

文章编号:1005-6947(2008)03-0237-05

· 基础研究 ·

氨基胍对大鼠胰腺移植保护作用的实验研究

李柏峰¹, 张克忠¹, 刘永锋¹, 程颖¹, 成东华¹, 李铁民²

(中国医科大学附属第一医院 1. 器官移植科 2. 干部诊疗科, 辽宁 沈阳 110001)

摘要:目的 探讨诱导型一氧化氮合酶抑制剂氨基胍对大鼠移植胰腺的保护作用。方法 糖尿病大鼠模型 30 只随机分成 3 组:(1)空白对照组($n=6$),仅开腹手术,不作移植;(2)移植对照组($n=6$),仅作胰腺移植;(3)氨基胍处理组($n=18$),移植胰腺恢复血运前经阴茎背静脉注入盐酸氨基胍(AG)溶液,剂量分别为 60, 80, 100 mg/kg。再灌注 4h 后检测血清一氧化氮(NO)水平,血糖以及淀粉酶活性,定量分析胰腺组织中的结构型一氧化氮合酶(cNOS)和诱导型一氧化氮合酶(iNOS)活性,并对胰腺进行组织形态学和组织化学检查。结果 与移植对照组比较,氨基胍处理组血 NO 水平及淀粉酶活性明显降低,胰腺病理损害较轻,其中以 AG 80 mg/kg 亚组效果更显著($P<0.01$),且该亚组血糖及 iNOS 活性与表达也明显低于移植对照组($P<0.01$)。结论 诱导型一氧化氮合酶选择性抑制剂氨基胍在大鼠胰腺移植中起到保护作用。其作用机制可能与抑制 NO 的过量产生,减轻其作为自由基的细胞毒性有关。

[中国普通外科杂志, 2008, 17(3):237-241]

关键词: 胰腺移植; 缺血再灌注; 诱导型一氧化氮合酶; 氨基胍

中图分类号: R 322.57; R 617

文献标识码: A

Protective effect of aminoguanidine on transplanted pancreas in rats

LI Baifeng¹, ZHANG Kezhong¹, LIU Yongfeng¹, CHENG Ying¹, CHENG Donghua¹, LI Tiemin²
(1. Organ Transplant Unit 2. Department of Cadre Medical Care, the First Affiliated Hospital, China Medical University, Shenyang 110001, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of inducible nitric oxide synthase inhibitor aminoguanidine on transplanted pancreas in rats. **Methods** The models of pancreas transplantation were established in 30 rats. The streptozotocin induced diabetic male Wistar rats were randomly assigned to 3 groups: (1) Blank control group ($n=6$), the rats underwent shamsurgery; (2) transplant control group ($n=6$), the rats received pancreas transplantation only; (3) aminoguanidine group (AG group) ($n=18$), aminoguanidine (a dose of 60, 80, or 100 mg/kg weight) was added to the intravascular infusion before reperfusion of the transplanted pancreas. At 4h after reperfusion, serum nitric oxide (NO) level, blood sugar, and amylase activity were detected. cNOS and iNOS activity of pancreas were detected. Pancreas sections were evaluated by light microscopic examination with HE staining and immunohistochemistry staining. **Results** As compared with transplant control group, the serum NO level and amylase activity decreased significantly, and pancreas injury was much less in AG groups, especial in AG-80 mg/kg sub-group showed the most significant difference ($P<0.01$). The expression and activity of tissue iNOS activity, and blood sugar in AG-80 mg/kg sub-group were much lower than those in transplant control group ($P<0.01$). **Conclusions** Selective iNOS inhibitor-aminoguanidine has protective effect on the transplanted pancreas in rats. The possible mechanisms may be inhibition of overproduction of NO, and reduction the cytotoxicity as free radicals of NO.

[Chinese Journal of General Surgery, 2008, 17(3):237-241]

基金项目: 辽宁省重大科技资助项目(00225001)。

收稿日期: 2007-05-23; **修订日期:** 2007-12-04。

作者简介: 李柏峰,男,中国医科大学附属第一医院主治医师,主要从事器官移植中缺血/再灌注损伤发生机制及其相关影响因素方面的研究。

通讯作者: 刘永锋 E-mail: yfliu@mail.cmu.edu.cn

Key words: Pancreas Transplantation; Ischemia-Reperfusion; Inducible Nitric Oxide Synthase; Aminoguanidine

CLC number: R 322.57; R 617

Document code: A

移植后胰腺炎是影响胰腺移植效果的严重并发症,而缺血再灌注(I/R)损伤是其主要诱因之一^[1-2],氧自由基的产生是造成I/R损伤的重要原因。一氧化氮(NO)是一种双刃刀,既是具有强烈细胞毒性作用的自由基,同时还是内皮源性血管舒张因子,对于改善胰腺移植术后微循环有积极作用。因此,如何利用NO的保护作用并避免其损害,有重要的意义。本实验在建立大鼠胰腺移植模型的基础上,探讨胰腺移植中一氧化氮合酶(NOS)各种亚型的表达情况,以及诱导型一氧化氮合酶(iNOS)抑制剂氨基胍对移植胰腺的保护作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

雄性Wistar大鼠(中国医科大学实验动物中心),体重250~300g,实验前2周受体大鼠一次性经阴茎背静脉注入链脲霉素55mg/kg,2周内连续3次空腹血糖>17.4mmol/L,为成功的糖尿病大鼠模型($n=30$)。24只同种大鼠作为供体。受体大鼠随机分为3组:(1)空白对照组($n=6$),只麻醉及开腹,不行移植;(2)移植对照组($n=6$),只行移植手术,移植胰腺通血前注射1mL生理盐水;(3)氨基胍(AG)处理组($n=18$),移植胰腺恢复血供前经阴茎背静脉注入盐酸氨基胍溶液,剂量分别为60,80,100mg/kg。

1.2 手术方法及标本采集

依据Lee等^[3]的方法行同系大鼠全胰十二指肠移植。术前禁食不禁水24h。供体胰腺获取前用4℃肝素生理盐水3mL灌洗,将供体带腹腔动脉和肠系膜上动脉的腹主动脉段与受体腹主动脉端侧吻合,供体门静脉与受体下腔静脉端侧吻合,胰腺外分泌经膀胱引流。移植胰腺的平均热缺血时间10min,冷缺血时间20min。再灌注4h后处死动物,迅速开腹取胰腺。将胰腺标本分为两部分,一部分放入40g/L的磷酸盐缓冲液(PBS)配制的甲醛溶液中固定,另一部分深低温冰箱-70℃保存。获取胰腺后迅速经上腔静脉采血3mL,所采集的血液不经抗凝,2000r/min离心10min,取血清-20℃冻存。

1.3 检测指标及方法

1.3.1 血清NO水平检测 利用硝酸还原酶特

异性将硝酸盐还原为亚硝酸盐^[4],通过显色深浅测定其浓度高低,以反映体内NO水平。

1.3.2 血糖检测 使用强生血糖仪测定血糖。

1.3.3 血清淀粉酶活力测定 使用碘-淀粉比色法(改良苏氏法)。苏氏单位定义:以100mL血清37℃下30min水解淀粉10mg为1个苏氏单位。

1.3.4 胰腺组织NOS活性测定 使用NOS测定试剂盒(购自南京建成生物工程研究所)分别测定胰腺组织中cNOS和iNOS活性。NOS催化L-精氨酸和分子氧生成NO,NO与亲核性物质生成有色化合物。组织NOS酶活力单位定义:以每毫克组织每分钟生成1nmolNO为1个酶活力单位^[4]。

1.3.5 免疫组织化学检测 使用SABC试剂盒(购自武汉博士德生物工程有限公司),以特异性抗iNOS抗体对石蜡切片染色,观察iNOS在胰腺组织种表达的部位。

1.3.6 病理学观察 按照标准步骤将胰腺组织制成石蜡切片,光学显微镜下病理形态学检查。

1.4 统计学分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,使用SPSS10.0软件系统对实验结果进行统计学分析,对各组间差异进行方差分析。 $P < 0.05$ 具有统计学意义。

2 结果

2.1 血清NO水平

空白对照组血清中NO水平较低;移植对照组移植胰腺再灌注4h后,血清NO水平明显高于空白对照组,差异显著($P < 0.01$);而静脉注射氨基胍后,移植胰腺再灌注4h,血清NO水平明显低于移植对照组,差异显著($P < 0.01$),其中AG剂量为80mg/kg时效果明显强于60mg/kg组,而剂量增至100mg/kg时血NO水平与80mg/kg组比较,差异无显著性($P > 0.05$);但AG80mg/kg组血NO水平仍高于空白对照组,差异有显著性($P < 0.05$)(表1)。

2.2 血清淀粉酶活性

移植对照组血清淀粉酶活性明显高于空白对照组($P < 0.01$);而使用氨基胍处理后,血淀粉酶均降低,其中以AG80mg/kg组效果显著($P < 0.01$);AG剂量继续增加后,血淀粉酶活性没有进一步下降(表1)。

表1 移植胰腺再灌注4h血清NO水平及淀粉酶活性

分组	n	NO($\mu\text{mol/L}$)	淀粉酶(U/dl)
空白对照组	6	30.0 \pm 3.5	342 \pm 73
移植对照组	6	192.3 \pm 60.0 ¹⁾	4477 \pm 630 ¹⁾
氨基胍处理组			
60 mg/kg	6	137.3 \pm 21.1 ²⁾	2848 \pm 354 ²⁾
80 mg/kg	6	67.9 \pm 19.5 ²⁾	1494 \pm 263 ²⁾
100 mg/kg	6	66.0 \pm 16.6 ^{2),3)}	1426 \pm 177 ^{2),3)}

注:1)与空白对照组比较, $P < 0.01$;2)与移植对照组比较, $P < 0.01$;3)与AG 80 mg/kg组比较, $P > 0.05$

2.3 血糖水平

各组糖尿病大鼠移植术前血糖水平无明显差异($P > 0.05$);移植胰腺恢复血供4h后,各组血糖均较对照组明显下降($P < 0.01$),其中AG 80 mg/kg组移植后血糖水平较移植对照组及AG 60 mg/kg组更低,且效果显著($P < 0.01$);而AG 100 mg/kg组与AG 80 mg/kg组比较无明显差异($P > 0.05$)(表2)。

表2 移植胰腺再灌注4h后血糖变化(mmol/L)

分组	n	移植前	移植后
空白对照组	6	19.6 \pm 1.4	-
移植对照组	6	20.1 \pm 2.0	16.9 \pm 2.0 ¹⁾
氨基胍处理组			
60 mg/kg	6	19.9 \pm 1.5	16.8 \pm 1.1 ¹⁾
80 mg/kg	6	19.8 \pm 1.7	14.2 \pm 0.9 ^{1),2),3)}
100 mg/kg	6	20.5 \pm 1.6	15.1 \pm 1.8 ^{1),2),4)}

注:1)与空白对照组比较, $P < 0.01$;2)与移植对照组比较, $P < 0.01$;3)与AG 60 mg/kg组比较, $P < 0.05$;4)与AG 80 mg/kg组比较, $P > 0.05$

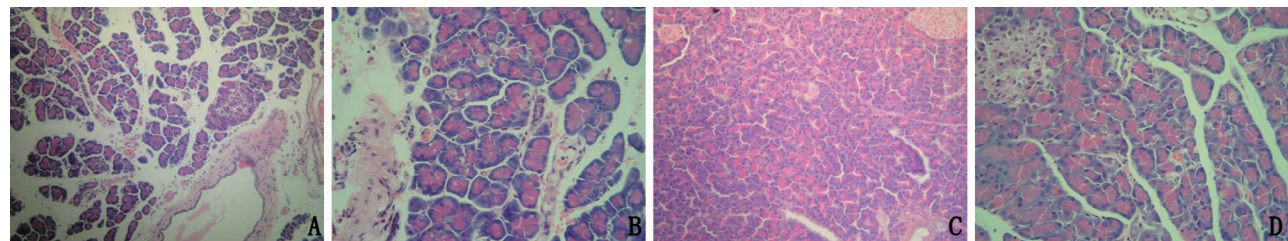


图1 胰腺组织病理改变 A:移植对照组(HE \times 100);B:移植对照组(HE \times 200);C:氨基胍组AG-80mg/kg(HE \times 100);D:氨基胍组AG-80mg/kg(HE \times 200)

3 讨论

胰腺移植中的缺血再灌注损伤,可导致机体上皮细胞功能障碍,内源酶激活,白细胞聚集并活化,氧源性自由基产生,激活脂质过氧化反应,减少谷胱甘肽等抗氧化成分^[5],同时移植胰腺的能量代谢受到抑制^[6],导致胰腺炎的发生。一氧

2.4 胰腺组织中NOS各种亚型的活性

移植对照组iNOS活性显著高于空白对照组($P < 0.01$);而给予80 mg/kg氨基胍后,iNOS活性较移植对照组明显降低($P < 0.01$),且AG 80 mg/kg组与空白对照组相比无明显差别($P > 0.05$)。而各组大鼠胰腺组织中cNOS的活性无明显差异($P > 0.05$)(表3)。

表3 移植胰腺再灌注4h后胰腺组织中NOS各亚型的活性(U/mL)

分组	n	cNOS	iNOS
空白对照组	6	5.35 \pm 1.01	1.87 \pm 0.19
移植对照组	6	5.91 \pm 0.71	26.59 \pm 5.78 ¹⁾
AG-80 mg/kg组	6	5.64 \pm 0.97	2.01 \pm 0.23 ^{2),3)}

注:1)与空白对照组比较, $P < 0.01$;2)与移植对照组比较, $P < 0.01$;3)与空白对照组比较, $P > 0.05$

2.5 胰腺组织中iNOS的表达

移植对照组免疫组化切片中可见iNOS强阳性染色,iNOS的染色主要分布于血管内膜、平滑肌和胰岛细胞团的胞质内;而在空白对照组和氨基胍处理组,胰腺组织中未见iNOS阳性染色。

2.6 胰腺病理改变

移植对照组的胰腺组织光镜下可见毛细血管扩张,其周围水肿,并有较多中性粒细胞浸润,静脉扩张并充血,伴有局部组织出血,部分腺泡坏死,呈典型的出血坏死型胰腺炎表现;而氨基胍处理组的胰腺组织,可保持基本正常结构,未见明显损害表现,或仅有少量中性粒细胞浸润(图1)。

化氮(NO)在胰腺移植中的作用非常复杂,它在生物体内可转化成具有强烈的细胞毒性作用的自由基——过氧化亚硝酸盐^[7]。病理条件下,iNOS可在内毒素和淋巴因子的刺激下迅速表达,产生高浓度的NO^[8]。Takacs等^[9]指出,外源性提供NOS的底物,增加NO的合成,可诱发大鼠发生急性胰腺炎;而给予NOS抑制剂L-NAME后,大

鼠血淀粉酶水平显著下降,胰腺水肿减轻。研究表明,在重症急性胰腺炎病理改变中,胰腺微循环中白细胞粘附的数量及出血坏死型胰腺炎的组织形态改变,与胰腺组织内 iNOS 的表达和血中 NO 的水平正相关,表明在胰腺炎的发展过程中 iNOS 和 NO 起着有害的作用^[10-15],并同缓激肽、血小板活化因子、内皮素等一起促使胰腺微循环衰竭的进展^[16]。近年来,在药物诱导急性胰腺炎动物模型的研究中发现,胰腺组织中 NF- κ B 和 iNOS 的表达增强,同时 NO 等活性氧自由基大大升高;而使用抗氧化剂或 NOS 抑制剂后,随着髓过氧化物酶和 iNOS 活性的显著下降,NO 和血淀粉酶、血脂肪酶水平都明显降低,胰腺炎症状明显减轻^[17-19]。Ma 等^[20]人在大鼠重症急性胰腺炎模型中发现,其腹膜巨噬细胞中有 NF- κ B 和 iNOS 表达;而随着 NO 水平的下降,胰腺炎的病理变化减轻。Folch-Puy E 等^[21]人研究发现,在给大鼠进行 ERCP 前 1 h,口服过氧化物酶体增生物激活受体促效药,可以减轻随后发生的胰腺炎症反应,伴随血脂肪酶和髓过氧化物酶(MPO)活性下降;他们认为这种保护作用的机制与抑制 NF- κ B 和 iNOS 的活性,阻断淋巴细胞在胰腺组织的浸润有关。在大鼠胰腺缺血再灌注损伤引起急性出血坏死性胰腺炎的模型中,Leindler 和 Viola^[22-23]发现胰腺和肺组织中均有 iNOS 过度表达的趋势,由此引起的 NO 过量产生介导了胰腺和肺组织的氧化损伤,且 iNOS 的过度表达与细胞凋亡关系密切。Duchen 在组织器官缺血再灌注损伤的实验中,发现细胞内钙超载与 NO 的大量产生有关,它们共同参与了细胞内线粒体膜的破坏,最终引起细胞死亡^[24]。而选择性抑制 iNOS 的过量表达,可避免随着再灌注时间延长而出现的 NO 异常增多,在减少 NO 细胞毒性的同时,减轻胰腺缺血/再灌注损伤^[25]。但也有研究指出,NO 有舒张血管,改善微循环灌注,保护组织器官的作用。在一些胰腺缺血/再灌注实验中^[26-28],提供内源或外源 NO 可以改善胰腺微循环灌注,减轻水肿和中性粒细胞的浸润,从而对胰腺起到保护作用。因此,NO 在胰腺移植缺血/再灌注损伤中的作用复杂,认识尚未统一。

以往的研究显示,胰腺缺血/再灌注早期(0~2 h 左右),cNOS 催化底物合成 NO,可以改善微循环,减轻组织水肿和炎症细胞浸润。此时适当补充外源性 NO 或 NOS 的底物,可能延续这种缓解移植血管痉挛的作用^[28]。而再灌注超过

一定时间后(4 h 以上),炎症介质(如 TNF- α 和 IL-1 β)大量产生,使 iNOS 激活并过表达^[29],导致 NO 水平异常升高,进而生成具有强烈细胞毒性的自由基。这种毒性作用掩盖了 NO 在改善微循环方面的保护作用,使 iNOS 成为介导胰腺移植缺血再灌注损伤的重要因素。因此,选择性抑制 iNOS,理论上既能够保持 NO 正常水平下改善微循环的作用,有能够控制其作为自由基的细胞毒性。近年,氨基胍作为 iNOS 的选择性抑制剂其特异性已得到广泛证实,它可通过多种途径使 iNOS 失活,很有研究前景^[30]。

本实验发现,大鼠胰腺移植模型中移植物再灌注 4 h 后,实验动物出现了急性胰腺炎的改变;同时内源性 NO 大量产生,iNOS 在胰腺组织大量表达且活性升高,cNOS 没有明显变化。而选择性诱导型一氧化氮合酶(iNOS)抑制剂——氨基胍,能够对胰腺移植起到保护作用。主要表现在氨基胍控制了 NO 的过度生成,减少其作为自由基的细胞毒性作用,从而使得大鼠血淀粉酶降低,移植胰腺组织形态改善,缺血再灌注损伤减轻,防止移植后胰腺炎的发生发展,使移植物功能得到保护。

此外,目前已经有很多研究表明,iNOS 作为 IL-1 β 的中介,合成过量的 NO,可以抑制胰岛素的分泌,对胰腺 β 细胞有严重损害,已经成为糖尿病的发病机制之一;而抑制 iNOS 的活性,可以起到明显的 β 细胞保护作用^[31-33]。本试验中,氨基胍处理组移植后血糖下降明显,也与上述观点相同;进一步证实选择性 iNOS 抑制剂对胰腺移植的内、外分泌组织都有明显的保护作用。

参考文献:

- [1] Sweiry JH, Mann GE. Role of oxidative stress in the pathogenesis of acute pancreatitis [J]. Scand Gastroenterol, 1996, 31 (suppl 219): 10-15.
- [2] Benz S, Bergt S, Obermaier R, et al. Impairment of microcirculation in the early reperfusion period predicts the degree of graft pancreatitis in clinical pancreas transplantation [J]. Transplantation, 2001, 71 (6): 759-763.
- [3] Lee S, Tung KSK, Koopmans H, et al. Pancreaticoduodenal transplantation in the rat [J]. Transplantation, 1971, 13 (2): 421-425.
- [4] Corbett JA, Sweetland MA, Wang JL, et al. Nitric oxide mediates cytokine-induced inhibition of insulin secretion by human islets of Langerhans [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1993, 90 (5): 1731-1735.
- [5] Schroeder RA, Kuo PC. Local consequence of reperfusion following transplantation [A]. In: Grace PA, Mathie RT,

- eds. Ischemia-Reperfusion Injury [M]. Oxford: Blackwell Science, 1999 (2), 113 - 122.
- [6] 原春辉, 刘永锋, 赵宁, 等. 腺苷对移植胰腺再灌注损伤保护作用的实验研究 [J]. 中国普通外科杂志, 2005, 14, (5), 343 - 346.
- [7] Bulter AR, Flitney FW, Williams DLH. NO, nitrosonium ions, nitrosothiols and iron-nitrosyls in biology: a chemist's perspective [J]. Trend Pharmacol Sci, 1995, 16(1):18 - 22.
- [8] Mizutani A, Maki H, Torii Y, *et al.* Ascorbate-dependent enhancement of nitric oxide formation in activated macrophages [J]. Nitric Oxide, 1998, 2(4):235 - 241.
- [9] Takacs T, Czako L, Morschl E, *et al.* The role of nitric oxide in edema formation in L-arginine-induced acute pancreatitis [J]. Pancreas, 2002, 25(3):277 - 282.
- [10] Chen HM, Shyr MH, Lau YT, *et al.* Leukocyte-endothelial adherence correlates with pancreatic nitric oxide production in early cerulein-induced pancreatitis in rats [J]. Shock, 1998, 10(3):218 - 222.
- [11] Rahman SH, Ammori BJ, Larvin M, *et al.* Increased nitric oxide excretion in patients with severe acute pancreatitis: evidence of an endotoxin mediated inflammatory response? [J]. Gut, 2003, 52(2):270 - 274.
- [12] Rau B, Bauer A, Wang A, *et al.* Modulation of endogenous nitric oxide synthase in experimental acute pancreatitis: role of anti-ICAM-1 and oxygen free radical scavengers [J]. Ann Surg, 2001, 233(2):195 - 203.
- [13] Tomaszewska R, Dembinski A, Warzecha Z, *et al.* Morphological changes and morphological-functional correlations in acute experimental ischemia/reperfusion pancreatitis in rats [J]. Pol J Pathol, 2000, 51(4):179 - 184.
- [14] Cuzzocrea S, Mazzon E, Dugo L, *et al.* Inducible nitric oxide synthase-deficient mice exhibit resistance to the acute pancreatitis induced by cerulein [J]. Shock, 2002, 17(5):416 - 422.
- [15] Ayub K, Serracino-Inglott F, Williamson RC, *et al.* Expression of inducible nitric oxide synthase contributes to the development of pancreatitis following pancreatic ischaemia and reperfusion [J]. Br J Surg, 2001, 88(9):1189 - 1193.
- [16] Zhou ZG, Chen YD. Influencing factors of pancreatic microcirculatory impairment in acute pancreatitis [J]. World J Gastroenterol, 2002, 8(3):406 - 412.
- [17] Long J, Song N, Liu XP, *et al.* Nuclear factor-kappaB activation on the reactive oxygen species in acute necrotizing pancreatic rats [J]. World J Gastroenterol, 2005, 11(27):4277 - 4280.
- [18] Yoo BM, Oh TY, Kim YB, *et al.* Novel antioxidant ameliorates the fibrosis and inflammation of cerulein-induced chronic pancreatitis in a mouse model [J]. Pancreatol, 2005, 5(2-3):165 - 176.
- [19] Sugiyama Y, Kato S, Mitsufoji S, *et al.* Pathogenic role of endothelial nitric oxide synthase (eNOS/NOS-III) in cerulein-induced rat acute pancreatitis [J]. Dig Dis Sci, 2006, 51(8):1396 - 1403.
- [20] Ma ZH, Ma QY, Wang LC, *et al.* Effect of resveratrol on peritoneal macrophages in rats with severe acute pancreatitis [J]. Inflamm Res, 2005, 54(12):522 - 527.
- [21] Folch-Puy E, Granell S, Iovanna JL, *et al.* Peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonist reduces the severity of post-ERCP pancreatitis in rats [J]. World J Gastroenterol, 2006, 12(40):6458 - 6463.
- [22] Leindler L, Morschl E, Laszlo F, *et al.* Importance of cytokines, nitric oxide, and apoptosis in the pathological process of necrotizing pancreatitis in rats [J]. Pancreas, 2004, 29(2):157 - 161.
- [23] Viola G, al-Mufti RA, Sohail M, *et al.* Nitric oxide induction in a rat model of selective pancreatic ischemia and reperfusion [J]. Hepatogastroenterology, 2000, 47(35):1250 - 1255.
- [24] Duchon MR. Roles of mitochondria in health and disease [J]. Diabetes. 2004, 53(Suppl 1):S96 - 102.
- [25] 李柏峰, 刘永锋, 程颖, 等. 一氧化氮在大鼠胰腺缺血/再灌注中的变化及作用 [J]. 中国医科大学学报, 2005, 34(6), 507 - 508.
- [26] Benz S, Obermaier R, Wiessner R, *et al.* Effect of nitric oxide in ischemia/reperfusion of the pancreas [J]. J Surg Res, 2002, 106(1):46 - 53.
- [27] Obermaier R, von Dobschuetz E, Muhs O, *et al.* Influence of nitric oxide on microcirculation in pancreatic ischemia/reperfusion injury: an intravital microscopic study [J]. Transpl Int, 2004, 17(4):208 - 214.
- [28] Yuan CH, Liu YF, Cheng Y, *et al.* Protective effects of L-arginine on reperfusion injury after pancreaticoduodenal transplantation in rats [J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2004, 3(3):349 - 354.
- [29] Larsen CM, Wadt KA, Juhl LF, *et al.* Interleukin-1 beta-induced rat pancreatic islet nitric oxide synthesis requires both the p38 and extracellular signal-regulated kinase 1/2 mitogen-activated protein kinases [J]. J Biol Chem, 1998, 273(24):15294 - 15300.
- [30] Bryk R, Wolff DJ. Mechanism of inducible nitric oxide synthase inactivation by aminoguanidine and L-N6-(1-iminoethyl) lysine [J]. Biochemistry, 1998, 37(14):4844 - 4852.
- [31] Kwon KB, Kim EK, Jeong ES, *et al.* Cortex cinnamomi extract prevents streptozotocin- and cytokine-induced beta-cell damage by inhibiting NF-kappaB [J]. World J Gastroenterol, 2006, 12(27):4331 - 4337.
- [32] Mosen H, Salehi A, Henningsson R, *et al.* Nitric oxide inhibits, and carbon monoxide activates, islet acid alpha-glucosidase activities in parallel with glucose-stimulated insulin secretion [J]. J Endocrinol, 2006, 190(3):681 - 693.
- [33] Arafat HA, Katakam AK, Chipitsyna G, *et al.* Osteopontin protects the islets and beta-cells from interleukin-1 beta-mediated cytotoxicity through negative feedback regulation of nitric oxide [J]. Endocrinology, 2007, 148(2):575 - 584.