

三羟异黄酮对全氟辛酸暴露的小鼠肝脏抗氧化能力的影响

王力¹, 刘辉², 张梦媛¹, 吕卉¹, 申玲¹

(1. 蚌埠医学院 预防医学系, 安徽 蚌埠 233030; 2. 蚌埠医学院 生物科学系, 安徽 蚌埠 233030)

摘要: 将80只SPF级ICR小鼠按单纯随机抽样方法分为正常对照组(等体积生理盐水)、PFOA低剂量组($1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)、PFOA中剂量组($5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)、PFOA高剂量组($25\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)、GEN干预对照组($20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)、GEN干预PFOA低剂量组(GEN; $20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 、PFOA; $1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)、GEN干预PFOA中剂量组(GEN; $20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 、PFOA; $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)、GEN干预PFOA高剂量(GEN; $20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 、PFOA; $25\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)组, 每组10只, 采用灌胃方法, 通过计算肝脏比体重系数, 检测肝组织中超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、乳酸脱氢酶(LDH)、丙二醛(MDA)及一氧化氮(NO)指标的水平, 探讨了三羟异黄酮(GEN)对不同剂量的全氟辛酸(PFOA)致小鼠肝脏氧化损伤的保护作用。结果表明: PFOA导致肝脏肿大, 增加了小鼠肝脏系数, 并随着剂量增加而加重。高剂量的PFOA能明显增高肝脏组织中MDA及NO含量($P<0.05$), 低、中、高剂量的PFOA均能提高LDH活性和降低SOD、GSH-Px的活性($P<0.05$), 而GEN在干预PFOA各剂量组中能显著提高GSH-Px的活性和降低LDH活性($P<0.05$), 在干预PFOA高剂量组中能提高SOD的活性($P<0.05$)。GEN对PFOA致肝脏组织的脂质过氧化损伤有一定的拮抗作用。

关键词: 全氟辛酸; 三羟异黄酮; 肝组织; 氧化损伤

中图分类号: O657.32

文献标识码: A

DOI: 10.11861/j.issn.1000-9841.2014.06.0937

Effects of Genistein on Relevant Enzyme Activity in Liver of Mice Exposed to Perfluorooctanoic Acid

WANG Li¹, LIU Hui², ZHANG Meng-yuan¹, LYU Hui¹, SHEN Ling¹

(1. Department of Preventive Medicine, Bengbu Medical College, Bengbu 233030, China; 2. Department of Bioscience, Bengbu Medical College, Bengbu 233030, China)

Abstract: 80 mice were distributed randomly into normal control group (the same dose of normal saline), PFOA low dose group ($1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$), PFOA medium dose group ($5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$), PFOA high dose group ($25\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$), GEN intervention group ($20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$), GEN intervention low dose group (GEN; $20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ and PFOA; $1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$), GEN intervention medium dose group (GEN; $20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ and PFOA; $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$), GEN intervention high dose group (GEN; $20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ and PFOA; $25\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$). The mice were weighed every day and their behavior were observed. After 14 days, the mice were killed and liver indexes were calculated. Meanwhile, the activity of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px), lactate dehydrogenase (LDH) and the content of malondialdehyde (MDA) and nitric oxide (NO) were also assayed. The results showed that the content of MDA and NO were increased dramatically in PFOA high dose group ($P<0.05$), the activity of LDH in hepatic tissue of PFOA groups were increased dramatically while the activity of SOD and GSH-Px was decreased obviously compared with the control group in 3 dose group of PFOA ($P<0.05$), GEN could increase the activity of GSH-Px and decrease the activity of LDH in 3 GEN intervention groups ($P<0.05$), while the activity of SOD was increased in GEN intervention high dose group ($P<0.05$). Supplementation of GEN during PFOA exposure may have certain protective effect on inhibition caused by PFOA exposure.

Key words: Perfluorooctanoic acid; Genistein; Liver; Oxidative damage

全氟化和物(perfluoro-compounds, PFCs)是一类持久存在于环境、具有生物储蓄性并对人类有害的物质^[1]。因为PFCs在生产生活中的大量使用,使其以各种途径进入各种环境介质中,如土壤、水体、淤泥、大气和冰层中,近年来,随着检测仪器的不断改进,越来越多地方的环境介质中发现了PFCs的存在^[2]。在工业及经济快速发展的地区PFCs含量

较高,在对我国长江和珠江中的14种PFCs的初步分析发现,全氟辛酸(perfluorooctanoic acid, PFOA)和全氟辛烷磺酸盐(perfluorooctane sulfonate, PFOS)是主要的污染物^[3]。随着经济社会的不断发展,人们会越来越多地面临使用PFCs带来的污染。三羟异黄酮(genistein, GEN)是来源于豆类植物中的一种非固醇类物质,其分子结构含有酚羟基,故具有

收稿日期: 2014-03-06

基金项目: 蚌埠医学院省级特色专业“预防医学”专项基金(皖教高[2011]5号); 安徽省高校优秀青年人才基金资助项目(2012SQRL091)。

第一作者简介: 王力(1982-), 女, 硕士, 讲师, 主要从事营养毒理学研究。E-mail: lilywang990@aliyun.com。

抗脂质过氧化、清除氧自由基的作用,是大豆异黄酮的主要成分之一^[4]。近年来国内外的大量研究表明大豆异黄酮对代谢性疾病、心血管疾病以及改善妇女更年期综合征等有预防效果^[5],而对其保肝解毒作用研究较少。本试验主要是利用 GEN 对 PFOA 造成的肝脏损伤进行干预,探讨其是否有拮抗或保护作用,以期为膳食营养提供科学指导。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器

722s 仪器型分光光度计(上海分析仪器厂);FA2004 电子天平(上海越平科学仪器有限公司);DY89-I 型电动玻璃匀浆机(宁波新芝有限公司);KDC-160HR 高速冷冻离心机(科大创新公司)。

试剂 PFOA、GEN(Sigma 公司,美国),超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、乳酸脱氢酶(LDH)、丙二醛(MDA)、一氧化氮(NO)及考马斯亮蓝蛋白测定试剂盒(南京建成生物工程研究所)。

1.2 实验动物

ICR 种小鼠,SPF 级,6~8 周龄,体质量 20~23 g。购自安徽省实验动物中心,于蚌埠医学院实验动物中心屏障系统饲养,光照周期为 12 h/12 h(昼/夜),温度控制为 20~26℃,相对湿度为 40%~60%,并具有独立通风循环系统,自由进食饮水。

1.3 实验方法

常规饲养 7 d 后按单纯随机抽样方法分成 8 个实验组,每组 10 只;分别为正常对照组(等体积生理盐水)、PFOA 低剂量组($1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)、PFOA 中剂量($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)和 PFOA 高剂量组($25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)、GEN 干预组($20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)、GEN 干预 PFOA 低剂量组(GEN: $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 、PFOA: $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)、GEN 干预 PFOA 中剂量组

(GEN: $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 、PFOA: $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)、GEN 干预 PFOA 高剂量组(GEN: $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 、PFOA: $25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)。每日 9:00,通过不锈钢灌胃针经口灌注,连续灌胃 14 d,灌胃溶液体积为 $0.1 \text{ mL} \cdot (10 \text{ g})^{-1}$ 。每天称量 1 次,14 d 后称量,颈椎脱臼处死,取出肝脏,用预冷生理盐水冲洗,分离周围脂肪及结缔组织,用滤纸吸干表面水分后用电子天平称量肝脏湿重,计算小鼠的肝脏比体重系数。随后在液氮中迅速冷冻后转入 -80°C 冰箱中保存。肝脏系数($\%$) = 肝脏质量(g)/体质量(g) $\times 100$ 。

取部分冷冻肝脏,称量,加 4°C 生理盐水制成 10% 的肝匀浆,于 $3\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,取上清液,按试剂盒要求,检测小鼠肝组织匀浆 MDA 含量、NO 含量、SOD、GSH-Px 及 LDH 的活性。

1.4 数据分析

采用 SPSS 17.0 软件进行数据处理。

2 结果与分析

2.1 PFOA 对小鼠肝脏系数的影响

如表 1 所示,小鼠灌胃 14 d 后,所有组别之间肝脏系数差异有统计学意义($F = 60.92, P < 0.001$)。PFOA 低、中、高剂量组肝脏系数均明显高于空白对照组($P < 0.05$);PFOA 中、高剂量组肝脏系数均高于 PFOA 低剂量组($P < 0.05$);PFOA 高剂量组肝脏系数高于中剂量组小鼠($P < 0.05$)。同剂量的 GEN 干预组与非干预组比较发现,GEN 干预 PFOA 高剂量组肝脏系数比 PFOA 高剂量组有明显下降($P < 0.05$)。

2.2 PFOA 对小鼠肝组织中 GSH-Px、T-SOD 活性的影响

如表 1 所示,所有组别之间 GSH-Px、T-SOD 活性差异有统计学意义($F = 12.27, P < 0.00; F = 18.03, P < 0.00$),与空白对照组相比,PFOA 低、中、

表 1 PFOA 和 GEN 对 ICR 小鼠肝脏系数及 GSH-Px、T-SOD 活力的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effects of PFOA and GEN on liver index and GSH-Px and T-SOD activity of mice

组别 Group	肝脏系数 Liver index/% (n=10)	GSH-Px/U·mg ⁻¹ (n=6)	T-SOD/U·mg ⁻¹ (n=6)
空白对照 CK	5.78 \pm 0.29	943.97 \pm 11.69	179.21 \pm 5.72
PFOA 低剂量	8.56 \pm 0.36 a	778.375 \pm 22.55 a	135.73 \pm 14.86 a
PFOA 中剂量	12.43 \pm 0.89 ab	691.13 \pm 9.66 a	110.55 \pm 5.72 a
PFOA 高剂量	19.14 \pm 0.96 abc	642.99 \pm 40.87 a	44.37 \pm 8.24 abc
GEN 干预对照	5.86 \pm 0.21	991.09 \pm 62.82	235.10 \pm 21.92
GEN 干预 PFOA 低剂量	7.56 \pm 0.26	951.90 \pm 98.26 d	165.93 \pm 12.33
GEN 干预 PFOA 中剂量	11.57 \pm 0.67	948.27 \pm 30.88 d	128.68 \pm 19.73
GEN 干预 PFOA 高剂量	16.84 \pm 0.55 d	906.85 \pm 52.45 d	93.74 \pm 10.55 d

$P < 0.05$, a: 与空白对照组比较; b: PFOA 低剂量组比较; c: 与 PFOA 中剂量组比较; d: 与同剂量的 PFOA 组比较; 下同。

$P < 0.05$, a: Compared with normal control group; b: Compared with PFOA low dose group; c: Compared with PFOA medium dose group; d: Compared with same dose group without gen intervention; the same below.

高剂量组的 GSH-PX、T-SOD 的活性均表现出不同程度的下降 ($P < 0.05$), PFOA 高剂量组的 T-SOD 的活性低于 PFOA 低、中剂量组 ($P < 0.05$)。同剂量的干预组与非干预组比较发现, GEN 干预 PFOA 高剂量组 T-SOD 的活性比 PFOA 高剂量组有所升高 ($P < 0.05$), 而 GEN 干预 PFOA 低、中、高剂量组与 PFOA 低、中、高剂量组之间 GSH-Px 的活性差异分别都有统计学意义, 均有不同程度的升高 ($P < 0.05$)。

2.3 PFOA 对小鼠肝组织中 MDA 含量、NO 含量及 LDH 活性的影响

由表 2 可知, 所有组别之间 LDH 活性、MDA 含

量、NO 含量差异均有统计学意义 ($F = 73.48, P < 0.01$; $F = 3.76, P < 0.001$; $F = 2.94, P < 0.05$), 与空白对照组相比, PFOA 低、中、高剂量组均表现出不同程度的上升 ($P < 0.05$)。PFOA 中、高剂量组的 LDH 的活性分别高于 PFOA 低、中剂量组 ($P < 0.05$); 与空白对照组相比, PFOA 中、高剂量组的 MDA 的含量明显增加 ($P < 0.05$), PFOA 高剂量组的 NO 的含量明显增加 ($P < 0.05$)。同剂量的干预组与非干预组比较发现, GEN 干预 PFOA 低、中、高剂量组与 PFOA 低、中、高剂量组之间 LDH 的活性差异分别都有统计学意义 ($P < 0.05$); 而 MDA 和 NO 的含量均没有明显差异 ($P > 0.05$)。

表 2 PFOA 和 GEN 对 ICR 小鼠肝组织中 MDA、NO 含量和 LDH 活性的影响 ($n = 6, \bar{x} \pm s$)

Table 2 Effects of PFOA and GEN on content of MDA, NO and LDH activity in liver of mice

组别 Group	LDH /U · g ⁻¹	MDA /nmol · mg ⁻¹	NO /μmol · mg ⁻¹
空白对照 CK	7263.51 ± 348.01	2.71 ± 0.42	5.19 ± 0.89
PFOA 低剂量	9351.96 ± 104.63 a	4.20 ± 0.98	9.46 ± 1.33
PFOA 中剂量	11124.10 ± 221.54 ab	6.36 ± 1.143 a	10.33 ± 1.18
PFOA 高剂量	13191.69 ± 316.37 abc	6.65 ± 1.46 ab	11.40 ± 1.15 a
GEN 干预对照	6971.10 ± 338.24	2.55 ± 0.24	3.10 ± 0.52
GEN 干预 PFOA 低剂量	7699.77 ± 204.84 d	3.67 ± 0.26	4.62 ± 0.56
GEN 干预 PFOA 中剂量	9016.16 ± 136.18 d	4.63 ± 1.01	9.57 ± 2.68
GEN 干预 PFOA 高剂量	8902.65 ± 148.74 d	6.10 ± 0.80	9.82 ± 1.11

3 讨 论

PFOA 可增加肝脏重量, 影响动物吞咽能力, 影响体重增长^[6], 可引起鱼或人肝细胞内活性氧的产生及一系列抗氧化反应, 从而导致氧化损伤, 如脂质过氧化和 DNA 损伤^[7]。这与本实验的结果是一致的。本实验中 PFOA 可以抑制小鼠体质量的增长, 增加小鼠肝脏系数, 导致肝脏肿大, 并随着剂量加重而加重。氧化应激的相关酶的活性及物质的含量也发生了相应的变化, MDA 及 NO 含量在 PFOA 高剂量组的肝脏组织中的明显增加 ($P < 0.05$), 低、中、高剂量的 PFOA 均能提高 LDH 活性和降低 SOD 及 GSH-Px 的活性 ($P < 0.05$)。

豆类食品中的三羟异黄酮, 分子结构含有 4, 5, 7 三个酚羟基, 酚羟基作为供氢体能与自由基发生反应, 使之形成相应的离子或分子, 灭活自由基, 发挥抗氧化活性^[8]。在采用 GEN 干预的过程中发现, 不管是在肝脏系数还是氧化指标上, 都起到了一定的保护或缓解的作用。从同剂量的染毒组和干预组比较的结果来看, GEN 使得小鼠的肝脏系数增大的幅度变小, 并且在高剂量干预组显著低于高剂量染毒组。在氧化应激指标方面, 可以发现 GEN 起到

了不同程度的作用, 同剂量的干预组与非干预组比较中发现, GEN 干预低、中、高剂量组中均能显著提高 GSH-Px 的活性和降低 LDH 活性 ($P < 0.05$), 在干预 PFOA 高剂量组中能提高 SOD 的活性 ($P < 0.05$)。SOD 和 GSH-Px 是公认的细胞内主要的抗氧化酶, 其二者活性的高低可以直接反映出机体清除自由基的能力^[9]。结果表明, GEN 干预 PFOA 低、中、高剂量组的 GSH-PX 的活性比同剂量 PFOA 组的显著增高, 说明一定剂量的 PFOA 的摄入, 超过了肝脏正常生理代谢的解毒能力, 产生大量自由基, 在细胞内可能引起肝细胞膜脂质过氧化反应。其次, 由于氧化应激反应产生过量的自由基, 清除机体内自由基的 SOD 被大量消耗^[10], GEN 本身具有较强的抗氧化作用, 这一作用很明显可以帮助机体增加抗氧化能力, 拮抗 PFOA 造成的氧化损伤, 本实验中, GEN 干预 PFOA 高剂量组比 PFOA 高剂量组的 T-SOD 的活性有显著提高。GEN 保护肝损伤效果显示其自身有的抗氧化性, 能在一定程度上缓解体内的氧化应激反应带来的影响, 可通过补充或影响抗氧化酶类活性作用, 提升肝脏组织 GSH-Px 与 SOD 的水平及活性, 保护肝脏细胞的毒性危害。

(下转第 944 页)

导大豆育种实践。

构建大豆单株选择用表,选择标准的合理确定是十分重要的。要进一步培育出优于现有推广品种的新品种,选择标准太低或太高,都会使育种工作失之偏颇,最终不能付诸实现。本文所采用的标准,根据河南省近年来大面积推广的5个大豆品种,在本地常规育种条件下单株性状表现的情况而确定,这种选择标准的确定比较合理。另外,在性状的选取上,由于人们在田间选择时对抗病性已足够注意,因此,在最后取舍单株时,这些性状可以不再考虑。

由于大豆数量性状受环境影响较大,本文所建单株选择用表并不是各生态区都适用。育种工作者可根据当地试验的历史资料,计算出适合本地气候条件及其他生态环境的单株选择用表,以增加选择的准确性。

最后需要指出的是,大豆不同世代诸性状的遗传力不尽相同,因而选择策略也应有所变动。由于本文在建立改进列联表时没有考虑不同世代遗传力对选择效果的影响,这一问题有待进一步研究。

(上接第939)

细胞坏死使LDH释放入组织液中,通过测定LDH可以帮助了解组织器官受损状况^[10],与空白对照组相比,PFOA低、中、高剂量组的LDH的活性均表现出不同程度的上升,说明PFOA可能加速了细胞坏死,而GEN干预PFOA低、中、高剂量组LDH的活性均明显低于PFOA低、中、高剂量组,这在一定程度上可能说明GEN可以在一定程度上减少细胞的坏死。在本试验中,MDA和NO的含量虽然在一定程度上随着PFOA的剂量加大有着不同程度的上升,但MDA和NO的含量在同剂量的PFOA组和GEN干预组中没有明显的差异性,可能是GEN的干预浓度比较低,还不足以引起氧化损伤的本质性变化。这个原因可能需要更进一步地进行探讨,其具体机制应经深入研究才能得到证实。

参考文献

- [1] Loccisano A E, Campbell J L, Butenhoff J L, et al. Evaluation of placental and lactational pharmacokinetics of pfoa and pfos in the pregnant, lactating, fetal and neonatal rat using a physiologically based pharmacokinetic model[J]. *Reproductive Toxicology*, 2012, 33(3):468-490.
- [2] Harada K, Nakasanishi S, Sasaki K, et al. Particle size distribution and respiratory deposition estimates of airborne perfluorooctanoate and perfluorooctanesulfonate in Kyoto area, Japan. *Bull*[J]. *Environmental Contamination and Toxicology*, 2006, 76(3):306-310.
- [3] 金一和, 丁梅, 翟成, 等. 长江三峡库区江水和武汉地区地面水中PFOS和PFOA污染现状调查[J]. *生态环境*, 2006, 15(3):

参考文献

- [1] Hazel L N, Lush J L. The efficiency of three methods of selection[J]. *Journal of Heredity*, 1942, 33:393-399.
- [2] Smith H F. A discriminant function for plant selection[J]. *Annals of Eugenics*, 1936, 7:240-250.
- [3] Robinson H F, Comstock R E, Harvey P H. Genotypic and phenotypic correlation in corn and their implication in selection[J]. *Agronomy Journal*, 1951, 43:282-287.
- [4] Manning H L. Yield improvement from selection index technique with cotton[J]. *Heredity* 1956, 10:303-322.
- [5] 马育华, 盖钧镒. 江淮下游地区大豆地方品种的初步研究(三)数量性状的表型、遗传型相关, 选择指数, 及其育种意义[J]. *作物学报*, 1979(4):1-12. (Ma Y H, Gai J Y. Preliminary study on the local soybean varieties in lower Yangtze and Huai valleys III. Phenotypic and genotypic correlations, selection indices, and their implications in soybean breeding[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 1979(4):1-12.)
- [6] 王福亭, 郭瑞林. 改进列联表法在小麦育种上的应用研究[J]. *作物学报*, 1991, 17(1):11-17. (Wang F T, Guo R L. Application of improved contingency table method in maize breeding[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 1991, 17(1):11-17.)
- [7] 马育华. 试验统计[M]. 北京: 中国农业出版社, 1982:320-338. (Ma R H. *Experimental statistics*[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1982:320-338.)
- [8] 486-489. (Jin Y H, Ding M, Zhai C, et al. An investigation of the PFOS and PFOA pollution in Three Gorges Reservoir areas of the Yangtze River and surface water of Wuhan areas[J]. *Ecology and Environment*, 2006, 15(3):486-489.)
- [4] Valachovicova T, Slivova V, Sliva D. Cellular and physiological effects of soyflavonoids[J]. *Mini-Review in Medicinal Chemistry*, 2004, 4(8):881-887.
- [5] 陶利, 李禾. 大豆异黄酮的药理作用[J]. *解放军药学报*, 2011, 27(4):360-362. (Tao L, Li H. Pharmacological action of soybean isoflavone[J]. *Pharmaceutical Journal of Chinese People's Liberation Army*, 2011, 27(4):360-362.)
- [6] Klaunig J E, Babich M A, Baetcke K P, et al. PPAR α agonist-induced rodent tumors: Modes of action and human relevance[J]. *Critical Reviews in Toxicology*, 2003, 33(6):655-780.
- [7] Lau C, Anitole K, Hodes C, et al. Per fluoroalkyl acids: A review of monitoring and toxicological findings[J]. *Toxicological Sciences*, 2007, 99(2):366-394.
- [8] Atlante A, Bobba A, Marra E, et al. Transport and metabolism of L-lactate occur in mitochondria from cerebellar granule cells and are modified in cells undergoing low potassium dependent apoptosis[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2007, 176(7):1285-1299.
- [9] 张粟, 冉云, 王玲, 等. 茶多酚对乙醇所致原代肝细胞损伤的保护作用研究[J]. *营养学报*, 2009, 31(4):379-383. (Zhang L, Ran Y, Wang L, et al. Study of protective effects on ethanol induced primary hepatocytes damage by tea polyphenol[J]. *Acta Nutrimenta Sinica*, 2009, 31(4):379-383.)
- [10] 范远景, 张玲, 张东吟, 等. 三羟异黄酮保护急性酒精性肝损伤机制研究[J]. *营养学报*, 2013, 35(3):273-282. (Fan Y J, Zhang L, Zhang D Y, et al. Study on the mechanism of genistein on protection against alcohol-induced acute liver injury[J]. *Acta Nutrimenta Sinica*, 2013, 35(3):273-282.)