

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2013.05.012 [http://www.crter.org]

王露佳, 孙雯, 张金萍, 王超, 赵小瑜, 朱玲颖, 马静茹, 唐雀美, 郑丹燕. 自制移植肝低温保存液对氧自由基的影响[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(5):837-842.

自制移植肝低温保存液对氧自由基的影响***

王露佳, 孙雯, 张金萍, 王超, 赵小瑜, 朱玲颖, 马静茹, 唐雀美, 郑丹燕

绍兴文理学院医学院临床医学系, 浙江省绍兴市 312000

文章亮点:

- 1 目前国内器官移植采用的保存液大多是进口 UW 液, 成本高加重广大患者的经济负担。文章观察自制器官保存液, 与 UW 液对比观察同时点低温保存大鼠肝脏超氧化物歧化酶、一氧化氮合酶、总抗氧化能力、活性丙二醛含量, 以探讨其对低温保存大鼠肝脏组织氧自由基表达的影响。
- 2 实验研制一种新的器官保存液, 与 UW 液对比观察低温保存大鼠肝脏超氧化物歧化酶、一氧化氮合酶、总抗氧化能力、活性丙二醛水平。
- 3 结果提示, 自制器官保存液成分简单、价格低廉、与 UW 液相当, 其成分具有潜在的可进一步研究的价值。

关键词:

器官移植; 肝移植; 器官保存液; 自制器官保存液; UW 液; 低温保存; 肝脏; 移植; 氧自由基; 省级基金

摘要

背景: 在肝脏移植过程中, 低温保存和缺血可导致肝脏产生氧自由基而损伤肝组织。

目的: 研究自制器官保存液对低温保存大鼠肝脏氧自由基的影响, 并与器官保存液的“金标准” UW 液进行对比。

方法: 16 只 9 周龄 SD 大鼠随机分为实验组和对照组, 每组 8 只。建立 SD 大鼠肝脏灌注模型, 分别用自制器官保存液组和 UW 液组灌洗肝脏, 取出肝脏置于 4 °C 保存液中, 于保存 24, 48, 72 h 后分别检测肝脏超氧化物歧化酶、一氧化氮合酶、总抗氧化能力和活性丙二醛水平。

结果与结论: 自制器官保存液对大鼠肝脏低温保存各时点超氧化物歧化酶、一氧化氮合酶、总抗氧化能力活性及丙二醛含量与 UW 液组比较差异均无显著性意义($P > 0.05$), 表明自制器官保存液能够减轻缺血再灌注后氧自由基对大鼠肝脏的损伤。自制器官保存液对低温保存大鼠肝脏在减轻氧自由基损伤方面有良好的效果, 与 UW 液相当。

王露佳, 男, 1991 年生, 浙江省杭州市人, 汉族, 绍兴文理学院本科在读, 主要从事临床医学专业。
wangljsxw@163.com

通讯作者: 张金萍, 教授, 绍兴文理学院医学院临床医学系, 浙江省绍兴市 312000
pjzxuan@126.com

中图分类号: R318

文献标识码: A

文章编号: 2095-4344

(2013)05-00837-06

收稿日期: 2012-06-12

修回日期: 2012-07-20

(20120612008/D · C)

Effects of self-made cryopreservation solution on oxygen free radicals in cryopreserved rat liver

Wang Lu-jia, Sun Wen, Zhang Jin-ping, Wang Chao, Zhao Xiao-yu, Zhu Ling-ying, Ma Jing-ru, Tang Que-mei, Zheng Dan-yan

Department of Clinical Medicine, Medical College of Shaoxing University, Shaoxing 312000, Zhejiang Province, China

Abstract

BACKGROUND: During liver transplantation, cryopreservation and ischemia can lead to production of oxygen free radicals by the liver which damages liver tissue.

OBJECTIVE: To study the effects of self-made cryopreservation solution on oxygen free radicals in cryopreserved rat liver, and to compare with "gold standard" organ preservation solution-UW solution.

Wang Lu-jia, Department of Clinical Medicine, Medical College of Shaoxing University, Shaoxing 312000, Zhejiang Province, China
wangljxwl@163.com

Corresponding author: Zhang Jin-ping, Professor, Department of Clinical Medicine, Medical College of Shaoxing University, Shaoxing 312000, Zhejiang Province, China
pjzxuan@126.com

Supported by: Students' Scientific Research Project of Medical College of Shaoxing University, No.201106; Construction Achievements of the First Group of School Outstanding Teaching Team in Shaoxing University, No.200907*; Science and Technology Innovation Planning of University Students in Zhejiang Province, Xinniao Talent Planning, No.2012R420625*

Received: 2012-06-12
Accepted: 2012-07-20

METHODS: Sixteen 9-week-old Sprague Dawley rats were randomly divided into two groups: experimental group and control group, 8 rats in each group. Sprague Dawley rat liver perfusion models were established, and the livers in each group were lavaged with self-made organ preservation solution and UW preservation solution, then removed the liver and placed into 4°C preservation solution. The superoxide dismutase, nitric oxide synthase, total antioxidant capacity activity and the malondialdehyde content were detected at 24, 48 and 72 hours after preservation.

RESULTS AND CONCLUSION: There were no significant differences in superoxide dismutase, nitric oxide synthase, total antioxidant capacity activity and the malondialdehyde content in rat liver tissue cryopreserved in the self-made organ preservation solution *versus* UW solution ($P > 0.05$). These findings suggest that self-made organ preservation solution can reduce the damage of oxygen free radical to the livers of rats after ischemia-reperfusion and the effect is equivalent to UW solution.

Key Words: organ transplantation; liver transplantation; organ preservation solution; self-made organ preservation solution; UW solution; cryopreservation; liver; transplantation; oxygen free radicals; provincial grants-supported paper

Wang LJ, Sun W, Zhang JP, Wang C, Zhao XY, Zhu LY, Ma JR, Tang QM, Zheng DY. Effects of self-made cryopreservation solution on oxygen free radicals in cryopreserved rat liver. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2013;17(5): 837-842.

0 引言

目前临床上常用的器官保存液大致有3种: UW液、HTK液和Celsior液^[1-3]。在器官灌注时, 应用不同的保存液也是造成肝移植后胆道并发症的影响因素之一, 这进而使再次移植的概率增加。如何正确使用器官保存液也是目前研究的热点, 特别是对肝移植, 目前美国每年肝移植例数超过5 000例, 移植肝1年平均存活率超过81%。由于供肝的短缺, 边缘供者的增加, 劈离式肝移植技术的应用增多, 这都对器官保存液的使用提出了更高的要求^[4-5]。

随着国内器官移植事业的发展, 肝移植是目前治疗终末期肝病的有效手段之一, 而肝移植后疗效明显受离体供肝保存效果的影响^[6]。在肝脏移植过程中, 低温保存和缺血可导致肝脏产生氧自由基而损伤肝组织。肝移植术可导致肝脏缺血再灌注损伤, 使肝组织结构改变、肝细胞功能丧失, 最终导致肝脏损伤及肝功能衰竭。

目前国内器官移植采用的保存液大多是进口UW液。UW液是现在临床移植中器官保存液的“金标准”, 其成分复杂, 价格昂贵, 并且存在高渗透性、高黏滞性、高钾、缓冲能力差等缺点^[7-8]。研制一种价廉效优的器官保存液, 有利于器官移植的发展以及减轻广大患者的经济负担是当前器官移植研究的热点。为此, 作者研制一种新的器官保存液, 与UW液对比观察低温保存大鼠肝脏超氧化物歧化酶、一氧化氮合酶、总抗氧化能力、活性丙二醛含量, 以探讨其对低温保存大鼠肝脏组织氧自由基表达的影响。

1 材料和方法

设计: 随机分组, 对照实验观察。

时间及地点: 于2009年6月至2012年6月在绍兴文理学院医学院实验中心完成。

材料:

实验动物: 健康SD大鼠16只, 体质量约350 g, 购于浙江大学实验动物中心, 合格证号: scxk(2007-0029), 随机数字表发法均分为实验组(自制器官保存液组)和对照组(UW保存液组)。

自制器官保存液主要成分: 还原性谷胱甘肽、聚乙二醇20000、腺苷(购自上海源叶生物科

技有限公司)、ATP、别嘌呤醇、L-精氨酸、L-色氨酸(购自北京科尔迪生物技术有限公司)、川芎嗪(长春国奥药业有限公司)、苦碟子(沈阳双鼎制药有限公司)、磷酸氢二钠/磷酸二氢钾缓冲液, pH调至7.5-8.0, 500-1 000 mL聚乙烯塑料袋包装, 采用高温高压(109 °C, 45 min)消毒。

UW保存液: 美国威斯康星大学保存液, 解放军第二军医大学长征医院药学部提供。

自制移植肝低温保存液对氧自由基影响实验的主要仪器及试剂:

Main reagents and instruments in the experiment to study the effect of self-made cryopreservation solution on oxygen free radicals:

主要仪器及试剂	来源
分光光度计	上海分析仪器厂
超氧化物歧化酶、一氧化氮合酶、总抗氧化能力、丙二醛试剂盒	南京建成生物工程研究所

方法:

大鼠肝脏灌注模型的建立: 建模前大鼠禁食12 h, 称质量记录。5%异戊巴比妥钠以100 mg/kg行大鼠腹腔注射麻醉, 腹部剪毛, 将四肢及牙齿固定于鼠板上, 经尾静脉注射肝素稀释液3 mL(含肝素150 U)。按周智华等^[9]方法制备大鼠肝脏灌注模型。经门静脉置管原位灌注4 °C保存液, 以5 mL/min的流速行肝脏原位灌注30 min至肝脏变为土黄色, 然后取两组肝脏, 分别置于4 °C自制器官保存液和UW保存液中保存。

肝脏组织匀浆和组织标本的制备: 肝脏标本分别保存24, 48, 72 h后从器官液和UW液中取出, 冷生理盐水洗净后滤纸拭干、称质量。用天平称取肝脏中叶组织500 mg, 加入9倍冷生理盐水, 制备匀浆, 肝脏组织匀浆4 000 r/min离心15 min, 离心半径13.5 cm, 取上清液进行各项指标的测定。

超氧化物歧化酶、一氧化氮合酶、总抗氧化能力活性和丙二醛含量的检测: 化学比色法测定肝脏组织中总抗氧化能力及一氧化氮合酶活性, 羟胺法测定超氧化物歧化酶活性, TBA法测定丙二醛含量。严格按试剂盒说明书进行。

主要观察指标: 肝脏组织总抗氧化能力、一氧化氮合酶活性、超氧化物歧化酶活性及丙二醛含量变化。

统计学分析: 统计学处理由第一作者完成。结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 用SPSS for Windows 12.0软件进行统计分析, 采取 t 检验, $P < 0.05$ 认为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 实验动物数量分析 实验选用大鼠16只, 随机分为两组, 实验组和对照组各8只, 实验过程中无脱失, 全部进入结果分析。

2.2 实验组和对照组保存液低温保存肝脏组织各时间超氧化物歧化酶、一氧化氮合酶、总抗氧化能力、丙二醛结果 自制器官保存液低温保存大鼠肝脏各时间点的超氧化物歧化酶、一氧化氮合酶、总抗氧化能力、丙二醛的变化相比UW保存液较缓慢, 同时点自制器官保存液超氧化物歧化酶、一氧化氮合酶、总抗氧化能力活性及丙二醛含量与UW保存液比较, 差异无显著性意义($P > 0.05$), 见表1-4。表明自制器官保存液对低温保存大鼠肝脏在减轻氧自由基损伤方面有较好的效果, 与UW液相当。

表1 自制器官保存液和UW保存液保存的肝脏组织各时间超氧化物歧化酶检测结果

Table 1 Content of superoxide dismutase in the rat liver tissues preserved with self-made organ preservation solution and UW preservation solution at different time points ($\bar{x}\pm s$, $n=8$, $\mu\text{mol/g}$)

保存时间	自制器官保存液	UW保存液
24 h	76.20±6.43	77.46±8.65
48 h	68.56±6.67	72.57±6.74
72 h	62.33±8.08	65.74±5.43

注: 随着保存时间的增加, 超氧化物歧化酶指标均下降, 但两组比较差异无显著性意义($P > 0.05$)

表2 自制器官保存液和UW保存液保存的肝脏组织各时间一氧化氮合酶检测结果

Table 2 Content of nitric oxide synthase in the rat liver tissues preserved with self-made organ preservation solution and UW preservation solution at different time points ($\bar{x}\pm s$, $n=8$, $\mu\text{mol/g}$)

保存时间	自制器官保存液	UW保存液
24 h	4.80±0.79	5.18±0.97
48 h	2.68±0.26	2.20±0.03
72 h	0.91±0.18	0.81±0.16

注: 随着保存时间的增减, 一氧化氮合酶含量均呈下降趋势, 但两组比较差异无显著性意义($P > 0.05$)

表3 自制器官保存液和 UW 保存液保存的肝脏组织各时间丙二醛检测结果

Table 3 Content of malondialdehyde in the rat liver tissues preserved with self-made organ preservation solution and UW preservation solution at different time points ($\bar{x} \pm s$, $n=8$, $\mu\text{mol/g}$)

保存时间	自制器官保存液	UW 保存液
24 h	2.70±0.42	2.51±0.45
48 h	3.62±0.83	3.12±0.77
72 h	4.46±0.99	4.46±0.99

注: 随着保存时间的增减, 丙二醛含量均增加, 但两组比较差异无显著性意义($P > 0.05$)

表4 自制器官保存液和 UW 保存液保存的肝脏组织各时间总抗氧化能力结果

Table 4 Content of total antioxidant capacity activity in the rat liver tissues preserved with self-made organ preservation solution and UW preservation solution at different time points ($\bar{x} \pm s$, $n=8$, $\mu\text{mol/g}$)

保存时间	自制器官保存液	UW 保存液
24 h	2.10±0.52	2.30±0.57
48 h	1.79±0.18	1.60±0.37
72 h	1.08±0.25	1.01±0.23

注: 随着保存时间的增减, 总抗氧化能力均降低, 但两组比较差异无显著性意义($P > 0.05$)

2.3 不良反应或并发症 实验动物未出现腹腔感染、尿毒症等症状。

3 讨论

近年来, 临床肝移植已在全世界范围内广泛开展, 被作为终末期肝病、急性肝功能衰竭、先天性及代谢性肝病和部分肝肿瘤的最为有效的治疗手段^[9-10]。肝移植术可导致肝脏缺血再灌注损伤, 使肝组织结构改变、肝细胞功能丧失, 最终导致肝脏损伤及肝功能衰竭^[11]。肝脏缺血再灌注损伤是一个多因素参与、多通路共同发挥作用的复杂病理生理过程, 目前研究认为其发生机制主要有以下几个方面: 氧自由基过量生成、细胞内钙超载、微循环障碍及炎性细胞因子的参与等, 其中氧自由基被认为是其中最重要的一个因素^[12]。

肝脏是人体内最大的代谢器官, 对缺血缺氧较为敏感, 肝移植过程中肝脏的移植、器官保存液的灌注和低

温保存都会伴有一定程度肝脏缺血再灌注损伤。肝脏发生缺血后, 黄嘌呤氧化酶和来自AMP的次黄嘌呤(HX)在组织中堆积, 再灌注后大量分子氧进入缺血组织, 自由基的产生也急剧增加; 同时再灌注过程中产生的超氧化物和过氧化物可继续反应生成羟基自由基和单线态氧, 继而转化为有机过氧化物自由基(RO·、ROO·)和氢过氧化物(ROOH)。这些自由基攻击生物膜结构的磷脂不饱和脂肪酸, 引起膜系统的结构和功能改变^[13-15], 造成肝脏功能损伤, 影响肝脏移植的成功。

早期机体器官发生缺血再灌注损伤时, 通过氧自由基(OFR)清除系统清除氧自由基, 保护肝脏细胞。丙二醛为脂质过氧化代谢产物之一, 丙二醛含量的高低能反映组织或细胞的损伤, 它的升高提示脂质过氧化的形成增多, 组织或细胞损伤明显^[16], 肝脏缺血再灌注后丙二醛含量会因此增加。总抗氧化能力是综合反映组织抗活性氧对机体损伤能力的敏感指标^[17], 其大小可代表和反映机体的抗氧化酶系统和非酶系统对外来刺激的代偿能力以及机体自由及代谢状态^[18]。超氧化物歧化酶为内源性氧自由基清除剂, 哺乳类动物细胞中的超氧化物歧化酶可歧化超氧阴离子生成过氧化氢, 保护细胞不受强毒性氧自由基损伤, 正常情况下与体内其它内源性氧自由基清除剂一同清除体内代谢产生的氧自由基, 其活性高低基本代表了组织清除氧自由基的能力^[19]。多数学者认为, 病理状态下器官在低温保存过程中受损后其NO降低^[20]。

自制器官保存液中含有L-精氨酸、聚乙二醇、L-色氨酸、川芎嗪、苦碟子等成分。L-精氨酸是一氧化氮(NO)的前体, L-精氨酸可通过降低体内氧自由基水平, 提高NO水平, 改善缺血再灌注损伤时肝脏的能量代谢^[26]。聚乙二醇在器官保存液中可发挥保护细胞膜、维持细胞骨架完整性、防止细胞水肿、抗脂质过氧化和免疫调节的作用^[27]。L-色氨酸有细胞膜稳定作用。研究表明, 川芎嗪具有钙拮抗作用; 可以抑制黄嘌呤氧化酶生成, 具有很强的清除氧自由基的作用^[28]; 能抑制肝脏组织中中性粒细胞的浸润, 保护肝窦内皮并逆转其功能紊乱^[29], 抑制肝细胞凋亡, 使肝细胞的再灌注损伤得以减轻^[30]。苦碟子总黄酮成分可以增强机体自由基的清除能力, 减少脂质过氧化反应, 抑制脂质过氧化反应, 对组织缺血再灌注损伤有明显的保护作用^[31]。课题组前期研究证实, 自制器官保存液能明显减轻低温保存大鼠睾丸自由基损伤^[32]。

目前临床上常用的肝移植器官保存液^[21]:

The clinical common used organ preservation solution for liver transplantation:

器官保存液	主要成分	临床应用价值
University Wiscosin 保存液 (UW 液) ^[22]	不具有代谢活性的乳酸盐和木棉糖; 加入氧自由基清除剂: 谷胱甘肽、别嘌呤醇和腺苷。	经过改进, UW 液获得了较长的冷保存期, 已被认为是肝、肾、胰脏的标准保存液
Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat 保存液 (HTK 液) ^[23]	采用了一种由组氨酸和另外两种代谢物组成的强大缓冲体系, 因此黏度非常低。	对于肝移植体的保存, 至少在 24 h 以内 HTK 液和 UW 液同样安全有效。
Collins 保存液 ^[24]	模仿细胞内液制成, 并且用葡萄糖来维持渗透浓度为 420 mOsmol 的高张环境	由于含葡萄糖的无菌液必须与电解质液分开配制, 需要时再混合
长征-1 号多器官保存液 (CZ-1 液) ^[25]	用低分子右旋糖酐 40 替代羟乙基淀粉; 用蔗糖替代木棉糖; 去掉 UW 液中添加成分, 取而代之钙离子拮抗剂维拉帕米; 使 pH 值进一步偏碱性	CZ-1 液对肾、肝、心、胰、小肠等的低温保存效果基本类同于 UW 液, 部分结果优于 UW 液

实验结果显示, 随着低温保存肝脏时间的延长, 实验组和对照组肝组织丙二醛、一氧化氮合酶、TAO-C 均逐渐下降, 实验组下降幅度较对照组缓慢; 实验组同时点丙二醛含量均高于对照组; 实验组对低温保存大鼠肝脏同时点超氧化物歧化酶、一氧化氮合酶和总抗氧化能力活性及丙二醛含量与对照组比较, 差异均无显著性意义 ($P > 0.05$), 上述指标均表明自制器官保存液的川芎嗪和苦碟子能够协同作用, 共同发挥对抗氧自由基的作用减轻肝脏缺血再灌注的损伤^[33-34], 对低温保存大鼠肝脏具有较好的保护作用, 与 UW 液相当。

综上所述, 自制器官保存液成分简单, 价格低廉, 对低温保存离体大鼠肝脏在对抗氧自由基损伤时有较好的效果, 与 UW 液相当, 其成分具有潜在的研究价值, 但仍需进一步改进与研究。

基金资助: 浙江省大学生科技创新活动计划暨新苗人才计划 (2012R426025); 绍兴文理学院医学院学生科研项目 (201106); 绍兴文理学院第一批校级优秀教学团队建设成果 (200907)。

作者贡献: 王露佳、孙雯、张金萍进行实验设计, 实验实施为王露佳、孙雯、王超、赵小瑜, 朱玲颖, 马静茹, 唐雀美,

郑丹燕, 实验评估为张金萍, 资料收集王露佳, 王露佳成文, 张金萍审校, 张金萍对文章负责。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

伦理要求: 实验过程中对动物的处置应符合 2009 年《Ethical issues in animal experimentation》相关动物伦理学标准的条例。

作者声明: 文章为原创作品, 数据准确, 内容不涉及泄密, 无一稿两投, 无抄袭, 无内容剽窃, 无作者署名争议, 无与他人课题以及专利技术的争执, 内容真实, 文责自负。

4 参考文献

- [1] Olschewski P, Hunold G, Eipel C, et al. Improved microcirculation by low-viscosity histidine-tryptophan-ketoglutarate graft flush and subsequent cold storage in University of Wisconsin solution: results of an orthotopic rat liver transplantation model. *Transpl Int.* 2008; 21(12):1175-1180.
- [2] Feng L, Zhao N, Yao X, et al. tidine-tryptophan-ketoglutarate solution vs. University of Wisconsin solution for liver transplantation: a systematic review. *Liver Transpl.* 2007; 13(8): 1125-1136.
- [3] Spiegel HU, Schleimer K, Kranz D, et al. gan preservation with EC, HTK, and UW solutions in orthotopic liver transplantation in syngeneic rats. Part I: Functional parameters. *J Invest Surg.* 1998;11(1):49-56.
- [4] Zuluaga GL, Agudelo RE, Tobón JJ. Preservation Solutions for Liver Transplantation in Adults: Celsior versus Custodiol: A Systematic Review and Meta-analysis With an Indirect Comparison of Randomized Trials. *Transplant Proc.* 2012 Sep 15.
- [5] Juang SE, Huang HW, Kao CW, et al. Effect of university of wisconsin and histidine-tryptophan-ketoglutarate preservation solutions on blood potassium levels of patients undergoing living-donor liver transplantation. *Transplant Proc.* 2012;44(2): 366-368.
- [6] Salahudeen AK, Haider N, May W. Cold ischemia and the reduced long-term survival of cadaveric renal allografts. *Kidney Int.* 2004;65(2):713-718.
- [7] Luo G, Luo DL, Li XZ, et al. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(18):3235-3238. 罗刚, 罗地来, 李晓征, 等. 自制PV液与大鼠肝脏低温保存: 与 UW 液的对比[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(18): 3235-3238.
- [8] Wu J, Zheng SS. Liver transplantation in China: problems and their solutions. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2004;3(2): 170-174.
- [9] Zhou ZH, Cui XG, Han QC, et al, Dier Junyi Daxue Xuebao. 2007; 28(2):122-126. 周智华, 崔心刚, 韩秋成, 等. 上海多器官保存液保存离体大鼠肝脏的实验研究[J]. 第二军医大学学报, 2007, 28(2):122-126.
- [10] Jiang XQ. Diyi Junyi Daxue, 2006. 蒋晓青. 肝移植术中还原型谷胱甘肽对机体氧自由基代谢水平影响的研究[D]. 第一军医大学, 2006.

- [11] Montalvo-Jave EE, Escalante-Tattersfield T, Ortega-Salgado JA, et al. Factors in the pathophysiology of the liver ischemia-reperfusion injury. *J Surg Res.* 2008;147(1): 153-159.
- [12] Fernandez-Checa JC, Yi JR, Garcia Ruiz C, et al. Plasma membrane and mitochondrial transport of hepatic reduced glutathione. *Semin Liver Dis.* 1996;16(2):147-158.
- [13] Yuan WY, Jiang WQ, Jian WL, et al. *Zhongguo Yishi Zazhi.* 2004; 6(5):638-640.
元文勇,姜文泉,姜惟龙,等.大鼠肝脏缺血再灌注损伤早期肝亚细胞成份中氧自由基的变化[J].*中国医师杂志*,2004,6(5):638-640.
- [14] Geng ZL, Lu HM, Cao H, et al. *Jiefangjun Yixue Zazhi.* 2011; 36(3):221-224.
耿智隆,陆化梅,曹虹,等.己酮可可碱对重度失血性休克大鼠肝脏缺血再灌注后氧自由基的影响[J].*解放军医学杂志*,2011, 36(3):221-224.
- [15] Deree J, Martins JO, Leedom A, et al. Hypertonic saline and pen toxifylline educes hemorrhagic shock resuscitation-induced pulmonary inflammation through attenuation of neutrophil degranulation and pro-inflammatory mediator synthesis. *Trauma.*2007;62(2):104-111.
- [16] Zhao K. *Zhongyuan Yikan.* 2007;34(3):5-6.
赵珂.银杏叶提取物对大鼠肝脏缺血再灌注损伤的保护作用[J].*中原医刊*,2007,34(3):5-6.
- [17] Nair N, Bedwal S, Prasad S, et al. Short-term zinc deficiency in diet induces increased oxidative stress in testes and epididymis of rats. *Indian J Exp Biol.* 2005;43(9):786-794.
- [18] Chen SJ, Sun YM, Meng YJ, et al. *Huan Jing Yu Jian Kang Za Zhi.* 2007;24(8):627-629.
陈树君,孙玉敏,孟羽俊,等.慢性氟中毒大鼠睾丸组织总抗氧化能力与一氧化氮合酶和一氧化氮的变化[J].*环境与健康杂志*, 2007, 24(8):627.
- [19] Tang ZZ, Dai CL, Shen Y, et al. *Zhongguo Yike Daxue Xuebao.* 2002;31(4):270-272.
唐志宇,戴朝六,沈勇,等.SOD在缺血预处理保护大鼠肝脏缺血再灌注损伤中的作用[J].*中国医科大学学报*,2002,31(4): 270-272.
- [20] Li K, Chen XP, Xue HZ, et al. *Zhonghua Putong Waikē Zazhi.* 2009;9:744-747.
李珂,陈晚平,薛焕洲,等.去铁胺对自体肝移植大鼠肝脏缺血再灌注损伤的保护作用[J].*中华普通外科杂志*,2009,9:744-747.
- [21] Zhao ZL, Zhang YS, Yu JL, et al. *SHijie Huaren Xiaohua Zazhi.* 2001;9(1):77-79.
赵子胤,张云生,俞金龙,等.肝移植用保存液[J].*世界华人消化杂志*,2001,9(1):77-79.
- [22] Shen XD, Ke B, Uchida Y, et al. Native macrophages genetically modified to express heme oxygenase 1 protect rat liver transplants from ischemia/reperfusion injury. *Liver Transpl.* 2011;17(2):201-210.
- [23] Ghafaripour S, Sahmeddini MA, Lahsae SM, et al. Hypotension after reperfusion in liver transplantation: histidine-tryptophan-ketoglutarate versus University of Wisconsin solution. *Prog Transplant.* 2010;20(3):256-261.
- [24] Garcia JH, Barros MA, Gonçalves BP, et al. Evaluation of hepatic function after orthotopic liver transplantation: a comparative study using Belzer and Collins solutions. *Transplant Proc.* 2006;38(5):1236-1237.
- [25] Liu DM, Piao YR, Dong XZ, et al. *Zhonghua Shiyān Waikē Zazhi.* 2012;29(1):147-147.
刘东明,朴勇瑞,董秀哲,等.自制多器官保存液对兔肾脏低温保存期间线粒体功能的保护作用[J].*中华实验外科杂志*,2012, 29(1):147-147.
- [26] Chen L, Yan WX, Tang LL, et al. *Gandanyi Waikē Zazhi.* 2010, 22(3):200-202.
陈亮,颜王鑫,唐兰兰,等.L-精氨酸对兔缺血再灌注损伤肝脏能量代谢的影响[J].*肝胆胰外科杂志*,2010,22(3):200-202.
- [27] Zhao WY. *Dier Junyi Daxue.* 2009.
赵闻雨.新型SMO多器官保存液在大鼠肝脏保存中的实验研究 [D].第二军医大学,2009.
- [28] Wang H, Chen ZZ. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi.* 2000,8(2): 98.
王红,陈在忠.川芎嗪对大鼠肝纤维化脂质过氧化的影响[J].*中华肝脏病杂志*,2000,8(2):98.
- [29] Wang WT, Xu ZJ, Lin LN, et al. *Zhongguo Zhongxiyi Jiehe Jijiu Zazhi.* 2002,9(4):216-218.
王万铁,徐正祜,林丽娜,等.川芎嗪抗肝缺血-再灌注损伤作用机制的实验研究[J].*中华中西医结合急救杂志*,2002,9(4):216-218.
- [30] Zhang B, Qian HX, Q L, et al. *Suzhou Daxue Xuebao yixueban.* 2006;26(3):396-399.
张伯,钱海鑫,秦磊,等.川芎嗪对大鼠供肝冷保存再灌注损伤中肝细胞凋亡及调控基因表达的影响[J].*苏州大学学报:医学版*,2006, 26(3):396-399.
- [31] Zhai YR, Yu XF, Qu SC, et al. *Zhongguo Yaolixue Tongbao.* 2010; 26(2):276-277.
翟玉荣,于小风,曲绍春,等.苦碟子总黄酮对大鼠心肌缺血/再灌注损伤的保护作用[J].*中国药理学通报*,2010,26(2):276-277.
- [32] Sun W, Zhang JP, Jie F, et al. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu Yu Linchuang Kangfu.* 2011;15(31):5813-5816.
孙雯,张金萍,揭芳,等.自制多脏器保存液对大鼠睾丸一氧化氮合酶的影响[J].*中国组织工程研究与临床康复*,2011, 15(31): 5813-5816.
- [33] Ko JS, Kim GS, Gwak MS, et al. Greater hemodynamic instability with histidine-tryptophan-ketoglutarate solution than University of Wisconsin solution during the reperfusion period in living donor liver transplantation. *Transplant Proc.* 2008; 40(10):3308-3310.
- [34] Muñoz-Bonet JI, López-Santamaria M, Ruza-Tarrio F, et al. Oxygen consumption, lactate metabolism, and gastric intramucosal pH in an experimental liver transplantation model. *Crit Care Med.* 1998 ;26(11):1850-1856.