

文章编号:1005-6947(2008)07-0658-05

· 肝缺血再灌损伤专题研究 ·

# 红花注射液对肝热缺血再灌注损伤保护作用的研究

齐欣<sup>1</sup>, 车向前<sup>1</sup>, 王超<sup>1</sup>, 贺志军<sup>2</sup>

(1. 中南大学湘雅医学院临床医学系二〇〇四级, 湖南长沙410013; 2. 中南大学湘雅二医院器官移植中心, 湖南长沙410011)

**摘要:**目的 探讨红花注射液对大鼠肝热缺血再灌注损伤( IRI)的保护作用及其机制。方法 选用雄性SD大鼠,随机分成4组,每组6只。S组为假手术组。缺血再灌注组(I/R组)及红花预处理组(SPC组)在缺血前30 min分别经肠系膜静脉注射生理盐水或红花注射液2 mL/kg,而缺血预处理组(IPC组)缺血前30 min阻断血流5 min。再灌注后24 h检测血清谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)水平;肝组织行HE染色,观察病理组织学改变及评分(根据Suzuki标准);TUNEL法检测肝细胞凋亡;RT-PCR检测肝组织肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、巨噬细胞炎症蛋白-2(MIP-2)及细胞黏附因子-1(ICAM-1)mRNA的水平;Western blotting测定核转录因子 $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)蛋白的表达。结果 再灌注24 h后,与I/R组比较,SPC和IPC组血清ALT,AST水平、肝组织病理学半定量评分、肝细胞凋亡指数、肝组织中TNF- $\alpha$ ,MIP-2,ICAM-1 mRNA水平及NF- $\kappa$ B蛋白的表达均降低,差异均有显著性( $P < 0.05$ );SPC组与IPC组比较,上述各项指标差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论 红花注射液通过下调前炎症因子TNF- $\alpha$ ,MIP-2及ICAM-1 mRNA的水平及抗细胞凋亡作用,可减轻移植肝IRI。

[中国普通外科杂志,2008,17(7):658-662]

**关键词:** 肝/血液供给;缺血再灌注损伤;缺血预处理;红花

中图分类号:364.2

文献标识码:A

## Protective effect of safflower solution on warm ischemia reperfusion injury of liver

QI Xin<sup>1</sup>, CHE Xiangqian<sup>1</sup>, WANG Chao<sup>1</sup>, HE Zhijun<sup>2</sup>

(1. The Class of 2004 of Xiangya Medical College, Central South University, Changsha 410013, China;  
2. The Organ Transplantation Center, the Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, China)

**Abstract:** **Objective** To study the protective effect and mechanism of safflower solution on warm ischemia reperfusion injury (IRI) of liver in rats. **Methods** Male Sprague-Dawley rats were randomly divided as 4 groups: Group S (sham group); group I/R (IRI group); group IPC (ischemic preconditioning group); group SPC (safflower solution preconditioning group). The rats were sacrificed at 24 h after reperfusion, serum levels of ALT and AST were measured and HE staining of liver tissues were made to detect rat liver histological changes and grade liver IRI (Suzuki score); apoptosis were monitored by TUNEL; TNF- $\alpha$ , MIP-2 and ICAM-1 mRNA of liver were measured by RT-PCR; NF- $\kappa$ B gene products of liver were detected by Western blotting. The mean value of all the assay tests was compared. **Results** After 24 h reperfusion,

**基金项目:**中南大学大学生创新性试验计划重点项目(YA07060)。

**收稿日期:**2008-04-03; **修订日期:**2008-05-19。

**作者简介:**齐欣,女,中南大学湘雅医学院临床医学系二〇〇四级学生。

**通讯作者:**齐欣 E-mail:qq860222@hotmail.com

compared with group I/R, the liver function (ALT and AST) in group SPC and group IPC was significantly improved ( $P < 0.05$ ), Suzuki scores was significantly decreased ( $P < 0.05$ ), the level of hepatic TNF- $\alpha$ , MIP-2 and ICAM-1 mRNA was significantly decreased ( $P < 0.05$ ), and the expression of hepatic NF- $\kappa$ B protein was also decreased ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** Donor pretreatment with safflower solution can decrease the severity of warm IRI of liver graft by downregulation of proinflammatory cytokines TNF- $\alpha$ , MIP-2 and ICAM-1 mRNA and by its antiapoptotic effects.

[ Chinese Journal of General Surgery, 2008, 17(7): 658 - 662 ]

**Key words:** Liver/blood supply; Ischemia Reperfusion Injury; Ischemic Preconditioning; Safflower

**CLC number:** 364.2

**Document code:** A

肝脏的缺血再灌注损伤 (ischemia-reperfusion injury, IRI) 是肝脏外科和肝移植仍未解决的一个重要临床问题。肝脏 IRI 防护常用的方法有缺血预处理 (ischemia preconditioning, IPC) 和药物预处理。IPC 即在长时间的缺血前行几次短暂的缺血再灌注, 调动机体内源性抗损伤机制, 使肝脏耐受更长时间的缺血, 减轻肝损伤。药物预处理是指利用某些活性物质的直接或间接药理作用以达到类似 IPC 的保护作用。研究证实<sup>[1]</sup>, 一些活血化瘀中药 (如红花) 对脏器 IRI 具有保护作用。目前, 红花对 IRI 的研究主要集中在心肌、脑、肺等方面<sup>[1]</sup>, 而在肝 IRI 的研究和应用则报道较少。本实验探讨红花预处理 (SPC) 对于肝脏 IRI 的防治效果, 并与 IPC 相比较, 以为临床应用提供理论基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

1.1.1 药物及试剂 红花注射液 (山西安特生物制药股份有限公司), dUTP 原位缺口末端标记技术 (TUNEL) 细胞凋亡试剂盒 (武汉博士德生物技术公司), dNTP Mixture (10 mL) 及 RevertAid<sup>TM</sup> First Strand Cdna Synthesis Kit 试剂盒 (美国 MBI 公司), Trizol Reagent (美国 Gibco 公司), 焦磷酸二乙酯 (DEPC) (北京鼎国生物技术公司), 6 × Loading Buffer (日本 TaKaRa 公司), 多克隆兔抗鼠抗体 NK- $\kappa$ B (美国 Santa Cruz 公司), Taq DNA 聚合酶 (北京鼎国生物技术公司)。

1.1.2 实验动物与分组 雄性 SD 大鼠 (中南大学湘雅医学院动物实验中心) 24 只, 体重 220 ~ 250 g。动物随机分成 4 组: S, I/R, IPC 组及 SPC 组, 每组 6 只。

### 1.2 实验方法

1.2.1 实验动物模型制备 大鼠实验前禁食 12 h, 自由饮水。乙醚吸入麻醉后, 取腹部正中切

口。S 组仅解剖肝十二指肠韧带; 余 3 组解剖肝门后用无损伤血管夹阻断肝左叶及肝中叶门静脉和肝动脉血流 60 min, I/R 和 SPC 组在阻断血流前 30 min 经肠系膜静脉分别注射生理盐水或红花注射液 2 mL/kg, IPC 组在阻断血流前 30 min 先阻断 5 min。再灌注 24 h 后, 收集标本。

1.2.2 标本的收集 麻醉开腹后立即从下腔静脉采 3 mL 血送检血清谷丙转氨酶 (ALT), 谷草转氨酶 (AST) 测定。同时切取肝左叶, 用 10% 甲醛溶液固定, 石蜡包埋后备病理组织学及 TUNEL 法测定细胞凋亡。取左叶肝组织保存于 -80 °C 超低温冰箱内备用, 通过逆转录多聚酶链式反应 (RT-PCR) 检测 TNF- $\alpha$  mRNA、细胞黏附因子-1 (ICAM-1) mRNA 及巨噬细胞炎性蛋白-2 (MIP-2) mRNA 的表达。同时切取肝脏中叶, 置入液氮保存, 备行蛋白免疫印迹 (Western blotting) 检测。

### 1.2.3 实验室指标测定与方法

1.2.3.1 ALT 和 AST 的测定 用全自动生化分析仪 (日立 7170 型) 检测。

### 1.2.3.2 病理切片制作及肝 IRI 病理诊断标准

取肝左叶小块组织, 于 10% 福尔马林溶液中固定 24 h, 逐级乙醇脱水, 二甲苯浸泡, 浸蜡、石蜡包埋、切片、附贴, HE 染色。肝 IRI 病理损伤的严重程度用 Suzuki 标准<sup>[2-3]</sup> 评定 (表 1), 由 2 位有经验的病理学医生采用双盲法对每个标本进行评分。

表 1 肝脏 IRI 损伤的 Suzuki's 病理学评分标准

评分	瘀血 (%)	空泡样变 (%)	坏死 (%)
0	无	无	无
1	极轻微 (10)	极轻微 (10)	单个细胞坏死
2	轻度 (11 ~ 30)	轻度 (11 ~ 30)	轻度 (< 30)
3	中度 (31 ~ 60)	中度 (31 ~ 60)	中度 (31 ~ 60)
4	重度 (> 60)	重度 (> 60)	重度 (> 60)

1.2.3.3 TUNEL 法检测肝细胞凋亡 操作 TUNEL 试剂盒按说明书进行。用不含末端脱氧核糖核酸转移酶的反应磷酸盐缓冲液 (PBS) 作阴性对照,用 DNA 酶 I 处理的组织切片作阳性对照。光学显微镜下观察细胞核呈棕黄色着色者为凋亡细胞。每例切片随机计数 10 个 400 倍视野,平均每 100 个细胞中凋亡细胞数为细胞凋亡指数 (AI)<sup>[4]</sup>。

1.2.3.4 RT-PCR 检测 Trizol 法提取肝组织的总 RNA,采用 RevertAidTM First Strand Cdna Synthesis 试剂盒逆转录合成 cDNA,PCR 扩增,目的基因吸光度值与  $\beta$ -actin 吸光度值的比值为目的基因 TNF- $\alpha$  mRNA, CAM-1 mRNA 及 MIP-2 mRNA 的相对表达水平。用 Syngene 凝胶成像系统测定各产物的光密度,得出相对值。TNF- $\alpha$ , ICAM-1, MIP-

2 及  $\beta$ -actin 引物序列及反应条件见表 2。

1.2.3.5 Western blotting 测定 NF- $\kappa$ B 蛋白 取湿重约 0.3 ~ 0.5 g 肝脏组织,置于冰浴的匀浆器中匀浆;即时加入 PMSF 和 cocktail 储存液各 10  $\mu$ L/mL,混匀;匀浆中加细胞裂解液 0.5 mL,摇动冰浴 3 min 加入 Eppendorf 管中。抗体稀释液稀释 NF- $\kappa$ B 工作浓度为 2  $\mu$ g/mL,加入一抗体反应,室温摇床轻摇 1 h;再加入相应的二抗(工作浓度为 4  $\mu$ g/mL),室温摇床轻摇 1 h;加入 ECL 液反应 5 min,暗室曝光,显影定影。

### 1.3 统计学处理

应用 SPSS 15.0 统计软件进行统计分析。所有数据均以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示。组间差异应用单因素方差分析及 LSD-t 检验,  $P < 0.05$  为差异有显著性。

表 2 TNF- $\alpha$ , ICAM-1, MIP-2 及  $\beta$ -actin 引物序列及反应条件

mRNA	PCR 产物(bp)	上、下游引物	PCR 反应条件
TNF- $\alpha$	555	正向 5'-TATGGCTCAGGGTCCAACCTC-3'	94 $^{\circ}$ C 5 min, 94 $^{\circ}$ C 45 s, 58 $^{\circ}$ C 30 s,
		反向 5'-TGGTCACCAAATCAGCGTTA-3'	72 $^{\circ}$ C 60 s, 30cycles; 72 $^{\circ}$ C 10 min
ICAM-1	485	正向 5'-CTCTGCTCCTGCTCCTGGT-3'	94 $^{\circ}$ C 5 min, 94 $^{\circ}$ C 45 s, 62 $^{\circ}$ C 30 s,
		反向 5'-CGTGAATGTGATCTCCTTGG-3'	72 $^{\circ}$ C 60 s, 32cycles; 72 $^{\circ}$ C 10 min
MIP-2	644	正向 5'-CCTCAACGGAAGAACCAAAAG-3'	94 $^{\circ}$ C 5 min, 94 $^{\circ}$ C 45 s, 60 $^{\circ}$ C 30 s,
		反向 5'-CAAGACACGAAAAGGCATGA-3'	72 $^{\circ}$ C 60 s, 30cycles; 72 $^{\circ}$ C 10 min
$\beta$ -actin	253	正向 5'-CTCTTCCAGCCTTCCTTCTCT-3'	94 $^{\circ}$ C 5 min, 94 $^{\circ}$ C 45 s, 62 $^{\circ}$ C 30 s,
		反向 5'-TAGAGCCACCAATCCACACA-3'	72 $^{\circ}$ C 60 s, 28cycles; 72 $^{\circ}$ C 10 min

## 2 结果

### 2.1 血清 ALT 及 AST 水平

I/R, IPC 及 SPC 组血清 ALT, AST 在再灌注后 24 h 较 S 组明显升高 ( $P < 0.05$ ); IPC, SPC 组血清 ALT, AST 较 I/R 组明显降低, 差异均有显著性 ( $P < 0.05$ ); IPC 与 SPC 组间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

表 3 大鼠肝脏移植再灌注 24 h 血清 ALT 和 AST 水平 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	ALT(U/L)	AST(U/L)
S	6	49.68 $\pm$ 7.14	107.34 $\pm$ 10.15
I/R	6	1238.97 $\pm$ 163.65 <sup>1)</sup>	2321.87 $\pm$ 312.83 <sup>1)</sup>
IPC	6	754.70 $\pm$ 92.12 <sup>1),2)</sup>	1258.22 $\pm$ 170.68 <sup>1),2)</sup>
SPC	6	769.52 $\pm$ 103.80 <sup>1),2)</sup>	1308.20 $\pm$ 183.87 <sup>1),2)</sup>

注:1)与 S 组比较,  $P < 0.05$ ; 2)与 I/R 组比较,  $P < 0.05$

### 2.2 病理组织学改变及 AI

I/R 组的病理学评分总分及其中的瘀血、坏死评分较 IPC 及 SPC 组评分升高, 差异有显著性 ( $P < 0.05$ ); 空泡样变性 3 组无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。IPC 和 SPC 组的 AI 较 I/R 组明显降低, 差异均有显著性 ( $P < 0.05$ ); IPC 组与 SPC 组病理学改变及 AI 无显著性差异 ( $P > 0.05$ ) (表 4) (图 1)。

### 2.3 各组大鼠肝组织中 TNF- $\alpha$ , ICAM-1, MIP-2 mRNA 及 NF- $\kappa$ B 蛋白的表达

I/R, IPC 及 SPC 组血清 TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , MIP-2 mRNA 及 NF- $\kappa$ B 蛋白均较 S 组明显升高 ( $P < 0.05$ ); 与 I/R 组比较, IPC 及 SPC 组 TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , MIP-2 mRNA 及 NF- $\kappa$ B 蛋白显著降低, 差异均有显著性 ( $P < 0.05$ ); IPC 与 SPC 组比较无统计学意义 ( $P > 0.05$ ) (表 5) (图 2-5)。

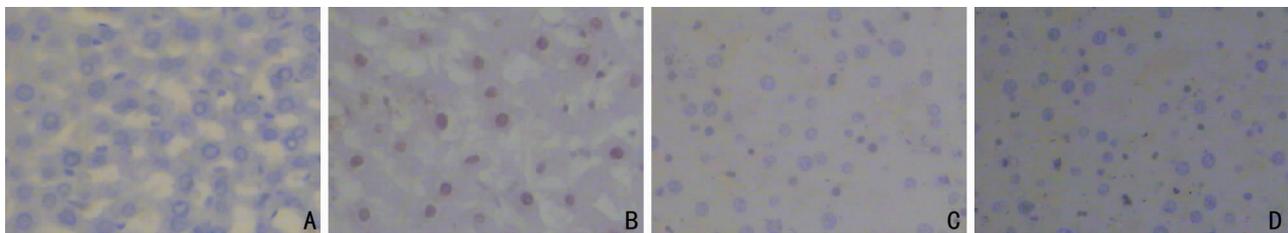


图1 手术后24 h肝细胞凋亡(苏木素染色×400) A:S组; B:I/R组; C:IPC组; D:SPC组

表4 再灌注24 h的 Suzuki's 评分及 AI( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	瘀血	空泡样变	坏死	总分	AI
I/R	6	2.50 ± 0.55	2.33 ± 0.52	2.67 ± 0.52	7.50 ± 0.55	32.05 ± 5.36
IPC	6	1.43 ± 0.75 <sup>1)</sup>	2.07 ± 0.52	1.07 ± 0.52 <sup>1)</sup>	4.57 ± 1.17 <sup>1)</sup>	15.34 ± 2.67 <sup>1)</sup>
SPC	6	1.50 ± 0.55 <sup>1)</sup>	2.17 ± 0.41	0.83 ± 0.41 <sup>1)</sup>	4.33 ± 1.03 <sup>1)</sup>	14.87 ± 2.30 <sup>1)</sup>

注:1)与I/R组比较,  $P < 0.05$

表5 再灌注24 h后移植肝 TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、MIP-2 mRNA 以及 NF- $\kappa$ B 蛋白的表达值( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	TNF- $\alpha$ mRNA	ICAM-1 mRNA	MIP-2 mRNA	NF- $\kappa$ B
S	6	0.305 ± 0.029	0.209 ± 0.018	0.230 ± 0.038	0.082 ± 0.007
I/R	6	2.602 ± 0.270 <sup>1)</sup>	1.910 ± 0.200 <sup>1)</sup>	1.019 ± 0.083 <sup>1)</sup>	0.409 ± 0.036 <sup>1)</sup>
IPC	6	1.503 ± 0.192 <sup>1),2)</sup>	0.873 ± 0.105 <sup>1),2)</sup>	0.703 ± 0.086 <sup>1),2)</sup>	0.210 ± 0.023 <sup>1),2)</sup>
SPC	6	1.477 ± 0.210 <sup>1),2)</sup>	0.914 ± 0.066 <sup>1),2)</sup>	0.694 ± 0.057 <sup>1),2)</sup>	0.197 ± 0.017 <sup>1),2)</sup>

注:1)与S组比较,  $P < 0.05$ ; 2)与I/R组比较,  $P < 0.05$

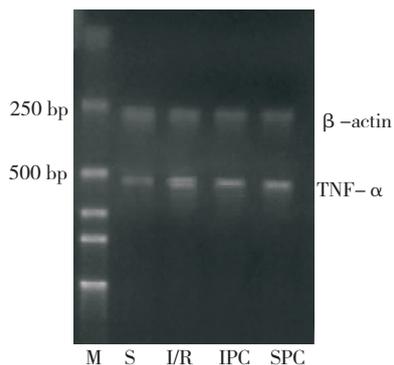


图2 各组肝组织 TNF- $\alpha$  mRNA 的表达

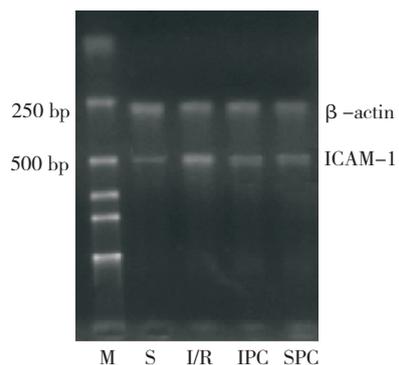


图3 各组肝组织 ICAM-1 mRNA 的表达

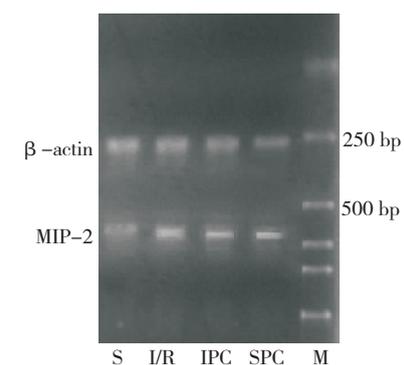


图4 各组肝组织 MIP-2 mRNA 的表达

### 3 讨论

肝脏的 IRI 分为两个阶段:急性期和亚急性期。急性期发生在再灌注后 3 ~ 6 h, 这一阶段枯否(Kupffer)细胞被激活释放活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)和前炎性细胞因子(包括 TNF- $\alpha$ )<sup>[5-6]</sup>。虽然这些产物可以直接损伤肝实质细胞,但对肝脏功能的影响有限。亚急性期以大量中性粒细胞聚集为主要特征,发生在再灌注后 18 ~ 24 h。急性期的产物 TNF- $\alpha$  上调黏附分

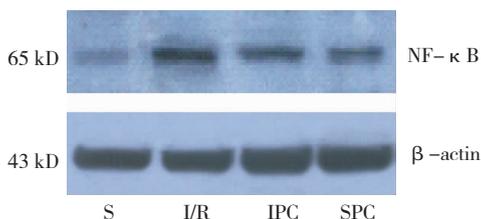


图5 各组肝组织 NF- $\kappa$ B 的表达

子以及 CXC 型趋化因子的表达<sup>[7-8]</sup>, 后两者协同作用可以导致大量中性粒细胞聚集于肝脏。聚集的中性粒细胞通过释放蛋白酶及大量活性氧介质损伤肝实质细胞及内皮细胞, 同时还堵塞毛细血管而导致肝脏的灌注不足, 致使肝组织损伤及功能障碍<sup>[9-10]</sup>。本实验结果显示, 与 I/R 组相比, IPC, SPC 组细胞因子 TNF- $\alpha$ , CXC 型趋化因子 MIP-2 以及黏附分子 ICAM-1 mRNA 的水平均有显著下降, 从而减轻急性期和亚急性期肝脏的 IRI, SPC 与 IPC 有相似作用机制。

NF- $\kappa$ B 是前炎性因子(如 TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , chemokines 和 ICAM-1)基因的诱导性核转录因子, 而前炎性因子在调节炎症和免疫系统中起重要作用; 抑制 NF- $\kappa$ B, 可以导致前炎性因子转录下降<sup>[11-13]</sup>。IPC 已被证明对肝脏 IRI 有保护作用<sup>[14-15]</sup>。最近研究表明, IPC 系通过抑制 NF- $\kappa$ B 的激活以及抑制 TNF- $\alpha$  的产生而起保护作用<sup>[16-17]</sup>, 本实验结果与之相符。本实验中, 红花注射液也抑制 NF- $\kappa$ B 的激活, 笔者认为, 红花注射液可以减轻肝脏的 IRI, 至少部分是通过抑制 NF- $\kappa$ B, 从而下调前炎性因子 TNF- $\alpha$ , MIP-2 和 ICAM-1 mRNA 的表达这一途径实现的, SPC 的作用机制与 IPC 相似。而药物预处理<sup>[18]</sup>具有相对安全、方便及易于控制等优点。特别是中药预处理因操作简单、作用环节多、效果好, 具有非常广阔的应用前景。因此, 笔者认为, SPC 比 IPC 可能更适合于临床应用。

#### 参考文献:

[1] 齐欣, 车向前, 王超, 等. 中药预处理对肝脏缺血再灌注损伤保护作用的研究进展[J]. 中国普通外科杂志, 2008, 17(1): 86-90.

[2] Jaeschke H, Farhood A. Neutrophil and Kupffer cell-induced oxidant stress and ischemia-reperfusion injury in rat liver [J]. *Am J Physiol*, 1991, 260(3 Pt 1): G355-G362.

[3] Suzuki S, Toledo-Pereyra LH, Rodriguez FJ, et al. Neutrophil infiltration as an important factor in liver ischemia and reperfusion injury. Modulating effects of FK506 and cyclosporine [J]. *Transplantation*, 1993, 55(6): 1265-1272.

[4] López-Neblina F, Toledo-Pereyra LH. Anti-ischemic effect of selectin blocker through modulation of tumor necrosis factor- $\alpha$  and interleukin-10 [J]. *J Surg Res*, 2007, 138

(2): 275-283.

[5] Matsuno T, Sasaki H, Nakagawa K, et al. Fas antigen expression and apoptosis in kidney allografts [J]. *Transplant Proc*, 1997, 29(1-2): 177-178.

[6] Jaeschke H, Bautista AP, Spolarics Z, et al. Superoxide generation by Kupffer cells and priming of neutrophils during reperfusion after hepatic ischemia [J]. *Free Rad Res Commun*, 1991, 15(5): 277-284.

[7] Colletti LM, Cortis A, Lukacs N, et al. Tumor necrosis factor up-regulates intercellular adhesion molecule 1, which is important in the neutrophil-dependent lung and liver injury associated with hepatic ischemia and reperfusion in the rat [J]. *Shock*, 1998, 10(3): 182-191.

[8] Colletti LM, Kunkel SL, Walz A, et al. Chemokine expression during hepatic ischemia/reperfusion-induced lung injury in the rat. The role of epithelial neutrophil activating protein [J]. *J Clin Invest*, 1995, 95(1): 134-141.

[9] Jaeschke H, Smith CW. Mechanisms of neutrophil-induced parenchymal cell injury [J]. *J Leukoc Biol*, 1997, 61(6): 647-653.

[10] Vollmar B, Richter S, Menger MD. Leukocyte stasis in hepatic sinusoids [J]. *Am J Physiol*, 1996, 270(5 Pt 1): G798-G803.

[11] Gong JP, Liu CA, Wu CX, et al. Nuclear factor  $\kappa$ B activity in patients with acute severe cholangitis [J]. *World J Gastroenterol*, 2002, 8(2): 346-349.

[12] Ouaz F, Arron J, Zheng Y, et al. Dendritic cell development and survival require distinct NF- $\kappa$ B subunits [J]. *Immunity*, 2002, 16(3): 257-270.

[13] Xu MQ, Wang W, Xue L, et al. NF- $\kappa$ B activation and zinc finger protein A20 expression in mature dendritic cells derived from liver allografts undergoing acute rejection [J]. *World J Gastroenterol*, 2003, 9(6): 1296-1301.

[14] Sindram D, Rudiger HA, Upadhyya AG, et al. Ischemic preconditioning protects against cold ischemic injury through an oxidative stress dependent mechanism [J]. *J Hepatol*, 2002, 36(1): 78-84.

[15] Serafin A, Rosello-Catafau J, Prats N, et al. Ischemic preconditioning increases the tolerance of fatty liver to hepatic ischemia-reperfusion injury in the rat [J]. *Am J Pathol*, 2002, 161(2): 587-601.

[16] Funaki H, Shimizu K, Harada S, et al. Essential role for nuclear factor  $\kappa$ B in ischemic preconditioning for ischemia-reperfusion injury of the mouse liver [J]. *Transplantation*, 2002, 74(4): 551-556.

[17] Ricciardi R, Shah SA, Wheeler SM, et al. Regulation of NF- $\kappa$ B in hepatic ischemic preconditioning [J]. *J Am Coll Surg*, 2002, 195(3): 319-326.

[18] Jaeschke H. Molecular mechanisms of the hepatic ischemia-reperfusion injury and preconditioning [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2003, 284(1): 15-19.