

# 硫辛酸和白藜芦醇在对乙酰氨基酚致HepG2细胞损伤中的抗氧化作用

赵丽云<sup>1</sup>, 刘爱莲<sup>1</sup>, 刘美玉<sup>1,\*</sup>, 任晓锋<sup>2</sup>

(1.河北工程大学生命科学与食品工程学院, 河北 邯郸 056038; 2.江苏大学食品与生物工程学院, 江苏 镇江 212013)

**摘要:** 硫辛酸(lipoic acid, LA)和白藜芦醇(resveratrol, RES)是两种重要的天然抗氧化活性因子, 具有很好的抗氧化能力; 对乙酰氨基酚(acetaminophen, APAP)是一种常见的解热镇痛药物, 其过量可能导致氧化应激和肝脏损伤。本实验以体外细胞模型研究LA和RES对APAP引起的肝细胞损伤的抗氧化作用, 并初步探讨其抗氧化机制, 为APAP所致肝损伤的防治提供技术依据。首先通过APAP诱导建立HepG2细胞肝损伤模型; 并采用CCK-8法检测不同浓度LA和RES对APAP诱导的HepG2细胞损伤的影响; 运用细胞抗氧化活性法(cellular antioxidant activity, CAA)比较LA和RES的抗氧化活性; 运用流式细胞术对细胞凋亡情况进行检测; 酶标法检测丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量以及谷胱甘肽(glutathione, GSH)质量浓度和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)的活力; 实时荧光定量聚合酶链式反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qPCR)和Western blot技术检测凋亡相关基因*Bax*、*Bcl-2*、*caspase-3*的表达。CCK-8结果显示LA和RES均可提高APAP所致的氧化损伤的细胞活力, 且LA比RES效果更明显; CAA结果显示LA抑制二氯荧光(dichlorofluorescein, DCF)生成的能力比RES强; 流式结果表明LA和RES均可抑制氧化应激引起的细胞凋亡, 且LA组比RES组抑制效果更明显; 酶标法检测结果和qPCR以及Western Blot结果均表明LA和RES是通过降低MDA含量, 提高GSH和SOD活力, 上调*Bcl-2*表达量, 下调*Bax*和*caspase-3*表达量来抑制APAP引起的细胞凋亡, 且LA比RES抑制效果更明显。综上, 对于APAP引起的肝损伤, LA比RES起到的保护作用更明显; 其对APAP引起的肝损伤保护作用机制与减轻氧化应激反应和抑制细胞凋亡有关。

**关键词:** 硫辛酸; 白藜芦醇; 对乙酰氨基酚; HepG2细胞; 细胞损伤

Comparative Protective Effect of Lipoic Acid and Resveratrol on Acetaminophen-Induced Cellular Oxidative Damage in HepG2 Cells

ZHAO Liyun<sup>1</sup>, LIU Ailian<sup>1</sup>, LIU Meiyu<sup>1,\*</sup>, REN Xiaofeng<sup>2</sup>

(1. College of Life Science and Food Engineering, Hebei University of Engineering, Handan 056038, China;

2. School of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

**Abstract:** Lipoic acid (LA) and resveratrol (RES) are two important natural antioxidant agents. Acetaminophen (APAP) is a common analgesic drug. However, excess administration of APAP may cause oxidative stress and liver damage. In this paper, an *in vitro* cell model was used to compare the antioxidant effects of RES and LA on APAP-induced oxidative damage in HepG2 cells, and to explore the underlying mechanisms. The aim of this study was to provide a technical basis for the prevention and treatment of liver damage caused by acetaminophen. The effects of different concentrations of LA and RES on APAP-induced apoptosis in HepG2 cells were detected by Cell Counting Kit-8 (CCK-8) method. The antioxidant activities of LA and RES were comparatively evaluated using cellular antioxidant activity (CAA) method. Flow cytometry was used to detect apoptosis. The content of malondialdehyde (MDA) and the activity of glutathione (GSH) and superoxide dismutase (SOD) were detected by enzyme labeling method. Quantitative real-time polymerase chain reaction (qPCR) and Western blot were used to detect the expression of the apoptosis-related genes *Bax*, *Bcl-2* and *caspase-3*. Cytotoxicity test

收稿日期: 2019-03-11

基金项目: 中国博士后科学基金特别资助项目(2018T110459)

第一作者简介: 赵丽云(1992—)(ORCID: 0000-0001-5455-5894), 女, 硕士, 研究方向为农产品贮藏加工与功能食品。

E-mail: 1065118010@qq.com

\*通信作者简介: 刘美玉(1968—)(ORCID: 0000-0002-4818-7092), 女, 教授, 博士, 研究方向为农产品贮藏加工与功能食品。E-mail: lmy200751@163.com

results showed that both resveratrol and lipoic acid could increase the viability of cells, and LA was more effective than RES. CAA results showed that LA inhibited dichlorofluorescein (DCF) production more strongly than did RES. The results of flow cytometry showed that both LA and RES could inhibit apoptosis induced by oxidative stress, and the effect of LA was stronger than that of RES. The results of enzyme labeling, qPCR and Western blot showed that LA and RES inhibited APAP-induced apoptosis by decreasing MDA content, increasing GSH and SOD activity, up-regulating *Bcl-2* expression, and down-regulating *Bax* and *caspase-3* expression, with LA being more effective than RES. To sum up, compared with RES, LA had a more protective effect on APAP-induced liver injury, and the underlying mechanism may be related to reducing oxidative stress and inhibiting apoptosis.

**Keywords:** lipoic acid; resveratrol; acetaminophen; HepG2 cells; cell damage

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20190311-137

中图分类号: Q586; R979.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2020) 07-0153-06

引文格式:

赵丽云, 刘爱莲, 刘美玉, 等. 硫辛酸和白藜芦醇在对乙酰氨基酚致HepG2细胞损伤中的抗氧化作用[J]. 食品科学, 2020, 41(7): 153-158. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20190311-137. <http://www.spkx.net.cn>

ZHAO Liyun, LIU Ailian, LIU Meiyu, et al. Comparative protective effect of lipoic acid and resveratrol on acetaminophen-induced cellular oxidative damage in HepG2 cells[J]. Food Science, 2020, 41(7): 153-158. (in Chinese with English abstract)

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20190311-137. <http://www.spkx.net.cn>

硫辛酸(lipoic acid, LA)是属于B族维生素的一类双硫代巯基化合物, 存在于动物肝脏组织及菠菜、番茄等植物中, 是脂溶和水溶两性分子, 能以较高浓度存在于细胞内外发挥作用。同时, 它作为丙酮酸脱氢酶和甘氨酸脱羧酶的辅酶, 是一种强有力的抗氧化剂<sup>[1]</sup>, 可以影响细胞清除自由基的进程, 如增加谷胱甘肽(glutathione, GSH)的合成, 调控转录因子活性; LA也被用于通过金属螯合治疗重金属中毒<sup>[1-2]</sup>以及由外界引起的氧化应激造成的细胞损伤, 包括糖尿病、神经退行性疾病、感染、老化和电离辐射<sup>[3-4]</sup>。

白藜芦醇(resveratrol, RES), 又称芪三酚<sup>[5]</sup>, 是一种非黄酮类多羟基酚类化合物, 主要来源于藜芦、虎杖、蓝莓、桑葚、葡萄等天然植物或果实中<sup>[6]</sup>, 能清除并捕捉活性氧簇(reactive oxygen species, ROS), 并通过抑制二硫化GSH的形成, 使GSH处于还原状态, 发挥抗氧化作用。目前在体内<sup>[7]</sup>和体外<sup>[8-9]</sup>研究中, 都证明RES自身具有抗氧化作用<sup>[10]</sup>, 同时它作为一种重要的天然植物抗毒素, 可以抑制癌细胞生长, 降低血脂<sup>[11]</sup>, 防治心血管疾病, 并能延缓衰老的发生。目前, RES已广泛应用于医药、食品、化妆品等行业。

对乙酰氨基酚(acetaminophen, APAP)是一种常见的解热镇痛药物。然而, APAP过量可能导致严重的线粒体功能障碍和肝脏损伤<sup>[12]</sup>。APAP及其代谢物可引起细胞凋亡和线粒体氧化磷酸化, 消耗ATP, 引起选择性线粒体氧化应激, 降低线粒体膜电位, 增加Ca<sup>2+</sup>水平, 改变膜渗透性, 并释放促凋亡因子, 如caspase-3<sup>[13-14]</sup>。在西方国家, APAP引起的急性肝功能衰竭很常见<sup>[3]</sup>。因此, 研究能够有效预防或缓解APAP引起的急性肝损伤的抗氧化因子具有重要意义。

本实验通过建立HepG2细胞氧化应激体外模型, 比较LA和RES在APAP致HepG2细胞损伤中的抗氧化作用, 并初步探讨其抗氧化机制, 为APAP所致肝损伤防治和功能食品开发提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

人肝癌细胞株(HepG2)购自北京协和细胞库。

DMEM培养基、血清 美国Gibco公司; 胰蛋白酶、青霉素、链霉素、CCK-8、Annexin V-FITC/PI试剂盒、二抗、BCA定量蛋白试剂盒 上海碧云天生物技术有限公司; LA、APAP、RES、2',7'-二氯荧光黄双乙酸盐(2',7'-dichlorofluorescein diacetate, DCFH-DA)、2,2'-偶氮二异丁基脒二盐酸盐(2,2'-azobis[2-methylpropionamidine] dihydrochloride, ABAP) 美国Sigma公司; GSH、MDA、SOD试剂盒 南京建成生物工程研究所; 反转录试剂盒、PCR荧光定量试剂盒 日本Takara公司; Bax、Bcl-2、caspase-3引物 生工生物工程(上海)股份有限公司; actin、Bax、Bcl-2、caspase-3一抗 美国Abcam公司。

### 1.2 仪器与设备

InfiniteM200PRO多功能酶标仪 瑞士Tecan公司; CytoFLEXB3-R3-V2流式细胞仪 美国贝克曼库尔特有限公司; LightCycler®96实时荧光定量聚合酶链式反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qPCR)仪瑞士Roche公司; GEAI600 RGB凝胶成像系统 美国通用电气医疗公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 细胞培养

HepG2接种于含10%胎牛血清的DMEM培养基中，培养条件为5% CO<sub>2</sub>、37 °C、饱和湿度。待细胞浓度达到80%~90%时，用0.25%胰酶进行消化，以细胞浓度1:4比例进行传代培养<sup>[15]</sup>。

#### 1.3.2 APAP诱导HepG2细胞肝损伤模型的建立

将HepG2细胞以 $1 \times 10^4$ 个/mL接种于96孔板，每孔100 μL，培养24 h，细胞全部贴壁后，分别给予10、20、30、40、50、60 μmol/L浓度的APAP进行造模（给药组），对照组不加APAP，共孵育24 h后，加入CCK-8工作液，用多功能酶标仪在450 nm波长处检测细胞的存活率，每个浓度设5个重复孔，实验重复3遍。选择APAP的半抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC<sub>50</sub>)进行后续研究<sup>[16-18]</sup>。细胞存活率按式(1)计算。

$$\text{细胞存活率}/\% = \frac{A - A_0}{A_c - A_0} \times 100 \quad (1)$$

式中：A为给药组吸光度；A<sub>c</sub>为对照组吸光度，A<sub>0</sub>为细胞培养基吸光度。

#### 1.3.3 LA和RES对APAP诱导HepG2细胞损伤的影响

将HepG2细胞以 $1 \times 10^4$ 个/mL接种于96孔板，每孔100 μL，培养24 h，细胞全部贴壁后，给与APAP的同时，分别用20、60 μmol/L的LA和RES进行干预，孵育24 h后，加入CCK-8工作液，用多功能酶标仪在450 nm波长处检测细胞的存活率，每个浓度设5个重复孔，实验重复3遍。

#### 1.3.4 Annexin-V FITC/PI双标记法检测细胞凋亡

将HepG2细胞以 $2 \times 10^6$ 个/mL接种到6孔板中，每孔2 mL，培养24 h细胞全部贴壁后，分别设对照组（仅加入细胞培养基）、模型组（加入60 μmol/L APAP）及给药组（LA组（加入60 μmol/L APAP及20 μmol/L LA）、RES组（加入60 μmol/L APAP及20 μmol/L RES）），共孵育24 h后，将细胞消化，用流式细胞仪检测HepG2细胞凋亡情况。细胞凋亡率按式(2)计算。

$$\text{细胞凋亡率}/\% = \text{早期细胞凋亡率}/\% + \text{晚期细胞凋亡率}/\% \quad (2)$$

#### 1.3.5 LA和RES的细胞抗氧化活性比较

将HepG2细胞以 $6 \times 10^4$ 个/mL接种于96孔板，每孔100 μL，培养24 h后，除去培养基，用磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)清洗每个接种孔。然后每孔分别加入100 μL的样品处理液(20、60 μmol/L的LA和RES)共孵育24 h后，用PBS清洗每个孔，各孔加入100 μL含有25 μmol/L的DCFH-DA混合液共孵育1 h，用PBS清洗每个孔，除去DCFH-DA，然后用60 μmol/L ABAP处理，将96孔板放入多功能酶标仪中进行扫描，间隔5 min扫描一次，持续1 h。在538 nm波长处测定细

胞培养物的荧光值。绘制LA和RES的细胞抗氧化动力学曲线<sup>[19-21]</sup>。

#### 1.3.6 血清中MDA含量及GSH质量浓度、SOD活力检测

将HepG2细胞以 $2 \times 10^6$ 个/mL接种到6孔板中，每孔2 mL，培养24 h细胞全部贴壁后，分组同1.3.4节，共孵育24 h后，将细胞消化后用多功能酶标仪检测细胞中MDA含量及GSH质量浓度、SOD活力。

#### 1.3.7 逆转录qPCR检测Bcl-2、Bax和caspase-3 mRNA表达

将HepG2细胞以 $2 \times 10^6$ 个/mL接种到6孔板中，每孔2 mL，培养24 h细胞全部贴壁后，分别设对照组、模型组及给药组(LA组、RES组)，共孵育24 h后，将细胞消化后用TRIzol法提取细胞总RNA，逆转录得到cDNA，以β-actin为内参，用qPCR仪检测细胞中Bcl-2、Bax和caspase-3 mRNA的表达量<sup>[22]</sup>。

#### 1.3.8 Western blot检测Bcl-2、Bax和caspase-3蛋白表达

将HepG2细胞以 $2 \times 10^6$ 个/mL接种到6孔板中，每孔2 mL，培养24 h细胞全部贴壁后，分组同1.3.4节，共孵育24 h后，将细胞消化后用Rapi裂解液提取细胞总蛋白，以β-actin为内参，凝胶成像仪检测细胞中Bcl-2、Bax和caspase-3 mRNA的表达量<sup>[23]</sup>。

### 1.4 数据统计分析

利用GraphPad Prism 6软件进行数据的统计分析，结果用平均值±标准差表示，各组之间比较采用T-test法进行显著性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 APAP诱导HepG2细胞肝损伤模型的建立

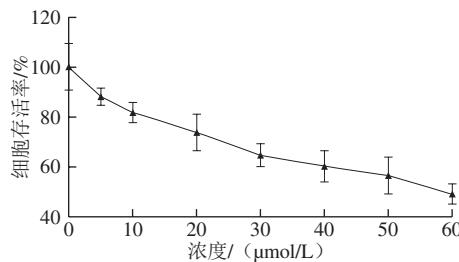


图1 APAP对HepG2细胞活性的影响

Fig. 1 Effect of APAP on cell viability of HepG2 cells

如图1所示，随着APAP浓度增加，HepG2细胞的存活率逐渐降低，APAP的IC<sub>50</sub>为60 μmol/L，选择该浓度造模进行后续研究。

### 2.2 LA和RES对APAP诱导HepG2细胞损伤的影响

首先测定了LA和RES对HepG2细胞的毒性影响，发现LA对细胞无影响的安全浓度为0~60 μmol/L(图2)；RES对细胞无影响的安全浓度为0~90 μmol/L(图3)。用20、60 μmol/L的LA和RES分别对模型组细

胞处理24 h后,结果显示LA和RES均能提高细胞活力,且LA组细胞活力较RES组高,尤以20  $\mu\text{mol/L}$  LA组效果最佳(图4)。

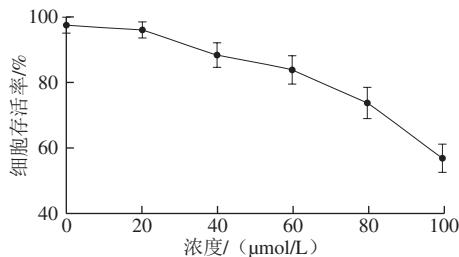


图2 LA对HepG2细胞活性的影响

Fig. 2 Effect of LA on cell viability of HepG2 cells

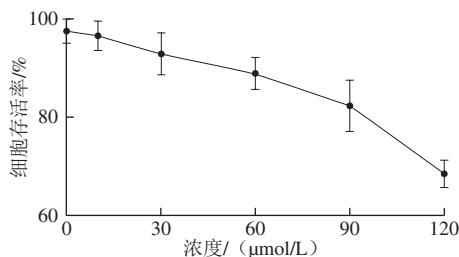


图3 RES对HepG2细胞活性的影响

Fig. 3 Effect of RES on cell viability of HepG2 cells

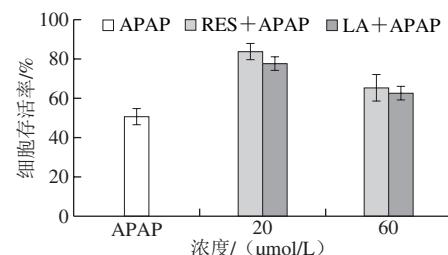
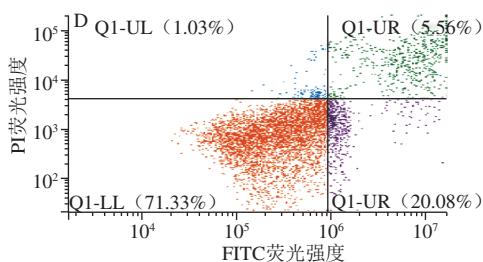
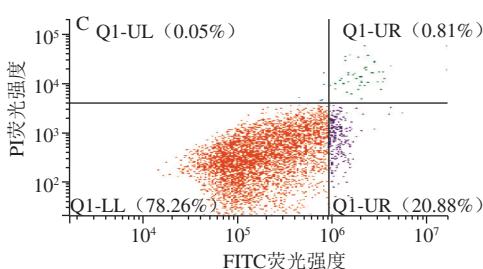
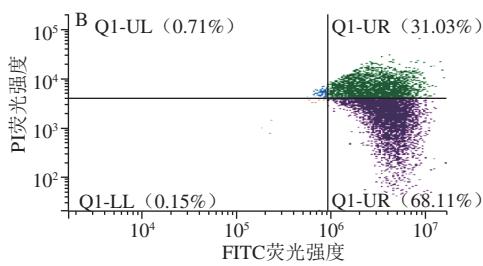
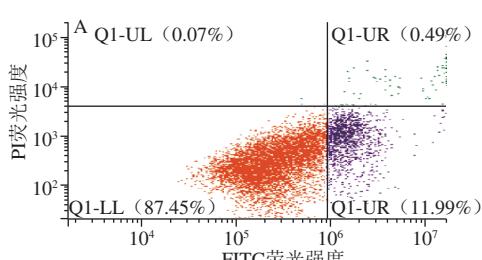


图4 LA和RES对APAP诱导HepG2细胞损伤的影响

Fig. 4 Effect of LA and RES on cell viability of APAP-induced HepG2 cells

通过LA和RES干预APAP诱导的HepG2细胞损伤的保护作用,可看到APAP(60  $\mu\text{mol/L}$ )能明显抑制HepG2细胞活力,用LA和RES进行干预后,LA组细胞活力较RES组高,其中20  $\mu\text{mol/L}$  LA的药效最佳,说明LA干预APAP诱导的损伤效果最好,可能原因是LA属于高效抗氧化剂,其可清除ROS,再生GSH。

### 2.3 Annexin-V FITC/PI双标记法检测细胞凋亡



A.对照组; B.模型组; C. LA组; D. RES组。

图5 LA和RES对APAP诱导HepG2细胞凋亡的保护作用

Fig. 5 Protective effect of LA and RES on acetaminophen-induced apoptosis in HepG2 cells

如图5所示,每个图中左上Q1-UL代表坏死细胞,右上Q1-UR代表凋亡晚期细胞,左下Q1-LL代表正常细胞,右下Q1-LR代表早期凋亡细胞。

以PBS为对照,其凋亡率为12.48% (Q1-UR+Q1-LR);模型组的细胞凋亡率为99.14%,与对照组相比细胞凋亡率明显升高;RES组的细胞凋亡率为27.64%,LA组的细胞凋亡率为21.69%,二者与模型组比较细胞凋亡率均明显降低。LA组凋亡率降低值明显低于RES组凋亡率降低值。由此可见,RES和LA均可抑制氧化应激引起的细胞凋亡,且LA的效果优于RES。

### 2.4 LA和RES的细胞抗氧化活性比较

HepG2细胞内的ABAP产生的ROS会将DCFH-DA氧化成有荧光的二氯荧光(dichlorofluorescein, DCF), 荧光强度高<sup>[22]</sup>。从图6可看出,不同浓度的LA和RES作为抗氧化剂抑制了该反应的进行,荧光强度减小;且相同浓度下,LA组比RES组荧光强度小,说明LA抑制DCF的生成能力比RES强。

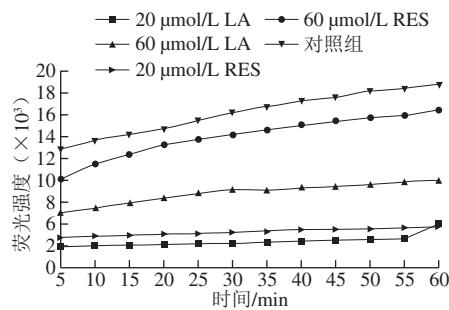


Fig. 6 Cellular antioxidant kinetic curves of LA and RES

2.5 LA和RES对APAP诱导的HepG2细胞中MDA、GSH及SOD水平的影响

表1 LA和RES对APAP诱导的HepG2细胞中MDA、SOD、GSH水平的影响

Table 1 Effect of LA and RES on MDA, SOD and GSH levels in HepG2 cells induced by APAP

组别	MDA含量/(U/mg)	SOD活力/(U/mL)	GSH质量浓度/(g/L)
对照组	1.02±0.17	39.78±0.76	15.46±0.25
模型组	3.55±0.23 <sup>###</sup>	28.94±1.12 <sup>##</sup>	7.06±0.33 <sup>##</sup>
LA组	2.14±0.10 <sup>***Δ</sup>	37.52±1.04 <sup>***</sup>	11.34±0.46 <sup>***ΔΔ</sup>
RES组	1.89±0.14 <sup>***</sup>	31.45±1.45 <sup>***</sup>	9.78±0.22 <sup>***</sup>

注: \*\*\*(与模型组比较, 差异高度显著 ( $P<0.0001$ ) ; ####(与对照组比较, 差异高度显著 ( $P<0.0001$ ) ; LA组与RES组比较, Δ差异显著 ( $P<0.05$ ) , ΔΔ差异极显著 ( $P<0.01$ ) 。

如表1所示, 与对照组相比, 模型组MDA含量高度显著升高, 而GSH质量浓度和SOD活力高度显著降低; 与模型组相比, LA组和RES组均可高度显著降低MDA含量, 同时高度显著提高GSH质量浓度和SOD活力, 而LA比RES效果好。

氧化应激可导致ROS在细胞内的累积, 若超过细胞的抗氧化能力时, 则会引起细胞的损伤或凋亡, 从而影响细胞的正常的结构和功能, 此时机体自身的抗氧化防御系统将会发挥作用。生物体抗氧化的强度及效果可以通过测定血清中的酯质过氧化产物MDA含量、SOD活力和GSH质量浓度变化来确定。GSH是生物体内绝大多数细胞中巯基的主要来源, 其中在肝细胞中可达95%以上, 是机体抗自由基的主要成分, 在维持机体氧化还原平衡中起着很重要的作用<sup>[24-26]</sup>; SOD是一种能够催化超氧化物通过歧化反应转化为氧气和过氧化氢的酶, 是判断细胞损伤程度的相关指标; MDA含量间接反映出细胞受自由基攻击的严重程度。本研究结果显示, 与模型组相比, LA和RES两组抗氧化指标MDA含量均高度显著降低, GSH质量浓度和SOD活力均高度显著提高, 但LA比RES效果更明显, 这表明LA和RES均可通过减轻氧化应激反应达到抑制APAP诱导的肝损伤作用, 且LA的作用更强。

## 2.6 LA和RES对凋亡相关基因Bcl-2、Bax和caspase-3表达的影响

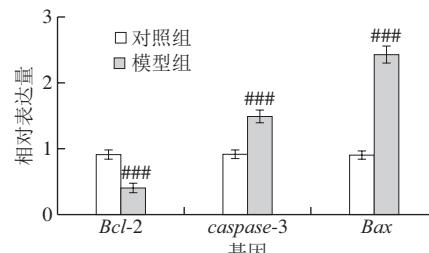
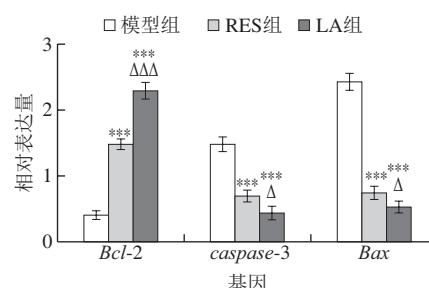


图7 APAP诱导24 h后Bax、Bcl-2和caspase-3的相对表达量

Fig. 7 Relative Bax, Bcl-2 and caspase-3 expression after APAP induction for 24 h



\*\*\*.与模型组比较, 差异高度显著 ( $P<0.0001$ ) ; LA组与RES组比较, Δ差异显著 ( $P<0.05$ ) , ΔΔΔ差异极显著 ( $P<0.0001$ ) 。

图8 LA和RES治疗24 h后Bax、Bcl-2和caspase-3的相对表达量

Fig. 8 Relative Bax, Bcl-2 and caspase-3 expression after LA or RES treatment for 24 h

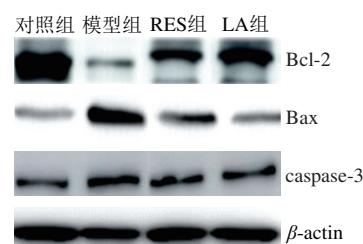


图9 LA和RES处理24 h后Bax、Bcl-2和caspase-3的蛋白质印迹电泳图

Fig. 9 Western blot analysis of Bax, Bcl-2 and caspase-3 after LA or RES treatment for 24 h

过量的APAP会导致肝损伤, 引起细胞凋亡。已知多种基因与细胞凋亡的信号通路相关, 其中Bax基因可促进凋亡, 而Bcl-2基因能抑制细胞凋亡<sup>[27]</sup>, Bax通过抑制Bcl-2的活力诱导细胞凋亡<sup>[28]</sup>。caspase-3是激活线粒体凋亡信号通路的关键环节, 因此是凋亡发生的标志酶<sup>[29]</sup>。

qPCR检测凋亡相关基因表达结果表明, 与对照组相比, 模型组Bax和caspase-3表达量高度显著提高, 同时Bcl-2表达量高度显著降低(图7); 与模型组相比, LA

组和RES组Bax和caspase-3表达量均有降低，同时Bcl-2表达量均有提高，但LA组比RES组效果更显著，表明LA比RES具有更好的抑制HepG2细胞凋亡的作用（图8）；Western blot结果也发现有同样的趋势，首先LA和RES可以从蛋白水平调节APAP诱导的损伤，其次LA比RES能更有效缓解APAP诱导的损伤（图9）。

qPCR和Western blot结果均表明LA和RES均通过上调Bcl-2表达量、下调Bax和caspase-3表达量抑制APAP引起的细胞凋亡抑制APAP诱导的细胞凋亡，且LA比RES抑制效果更明显。

### 3 结 论

本研究通过用60 μmol/L的APAP处理HepG2细胞，建立了HepG2细胞氧化应激体外模型，并探讨了两种抗氧化物质LA和RES对APAP致HepG2细胞损伤中的抗氧化作用。LA和RES均可提高对APAP所致的氧化损伤细胞活力，且LA比RES效果更显著；LA抑制DCF的生成的能力比RES强；LA和RES均可抑制氧化应激引起的细胞凋亡，且LA组比RES组抑制细胞增殖效果更明显，且LA比RES更有效地被细胞吸收发挥应有的效用；另外，LA和RES是通过上调Bcl-2表达量、下调Bax和caspase-3表达量来抑制APAP引起的细胞凋亡，且LA比RES抑制效果更明显。

综上所述，LA比RES对APAP引起的肝损伤起到保护作用明显，并且初步探讨出LA和RES对APAP引起肝损伤保护作用机制，是通过抑制氧化应激和细胞凋亡（通过降低MDA含量，提高GSH和SOD活力，下调Bax和caspase-3表达量及上调Bcl-2表达量）来实现其对APAP诱导的HepG2细胞损伤的保护作用。并且LA比RES干预APAP引起的细胞损伤效果更好。因此LA和RES对APAP引起肝损伤保护作用及其机制有待于更多基础和临床实验的证实。

### 参考文献：

- [1] PORCEDDU M, BURON N, ROUSSEL C, et al. Prediction of liver injury induced by chemicals in human with a multiparametric assay on isolated mouse liver mitochondria[J]. *Toxicological Sciences*, 2012, 129(2): 332-345. DOI:10.1093/toxsci/kfs197.
- [2] SHCHEPIN R V, LIU W, YIN H, et al. Rational design of novel pyridinol-fused ring acetaminophen analogues[J]. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 2013, 4(8): 710-714. DOI:10.1021/ml4000904.
- [3] NI H M, BOCKUS A, BOGESS N, et al. Activation of autophagy protects against acetaminophen-induced hepatotoxicity[J]. *Hepatology*, 2012, 55(1): 222-232. DOI:10.1002/hep.24690.
- [4] 党晓鹏. 类维生素硫辛酸的抗氧化功能及在养殖业中的应用[J]. 家禽科学, 2016(11): 50-54. DOI:10.3969/j.issn.1673-1085.2016.11.018.
- [5] 邵芳芳, 尹卫平, 梁菊. 重要的植物多酚及其抗氧化性能的研究概况[J]. 西北药学杂志, 2010, 25(1): 66-68. DOI:10.3969/j.issn.1004-2407.2010.01.040.
- [6] 张泽生, 贺伟, 刘甜甜, 等. 白藜芦醇的体外抗氧化活性[J]. 食品科学, 2012, 33(11): 266-268.
- [7] VENTURINI C D, MERLO S, SOUTO A A, et al. Resveratrol and red wine function as antioxidants in the nervous system without cellular proliferative effects during experimental diabetes[J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2010, 3(6): 434-441. DOI:10.4161/oxim.3.6.14741.
- [8] VALENTOVIC M A, BALL J G, BROWN J M, et al. Resveratrol attenuates cisplatin renal cortical cytotoxicity by modifying oxidative stress[J]. *Toxicology in Vitro*, 2014, 28(2): 248-257. DOI:10.1016/j.tiv.2013.11.001.
- [9] PENG H, SUN R, TANG L, et al. CD62L is critical for maturation and accumulation of murine hepatic NK cells in response to viral infection[J]. *The Journal of Immunology*, 2013, 190(8): 4255-4262. DOI:10.4049/jimmunol.1202395.
- [10] 李泽君, 呼丹, 熊克朝. 白藜芦醇对曲格列酮诱发HepaRG细胞氧化损伤的影响[J]. 军事医学, 2014(12): 36-40. DOI:10.7644/j.issn.1674-9960.2014.12.008.
- [11] SONIA L B, MARLENE C, BRAVO-DÍAZÍAZ C, et al. Distribution and antioxidant efficiency of resveratrol in stripped corn oil emulsions[J]. *Antioxidants*, 2014, 3(2): 212-228. DOI:10.3390/antiox3020212.
- [12] BATTAGLIA V, COMPAGNONE A, BANDINO A, et al. Cobalt induces oxidative stress in isolated liver mitochondria responsible for permeability transition and intrinsic apoptosis in hepatocyte primary cultures[J]. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 2009, 41(3): 590-594. DOI:10.1016/j.biocel.2008.07.012.
- [13] CHOI J M, OH S J, LEE J Y, et al. Prediction of drug-induced liver injury in HepG2 cells cultured with human liver microsomes[J]. *Chemical Research in Toxicology*, 2015, 28(5): 872-885. DOI:10.1021/tx500504n.
- [14] KROLL A, PILLUKAT M H, HAHN D, et al. Current *in vitro* methods in nanoparticle risk assessment: limitations and challenges[J]. *European Journal of Pharmaceutics & Biopharmaceutics*, 2009, 72(2): 370-377. DOI:10.1016/j.ejpb.2008.08.009.
- [15] 薛栋艳. 硫辛酸在氯化镉致HepG2细胞损伤中的抗氧化作用研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2014: 10-11.
- [16] 罗春丽, 王林, 李杏, 等. 紫薯花青素体外抗氧化及对H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>诱导HepG2细胞氧化损伤的保护作用[J]. 食品科学, 2015, 36(17): 225-230. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201517042.
- [17] 张伟贤, 兰天, 董嘉乐, 等. 山柰酚抵抗对乙酰氨基酚引起的肝细胞损伤研究[J]. 世界中医药, 2019, 14(1): 39-43. DOI:10.3969/j.issn.1673-7202.2019.01.008.
- [18] 赵慧, 吕佳, 曹燕妮, 等. 甘草酸镁对乙酰氨基酚致人肝细胞损伤的保护作用研究[J]. 中南药学, 2017, 15(3): 301-304.
- [19] McDOWELL A, THOMPSON S, STARK M, et al. Antioxidant activity of puha (*Sonchus oleraceus* L.) as assessed by the cellular antioxidant activity (CAA) assay[J]. *Phytotherapy Research: PTR*, 2011, 25(12): 1876-1882. DOI:10.1002/ptr.3648.
- [20] BRAYMAN A A, AZADNIY M, MAKIN I R S, et al. Effect of a stabilized microbubble echo contrast agent on hemolysis of human erythrocytes exposed to high intensity pulsed ultrasound[J]. *Echocardiography*, 2010, 12(1): 13-21. DOI:10.1111/j.1540-8175.1995.tb00516.x.
- [21] 李谣, 陈金龙, 夏春燕, 等. 基于HepG2细胞模型的香菇柄粉多酚抗氧化及抗增殖活性[J]. 食品科学, 2016, 37(11): 190-196. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201611033.
- [22] 马会明, 张永芳, 王蒙蒙, 等. α-硫辛酸对小鼠卵巢颗粒细胞氧化应激损伤和凋亡的影响[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2016, 37: 54-58; 67. DOI:10.7652/jdyxb201601010.
- [23] 孔怡琳, 李工, 张玉佩, 等. 白藜芦醇对过氧化氢诱导的L02肝细胞氧化应激损伤的保护作用[J]. 广东医学, 2017, 38(20): 3070-3073.
- [24] PAL M, LI S H, TEWARI S K, et al. Diterpenoid compounds from *Vitis agnus-castus*[J]. *Chemistry of Natural Compounds*, 2013, 49(4): 635-638. DOI:10.1007/s10600-013-0697-7.
- [25] 黄蕾, 刘新国, 杨全伟, 等. 洋参抗衰老剂对H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>诱导HepG2细胞氧化损伤的保护作用[J]. 药学研究, 2018, 37(12): 690-693.
- [26] 徐圆圆, 余静, 陈立立, 等. 白藜芦醇对不同时间高糖诱导HepG2细胞氧化损伤的保护作用[J]. 食品与生物技术学报, 2014, 33(9): 929-934. DOI:10.3969/j.issn.1673-1689.2014.09.006.
- [27] 杨东雪. 白藜芦醇对过氧化氢诱导的IPEC-J2细胞凋亡的保护作用[D]. 长春: 吉林大学, 2017: 4-5.
- [28] TAI M, ZHANG J, SONG S, et al. Protective effects of luteolin against acetaminophen-induced acute liver failure in mouse[J]. *International Immunopharmacology*, 2015, 27(1): 164-170. DOI:10.1016/j.intimp.2015.05.009.
- [29] YIP K W, REED J C. Bcl-2 family proteins and cancer[J]. *Oncogene*, 2008, 27(50): 6398-6406. DOI:10.1038/onc.2008.307.