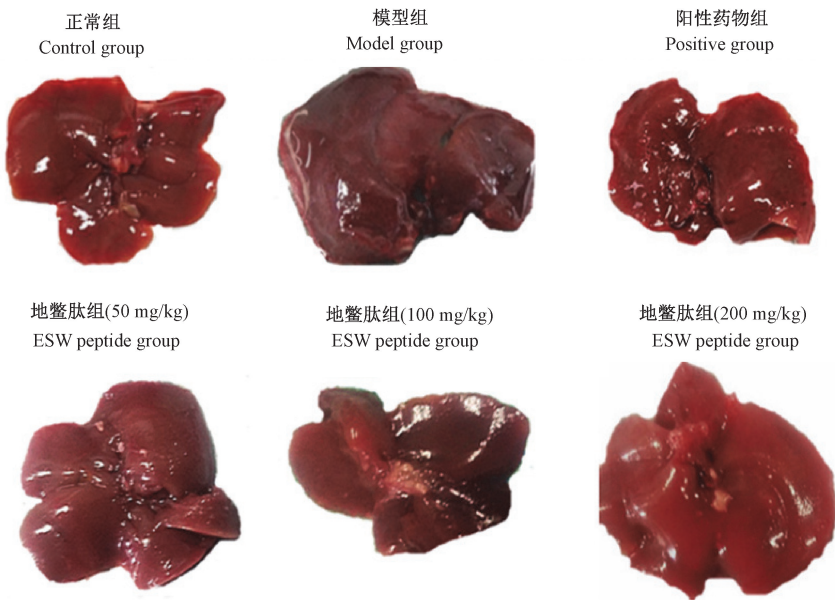


图 1 肉眼观察慢性肝损伤小鼠肝组织变化
Figure 1 Macroscopic observation of liver tissue changes in mice with chronic liver injury

显微镜观察正常组小鼠肝小叶结构正常,肝细胞排列整齐,中央静脉血管壁清晰可见;模型组小鼠肝组织肝细胞索排列紊乱、肿胀变性,中央静脉管腔内有淤血,炎性细胞浸润,纤维增生;地鳖肽组

随着地鳖肽剂量增加小鼠肝细胞变性和坏死程度减轻,中高剂量组改善较为明显(图 2)。模型组小鼠的肝脾指数均显著高于正常组,地鳖肽组和阳性药组小鼠肝脾指数均显著低于模型组(图 3)。

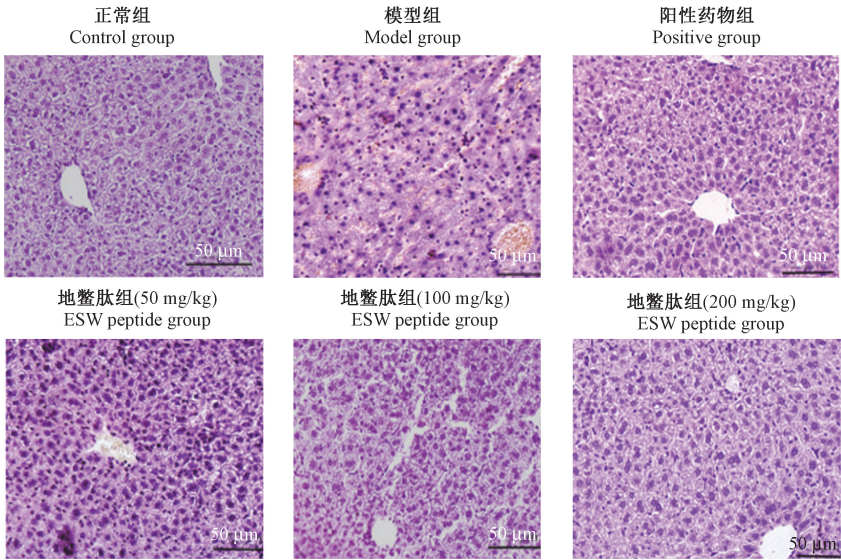
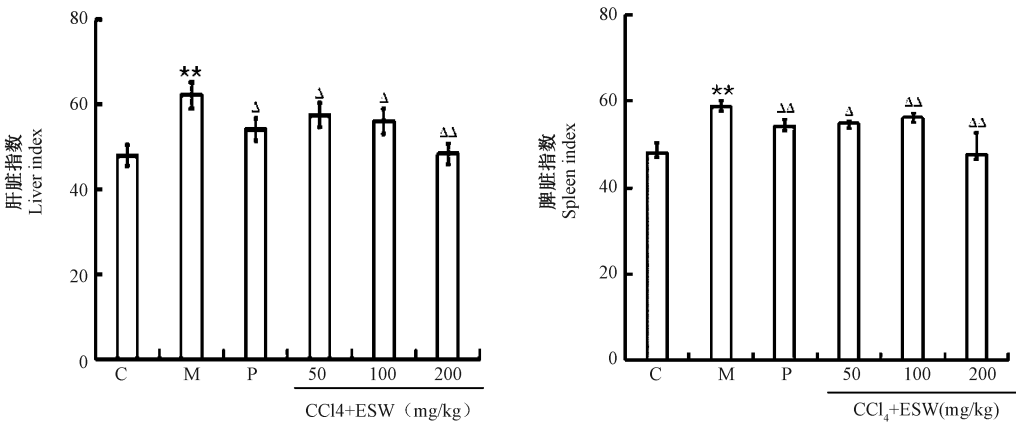


图 2 地鳖肽对慢性肝损伤小鼠肝组织结构的影响(HE 染色, 标尺=50 μm)

Figure 2 Effects of ESW peptides on live histology of the mice with chronic liver injury (HE staining, Bar=50 μm)



注:C,正常组;M,模型组;P,阳性药物组。与正常对照组相比,** $P < 0.01$;与模型组相比, $^{\Delta}P < 0.05$, $^{\Delta\Delta}P < 0.01$ 。(下图同)

图 3 地鳖肽对慢性肝损伤小鼠脏器指数的影响

Note. C, Control group. M, Model group. P, Positive group. Compared with the control group, ** $P < 0.01$. Compared with the model group, $^{\Delta}P < 0.05$, $^{\Delta\Delta}P < 0.01$. (The same in the following figures)

Figure 3 Effect of ESW peptides on organ index in mice with chronic liver injury

2.2 地鳖肽对 CCl₄ 慢性肝损伤小鼠肝功能的影响

模型组小鼠肝功能指标(ALT、AST)酶活力明显高于正常组,地鳖肽组和阳性药组 ALT 和 AST 酶活力较模型组显著下降(图 4);模型组小鼠肝组织

抗氧化酶(SOD、CAT、GSH-Px)活力比正常组显著降低,而过氧化物(MDA)含量显著升高,阳性药组和地鳖肽组抗氧化酶(SOD、CAT、GS H-Px)活力均显著高于模型组,地鳖肽组 MDA 含量均显著降低(图 5)。

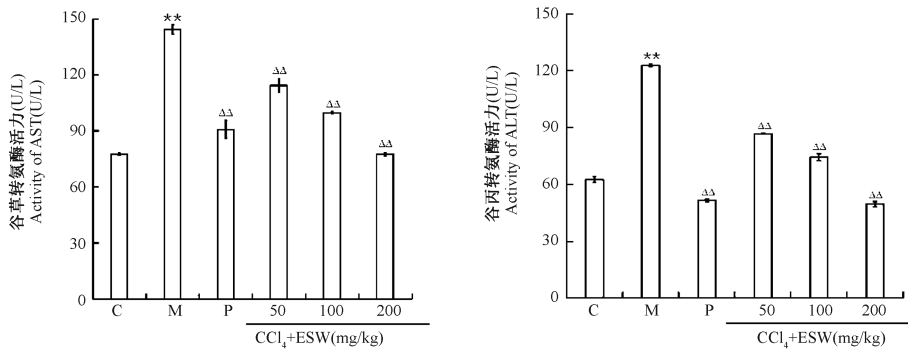


图 4 地鳖肽对慢性肝损伤小鼠肝功能的影响

Figure 4 Effects of ESW peptides on the liver function in mice with chronic liver injury

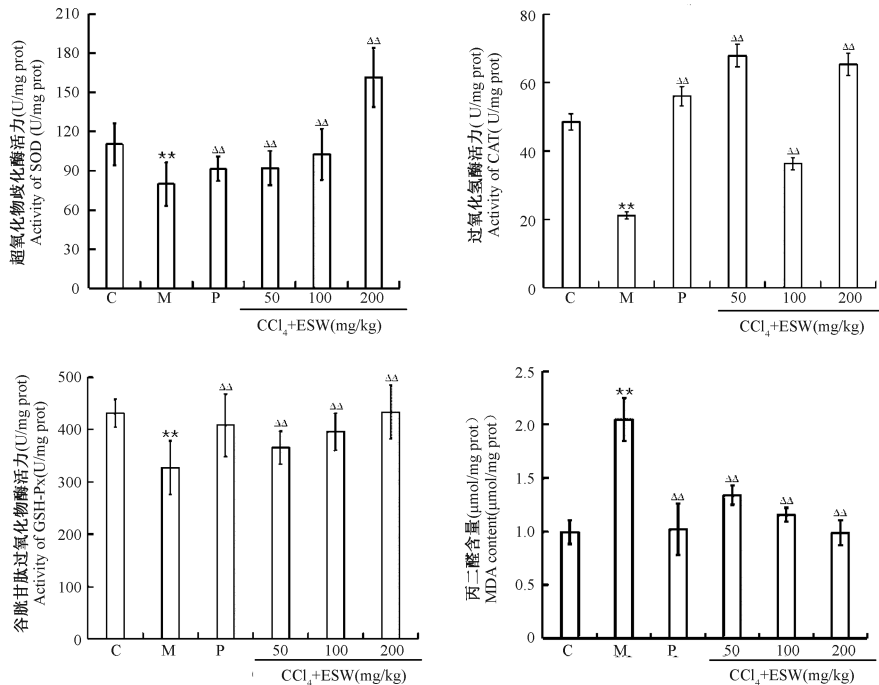


图 5 地鳖肽对慢性肝损伤小鼠肝组织中抗氧化酶活力和 MDA 含量的影响

Figure 5 Effects of ESW peptides on the activities of antioxidant enzymes and MDA content in liver tissue of mice with chronic liver injury

2.3 地鳖肽对慢性肝损伤小鼠肝组织中炎症因子蛋白及基因表达的影响

分析肝损伤小鼠肝组织中炎症细胞水平,结果模型组小鼠肝组织中炎症因子(TNF-α、IL-6、iNOS)蛋白表达量均显著高于正常组,地鳖肽组炎症因子蛋白水平均显著降低且低于模型组,接近阳性药组,表达水平与地鳖肽给药剂量呈正相关(图 6)。采用荧光定量 PCR 分析小鼠肝组织中炎症因子基因表达,结果模型组炎症因子(IL-6、TNF-α、iNOS)基因表达量高于正常组,地鳖肽组和水飞蓟素药物组较模型组下降,中高剂量组下降极显著接近阳性药组(图 7)。

2.4 地鳖肽对慢性肝损伤小鼠肝组织中凋亡及纤维化因子基因表达的影响

与正常组相比,模型组促凋亡因子(Bax、Caspase-3)mRNA 水平均高显著升高,阳性药组和地鳖肽组均显著低于模型组降低,且与地鳖肽剂量呈正相关;与模型组相比较,阳性药组和地鳖肽组抑制凋亡因子 Bcl-2 表达量显著升高而促凋亡因子(Bax、Caspase-3)基因表达显著降低(图 8)。与正常组相比,模型组纤维化因子(α-SMA、TGF-β1)mRNA 表达均明显上调,阳性药组和地鳖肽组纤维化因子均显著低于模型组(图 9)。

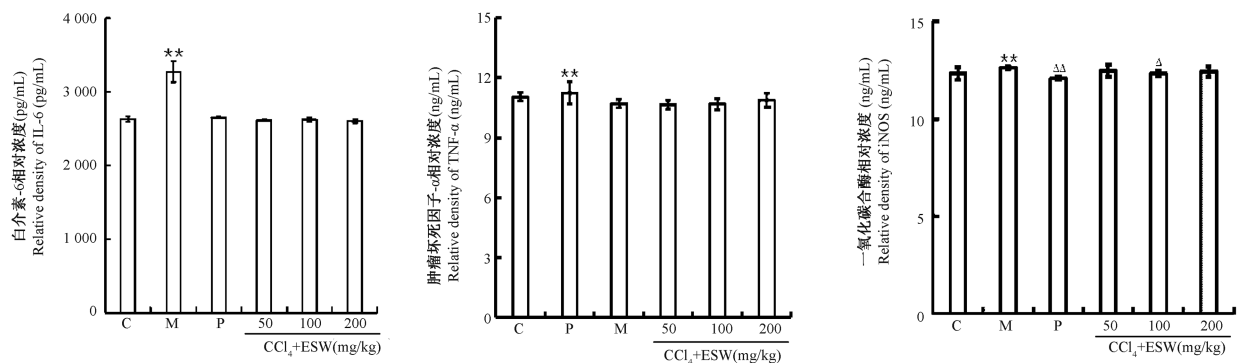


图 6 地鳖肽对慢性肝损伤小鼠肝组织中炎症因子蛋白水平的影响

Figure 6 Effects of ESW peptides on the levels of inflammatory factors in the liver tissues of mice with chronic liver injury

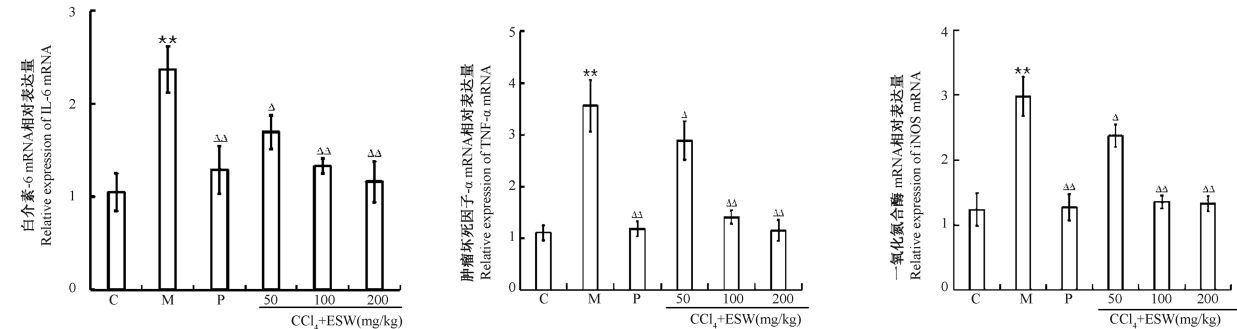


图 7 地鳖肽对慢性肝损伤小鼠肝组织中炎症因子基因表达的影响

Figure 7 Effects of ESW peptides on gene expressions of inflammatory factors in the liver tissues of mice with chronic liver injury

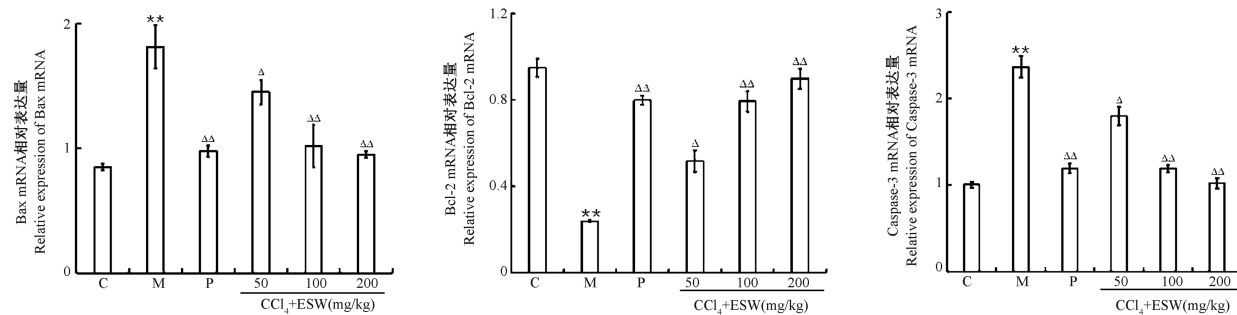


图 8 地鳖肽对慢性肝损伤小鼠的肝组织中凋亡因子基因表达的影响

Figure 8 Effects of ESW peptides on the gene expression of apoptotic factor in the liver tissues of mice with chronic liver injury

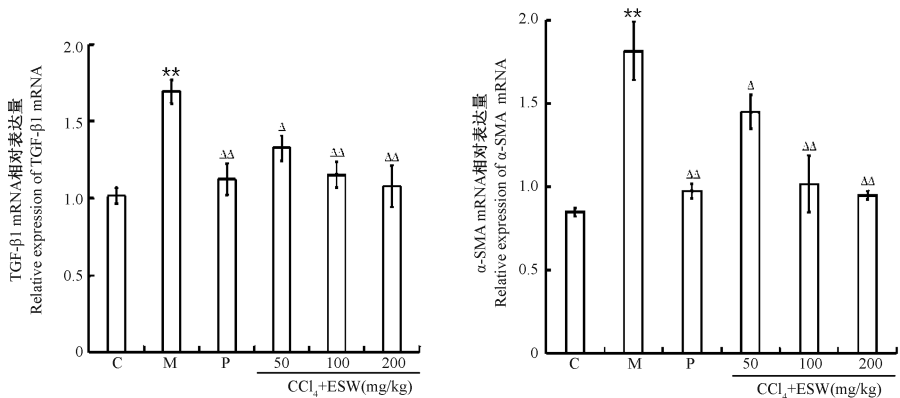


图 9 地鳖肽对慢性肝损伤小鼠肝组织中纤维化因子基因表达的影响

Figure 9 Effects of ESW peptides the gene expression of fibrosis factor in the liver tissues of mice with chronic liver injury

3 讨论

四氯化碳(CCl_4)为肝毒性化学物,临床上人长期反复接触 CCl_4 会有头晕、乏力、失眠、记忆力减退、食欲不振、恶心、腹泻和腹痛等,出现肝肿大和肝功能异常,严重发展成门脉性肝硬化,连续给予 CCl_4 可使肝细胞变性、坏死、产生炎症反应,水飞蓟素为目前公认的抗肝损伤有效药物,动物实验常将该药作为肝损伤保护的阳性对照用药^[11-12]。本研究显微镜观察肝组织结构,结果 CCl_4 致小鼠肝组织肝细胞索排列紊乱、肿胀变性,中央静脉管腔内有淤血,炎性细胞浸润及纤维增生,随着地鳖肽剂量增加小鼠肝细胞变性和坏死程度减轻,结果与前人报道一致。 CCl_4 进入机体后激活肝药酶 P-450,促进机体生产过量自由基,引起脂质过氧化反应,使细胞膜结构功能遭到破坏,导致肝细胞中 ALT、AST 释放,使血中 ALT、AST 升高^[13]。刘竹青等^[14]用 D-半乳糖建立致衰老小鼠模型,测定黄粉虫酶解物体内抗氧化能力,结果黄粉虫酶解物可显著提高小鼠血浆、肝中 CAT、GSH-Px、T-SOD 活力,降低 MDA 含量。刘雪姣^[15]研究玉米低聚肽对四氯化碳所致小鼠急性肝损伤保护作用,结果玉米低聚肽能降低 AST、ALT 活力和 MDA 含量,在一定程度上提高 SOD 和 GSH-Px 活力等,达到预防四氯化碳所致小鼠急性肝损伤,且明显改善小鼠肝功能状况。李谚语等^[16]研究保肝汤对四氯化碳(CCl_4)致慢性化学性肝损伤的保护作用,结果保肝汤高、中、低剂量组 ALT、AST 水平降低,保肝汤中、低剂量组 MDA 含量显著降低。 CCl_4 的毒性作用会造成肝组织局灶性的坏死,损伤肝细胞、肝窦内皮细胞,使其释放 α -SMA、TGF- β 1、TNF- α 、IL-6 等细胞因子引发炎症反应^[17]。郭心怡^[18]采用芍药苷干预四氯化碳诱导肝损伤,结果芍药苷明显降低四氯化碳诱导的炎症因子 TNF- α 、IL-6 表达,肝组织 α -SMA、TGF- β 1 蛋白和 mRNA 表达水平均显著下降。Wang 等^[19]研究球姜酮通过抑制氧化应激和炎症反应来保护小鼠四氯化碳(CCl_4)诱导的小鼠急性肝损伤,结果球姜酮可以恢复 SOD 和 GSH-Px 的活性,减少 MDA 的产生,并减少促炎细胞因子 IL-6 和 TNF- α 的释放量。袁静等^[20]探讨山丹黄参多糖对四氯化碳(CCl_4)小鼠肝损伤的保护作用,结果药物组血浆 ALT、AST、活性明显降低,肝组织 SOD 活力显著升高,MDA 含量明显下降,Caspase-3 及 Bax 蛋白阳性表达明显减

少。本研究结果地鳖肽明显降低 CCl_4 致慢性肝损伤小鼠血清中肝功能指标 (ALT、AST),显著提高肝组织中抗氧化酶 (SOD、CAT、GSH-Px) 活性,明显抑制脂质过氧化反应产物 (MDA) 生成,降低肝细胞炎症因子 (IL-6、TNF- α 、iNOS)、促凋亡因子 (Bax、Caspase-3)、纤维化因子 (α -SMA、TGF- β 1) 产生,以上试验结果与有关研究报道基本一致。

综上所述,地鳖肽对 CCl_4 导致的小鼠慢性肝损伤有一定的抗氧化保护作用,其保护作用机理可能是通过提高肝抗氧化酶活力,抑制脂质过氧化,降低炎症因子及凋亡因子生成,维持肝细胞结构完整性有关。

参 考 文 献 (References)

- [1] Yang BY, Zhang XY, Guan SW, et al. Protective effect of procyanidin B2 against CCl_4 induced acute liver injury in mice [J]. *Molecules*, 2015, 20(7): 12250-12265.
- [2] Sun B, Karin M. NF-kappaB signaling, liver disease and hepatoprotective agents [J]. *Oncogene*, 2008, 27(48): 6228-6244.
- [3] 谢梦蕊,邱思奇,沈红. 地鳖多糖提取物的体内外抗氧化作用 [J]. 中国实验动物学报, 2016, 24(4): 427-431.
Xie MR, Qiu SQ, Shen H. Antioxidant effects of polysaccharide extraction from *Eupolyphaga sinensis* Walker (ESW) in vitro and in vivo [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2016, 24(4): 427-431.
- [4] 于歆,李晓冰,何晓静,等. 药物性肝损伤的机制 [J]. 中国医院药学杂志, 2017, 37(10): 895-899.
Yu X, Li XB, He XJ, et al. The mechanisms of drug induced liver injury [J]. *Chin J Hosp Pharm*, 2017, 37(10): 895-899.
- [5] 戈娜. 海兔素改善大鼠酒精性肝损伤的效果及其机制研究 [D]. 青岛大学, 2014.
Ge N. The effect and mechanism of Aplysin on improving alcoholic liver injury in rats [D]. Qingdao University, 2014.
- [6] 张海燕,温韬,卢静,等. 四氯化碳诱导大鼠慢性肝损伤模型方法的探讨 [J]. 实用肝脏病杂志, 2009, 12(3): 161-163.
Zhang HY, Wen T, Lu J, et al. Establishment of CCl_4 -induced chronic liver injury model in rats [J]. *J Clin Hepatol*, 2009, 12(3): 161-163.
- [7] 罗倩,巫秀美,郭娜娜,等. 地鳖虫的化学成分和药理活性研究进展 [J]. 中国医药科学, 2015, 17(9): 41-44.
Luo Q, Wu XM, Guo NN, et al. Research progress of chemical constituents and pharmacological activities in eupolyphaga sinensis walker [J]. *Chin Med Pharm*, 2015, 17(9): 41-44.
- [8] 王凤霞,吉爱国. 药用土鳖虫化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中国生化药物杂志, 2009, 30(1): 61-64.
Wang FX, Ji AG. Research progress in chemical constituents and pharmacological activities of earth-turtle [J]. *Chin J Biochem Pharm*, 2009, 30(1): 61-64.
- [9] 谷崇高,张永红,白若雨,等. 地鳖多肽提取物的抗氧化衰

- 老机制[J]. 中国实验动物学报, 2014, 22(6): 66-74.
- Gu CG, Zhang YH, Bai RY, et al. Mechanism of polypeptide extracts of eupolyphaga sinensis walker against oxidative aging in mice [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2014, 22(6): 66-74.
- [10] 杨莹. 鳖甲中寡肽类化合物治疗慢性肝损伤的实验研究[D]. 北京中医药大学, 2011.
- Yang Y. The experimental study on the treatment of chronic liver injury with the Oligonucleotide peptide in Turtle shell [D]. Beijing University of Chinese Medicine, 2011.
- [11] Karthikeyan R, Somasundaram ST, Manivasagam T, et al. Hepatoprotective activity of brown alga Padina boergesenii against CCl₄-induced oxidative damage in Wistar rats [J]. Asian Pac J Trop Med, 2010, 3(9): 696-701.
- [12] 冀润利, 赵青娥. 水飞蓟素对四氯化碳致小鼠肝损伤的保护作用[J]. 中国应用生理学杂志, 2012, 28(3): 279-287.
- Ji RL, Zhao QE. The protective effect of silymarin on liver injury induced by carbon tetrachloride in mice [J]. Chin J Applied Physiol, 2012, 28(3): 279-287.
- [13] 谷大为, 陈志敏, 周明, 等. 果蔬发酵液对小鼠酒精性肝损伤的保护作用及氧化应激机制[J]. 营养学报, 2015, 37(4): 366-371.
- Gu DW, Chen ZM, Zhou M, et al. The protective effect of vegetables and fruits fermentation liquid in mice with alcoholic liver damage and its antioxidative mechanism [J]. Acta Nutr Sin, 2015, 37(4): 366-371.
- [14] 刘竹青, 李岩, 崔旋旋, 等. 黄粉虫酶解物体外抗氧化及免疫活性研究[J]. 中国食品学报, 2019, 19(5): 45-50.
- Liu ZQ, Li Y, Cui XX, et al. Studies on the Antioxidant Activity and Immune Function of Tenebrio molitor Hydrolysate in vivo and in vitro [J]. J Chin Inst Food Sci Tech, 2019, 19(5): 45-50.
- [15] 刘雪姣. 玉米低聚肽保肝作用的研究[D]. 江苏大学, 2016.
- Liu XJ. Study of Corn Oligopeptide on hepatoprotective effect [D]. Jiangsu University, 2016.
- [16] 李谚语, 刘丽, 范颖, 等. 保肝汤对小鼠四氯化碳致慢性化学性肝损伤的保护作用[J]. 天津中医药, 2018, 35(12): 935-938.
- Li YY, Liu L, Fan Y, et al. The protective effect of Baogan Decoction on chronic chemical liver injury induced by carbon tetrachloride in mice [J]. Tianjin J Tradit Chin Med, 2018, 35(12): 935-938.
- [17] 朱安妮. 垂盆草对四氯化碳致小鼠急性肝损伤保护作用的研究[D]. 北京中医药大学, 2014.
- Zhu AN. The protective effect of Sedum sarmentosum on acute liver injury induced by carbon tetrachloride in mice [D]. Beijing University of Chinese Medicine, 2014.
- [18] 郭心怡. 芍药苷减轻四氯化碳诱导的急性肝损伤与慢性肝纤维化的实验研究[D]. 重庆医科大学, 2018.
- Guo XY. Paeoniflorin attenuates carbon tetrachloride induced acute liver injury and liver fibrosis [D]. Chongqing Medical University, 2018.
- [19] Wang ML, Niu JL, Ou LN, et al. Zerumbone protects against carbon tetrachloride (CCl₄)-induced acute liver injury in mice via inhibiting oxidative stress and the inflammatory response: involving the TLR4/NF- κ B/COX-2 pathway [J]. Molecules (Basel, Switzerland), 2019, 24(10): 1964.
- [20] 袁静, 俞诗源, 孟茹, 等. 山丹黄参多糖对四氯化碳诱导的慢性肝损伤的保护作用[J]. 解剖学报, 2015, 46(3): 387-393.
- Yuan J, Yu SY, Meng R, et al. Protective effects of Shandan Sphallerocarpus gracilis polysaccharide on chronic hepatic injury in mice induced by CCl₄ [J]. Acta Anat Sin, 2015, 46(3): 387-393.

[收稿日期] 2019-07-10