

Melatonin对大鼠肝再灌注损伤的保护作用

李建一, 张文海, 周 勇, 杨 军, 秦毅民

李建一, 中国医科大学附属第二医院普外四科 辽宁省沈阳市 110003
张文海, 周勇, 中国医科大学附属第二医院(二部)普外科 辽宁省沈阳市 110022
杨军, 中国医科大学附属第一医院肿瘤科 辽宁省沈阳市 110001
秦毅民, 沈阳市第十人民医院普外科 辽宁省沈阳市 110044
李建一, 男, 1976-07-27 生, 辽宁省沈阳市人, 汉族, 2003 年中国医科大学硕士, 医师, 主要从事器官移植中 I/R 的发生机制及与其相关的影响因素的研究。辽宁省自然科学基金资助项目, No. 619025
项目负责人: 张文海, 110022, 辽宁省沈阳市铁西区滑翔路 39 号, 中国医科大学附属第二医院(二部)普外科. surgeonzh@163.com
电话: 024-25943022 传真: 024-83955072
收稿日期: 2003-11-18 接受日期: 2004-02-01

Protective effect of melatonin on liver ischemia reperfusion injury in rats

Jian-Yi Li, Wen-Hai Zhang, Yong Zhou, Jun Yang, Yi-Min Qin

Jian-Yi Li, Fourth Department of General Surgery, The Second Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110003, Liaoning Province, China
Wen-Hai Zhang, Yong Zhou, Department of General Surgery, The Second Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110022, Liaoning Province, China
Jun Yang, Department of Oncology, The First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China
Yi-Min Qin, Department of General Surgery, The Tenth Municipal People Hospital of Shenyang, Shenyang 110044, Liaoning Province, China
Supported by the National Science Foundation of Liaoning Province, No. 619025
Correspondence to: Dr. Wen-Hai Zhang, Department of General Surgery, Second Affiliated Hospital, China Medical University, 39 Huaxiang Road, Shenyang 110022, Liaoning Province, China. surgeonzh@163.net
Received: 2003-11-18 Accepted: 2004-02-01

Abstract

AIM: To investigate the effect of melatonin (Mel) on liver ischemia reperfusion (I/R) injury in rats.

METHODS: 150 male Wistar rats (190-210 g, 6-7 weeks age) were divided into three groups at random: Mel exposure group, alcohol solvent control group and saline control group. The left branches of portal vein, hepatic artery, hepatic duct were blocked up for 60 min and then opened to establish liver I/R models in rats. In each group, samples were collected in 0.5, 1, 6, 12, and 24 h after reperfusion respectively. 20 mg/kg of Mel was injected peritoneally in rats 30 min before experimentation in Mel exposure group. The duplicate concentration of alcohol and the same volume of saline were injected in control group as a substitution. Serum alanine aminotransferase (ALT) by auto biochemical analyzer, and superoxide dismutase (SOD) and terminal productions of lipid peroxidation (MDA) in liver tissue were measured. Pathological changes in liver and immunohistochemical staining of ICAM-1 were determined with optical microscope.

RESULTS: The level of ALT measured in various time after reperfusion in Mel group was totally significantly lower than

that in alcohol and saline control groups ($P < 0.05$). The level of MDA measured in 6 h, 12 h, and 24 h after reperfusion in Mel group was significantly lower than that in alcohol and saline control groups ($P < 0.05$). The level of SOD measured in 12, 24 h after reperfusion in Mel group was significantly higher than that in alcohol and saline control groups ($P < 0.05$). The expression level of ICAM-1 (%) measured in various time after reperfusion in Mel group was significantly lower than that in alcohol and saline control groups ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Exotic Mel inhibits the activities of ALT, increases activities of superoxide dismutase (SOD), and decreases the cumulation of MDA in liver reperfusion tissue and expression of ICAM-1 in liver reperfusion tissue. Therefore, it can improve the hepatic function after reperfusion and plays a definitely protective role in liver I/R.

Li JY, Zhang WH, Zhou Y, Yang J, Qin YM. Protective effect of melatonin on liver ischemia reperfusion injury in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2004;12(4):880-885

摘要

目的: 探讨褪黑素对大鼠肝再灌注损伤的影响作用及其机制。

方法: 150 只健康♂ Wistar 大鼠(质量 190-210 g, 6-7 周龄), 随机分为褪黑素处理组(Mel)、酒精溶媒对照组(Alc)和生理盐水对照组(NS)。建立肝缺血再灌注损伤模型, 缺血均为 60 min, 之后每组分别按再灌注后 30 min、1、6、12、24 h 采集标本。M 组(20 mg/kg)于缺血前 30 min 腹腔注射 melatonin; A 组采取与 Mel 组相同浓度的酒精液, N 组则注射同比例的生理盐水。测定血清丙氨酸氨基转移酶(ALT), 肝组织中超氧化物歧化酶(SOD)及肝组织过氧化的终产物 - 丙二醛(MDA), 对肝组织进行 HE 染色及 ICAM-1 免疫组化染色。

结果: Mel 组在再灌注后各时点的 ALT 均显著低于 Alc 及 NS 对照组($^aP < 0.05$), 且 Alc 组与 NS 组相比无显著性差异。Mel 组在再灌注后 6、12、24 h 时点的 MDA 显著低于 Alc 及 NS 对照组($^aP < 0.05$), 且各时点内 Alc 组与 NS 组相比无显著性差异。Mel 组在再灌注后 12、24 h 时点的 SOD 显著高于 Alc 及 NS 对照组($^cP < 0.05$), 且各时点内 Alc 组与 NS 组相比无显著性差异。Mel 组在再灌注后各时点 ICAM-1 染色的阳性细胞率均显著低于 Alc 组和 NS 组($^aP < 0.05$), 且每时点内的 Alc 组与 NS 组相比无显著性差异。

结论: 外源性 Mel 可以抑制再灌注后血清丙氨酸氨基转移酶(ALT), 增加肝组织超氧化物歧化酶(SOD)、的活性, 减

少肝组织MDA的浓度, 抑制肝组织ICAM-1蛋白的表达, 对缺血再灌注肝损伤有明显的保护作用。

李建一, 张文海, 周勇, 杨军, 秦毅民. Melatonin 对大鼠肝再灌注损伤的保护作用. 世界华人消化杂志 2004;12(4):880-885

http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/880.asp

0 引言

肝移植目前已成为治疗终末期肝病的有效方法, 但是仍然存在着术后原发无功能肝、排斥反应等亟待解决的并发症。肝的再灌注损伤能够导致移植术后原发无功能肝(primary non-function liver)的发生, 是导致肝移植失败的主要原因^[1]。再灌注损伤的发病机制至今尚未被完全阐明^[2], 与如下因素有关: 一氧化氮与内皮素^[3-4]、细胞因子(包括IL, TNF, IFN等)^[5]、Kupffer细胞的激活^[6-7]、黏附分子的表达与中性粒细胞的浸润^[8]、线粒体能量变化及通透性的改变^[9]、核转录因子的表达、热休克蛋白的表达^[10]、凋亡相关蛋白的表达及凋亡的发生等^[11]。褪黑素(melatonin, Mel)由于其在生殖系统、脂肪代谢和毛发替换、调节睡眠、免疫系统、心血管系统及抗氧化损伤及抗衰老方面的作用日益受到人们的重视而成为研究的热点^[12]。在肝脏方面的研究则主要限于中毒及免疫性肝损伤^[13], 我们以大鼠为研究对象, 建立肝再灌注损伤模型, 按时点采集标本, 对血清丙氨酸氨基转移酶(ALT), 肝组织脂质过氧化物的终产物-丙二醛(MDA)及肝组织超氧化物歧化酶(SOD)进行测定; 对肝组织进行HE染色及ICAM-1免疫组化染色, 光镜下观察肝组织细胞形态学改变, 探讨Mel对大鼠肝再灌注损伤的影响作用及其机制, 为Mel在临床肝脏外科的应用提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料 健康♂ Wistar大鼠(质量190-210 g, 6-7周龄)150只, 随机分为3组, 即褪黑素处理组(Mel)、酒精溶媒对照组(Alc)、生理盐水对照组(NS)。分别建立肝再灌注损伤模型, 缺血时间均为60 min, 之后每组分别按再灌注后30 min、1、6、12、24 h采集标本。在缺血手术前将以上3组大鼠分别饲养在12 h光照, 12 h黑暗的条件下(07:30-19:30为光明, 其余为黑暗)至少1 wk, 自由摄食饮水。动物模型制备参照Kobayashi法, 采取以动脉夹夹闭肝门静脉左支、肝动脉左支、左肝管60 min之后放开, 建立大鼠肝左叶、中叶再灌注损伤模型^[14]。

表2 缺血再灌注大鼠肝MDA(mean±SD)

分组		30 min	1 h	6 h	12 h	24 h
MDA(nmol/g)	Melatonin	436 ± 139	496 ± 67	556 ± 99 ^a	693 ± 158 ^a	1001 ± 318 ^a
	Alcohol	396 ± 85	548 ± 112	742 ± 102	1 001 ± 186	1815 ± 458
	N.S.	445 ± 93	559 ± 117	724 ± 144	974 ± 115	1844 ± 668
SOD (kNU/g)	Melatonin	125 ± 40	153 ± 55	164 ± 61	244 ± 63 ^c	234 ± 51 ^c
	Alcohol	103 ± 6	121 ± 23	130 ± 31	181 ± 53	151 ± 48
	N.S.	99 ± 24	132 ± 24	135 ± 20	167 ± 33	142 ± 26

^a $P < 0.05$, vs Alcohol, NS组; ^c $P < 0.05$, vs Alcohol, NS组。

褪黑素(Melatonin) 1 g购自美国Sigma公司, 经400 mL/L酒精生理盐水溶解后低温保存, 每次用时稀释10倍, 按20 mg/kg计算给药量后, Mel组于缺血前30 min腹腔注射; Alc组采取与Mel组相同浓度的酒精液; NS组则注射同比例的生理盐水。麻醉采取用硫喷妥钠(40 mg/kg)缺血手术前45 min(即腹腔给药前15 min)大鼠股二头肌肌肉注射。40 g/L多聚甲醛0.1 mol/L磷酸缓冲液(PH=7.3); SOD、MDA试剂盒均购自南京建成生物工程研究所; 生化相关试剂购自德国宝灵曼公司; ICAM-1试剂盒购自英国Serotech公司。OLYMPUS-BX60光学显微镜及照像系统; HITACHI-7600A全自动生化分析仪。

1.2 方法 经膈肌心脏穿刺取血; 取左叶边缘肝组织200-210 g行SOD及MDA测定; 取中叶中央部肝组织2 cm×1 cm×0.3 cm行ICAM-1免疫组化染色。利用自动生化分析仪测定ALT, TBA法测定MDA, NBT还原法测定SOD, SP法对肝细胞进行ICAM-1染色。免疫组化结果在400倍光镜下观察, 胞质内出现棕黄色细颗粒者为阳性细胞(包括肝血窦内皮细胞和肝细胞)。计数每个高倍视野中100个细胞中ICAM-1阳性细胞个数, 每张切片计数5个视野, 求出均值用mean±SD表示, 得出阳性细胞百分率。所有数据均用专业软件SPSS 11.0进行统计, 采用方差分析及SNK检验^[11]。

2 结果

2.1 血清ALT Mel组在再灌注后各时点的ALT均显著低于Alc组及NS组(^a $P < 0.05$), 且Alc组与NS组相比无显著性差异(表1)。

表1 缺血再灌注大鼠血清ALT(mean±SD, μ kat/L)

分组	30 min	1 h	6 h	12 h	24 h
Melatonin	3.4 ± 1.2 ^a	3.1 ± 1.0 ^a	3.1 ± 1.0 ^a	3.2 ± 1.1 ^a	4.5 ± 1.8 ^a
Alcohol	6.7 ± 2.3	6.2 ± 2.7	6.0 ± 2.5	5.6 ± 2.1	5.5 ± 2.3
N.S.	6.6 ± 2.2	6.4 ± 2.4	6.0 ± 1.7	5.4 ± 1.9	5.2 ± 1.2

^a $P < 0.05$, vs Alcohol, NS组。

2.2 肝组织MDA和SOD Mel组在再灌注后6、12、24 h时点的MDA显著低于Alc及NS对照组(^m $P < 0.05$), 且各时点内Alc组与NS组相比无显著性差异; Mel组在再灌注后12、24 h时点的SOD显著高于Alc及NS对照组(^c $P < 0.05$), 且各时点内Alc组与NS组相比无显著性差异(表2)。

2.3 肝组织 ICAM-1 染色 Mel 组再灌注后各时点的阳性细胞率均显著低于 Alc 组和 NS 组(^a $P < 0.05$), 且每时点内的 Alcohol 组与 N.S. 组相比无显著性差异. 阳性细胞多为肝血窦内皮细胞, 或为靠近中央静脉的肝细胞(图 1-6). 两组对照组的阳性细胞率的变化有明显的规律性, 早在 30 min 及 1 h 时与 Mel 组相比就有较高的表达, 且在再灌注后 6-24 h 呈平台值(表 3).

表 3 缺血再灌注肝组织 ICAM-1 染色 (mean $\pm$ SD, %)

分组	30 min	1 h	6 h	12 h	24 h
Melatonin	4.1 $\pm$ 2.4 ^a	7.8 $\pm$ 2.4 ^a	12.6 $\pm$ 4.2 ^a	16.3 $\pm$ 3.0 ^a	14.8 $\pm$ 4.0 ^a
Alcohol	15.9 $\pm$ 3.2	22.7 $\pm$ 3.7	40.1 $\pm$ 4.4	39.2 $\pm$ 6.0	39.0 $\pm$ 5.2
N.S.	17.9 $\pm$ 2.8	23.0 $\pm$ 4.5	42.8 $\pm$ 4.8	42.0 $\pm$ 5.9	40.4 $\pm$ 5.5

^a $P < 0.05$, vs Alcohol, NS 组.

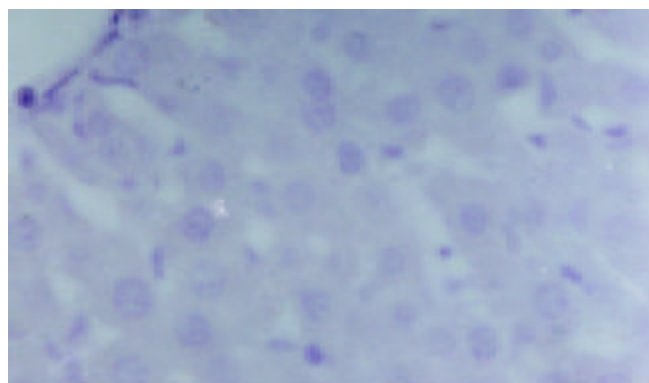


图 1 Melatonin 组再灌注 1 h $\times$ 400.

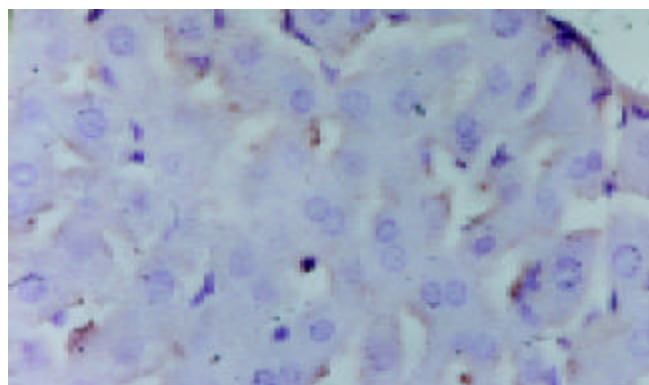


图 2 Alcoho 组再灌注 1 h $\times$ 400.

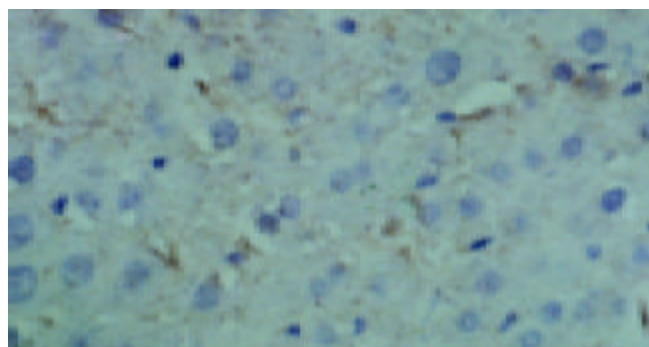


图 3 NS 组再灌注 1 h $\times$ 400.

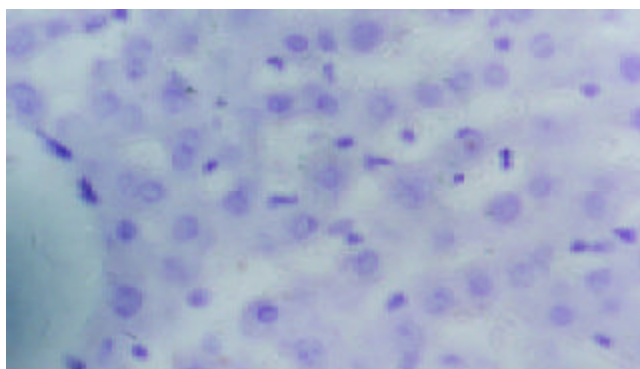


图 4 Melatonin 组 再灌注 6 h $\times$ 400.

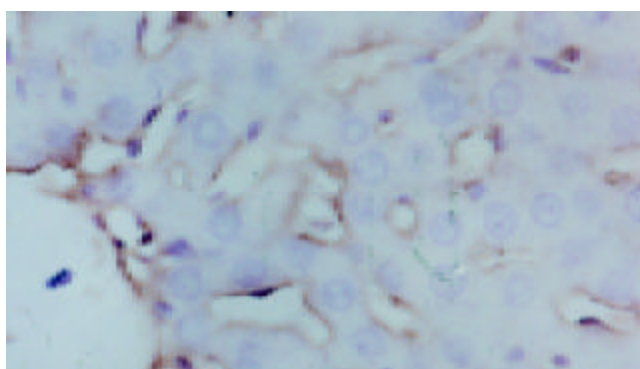


图 5 Alcohol 组再灌注 6 h $\times$ 400.

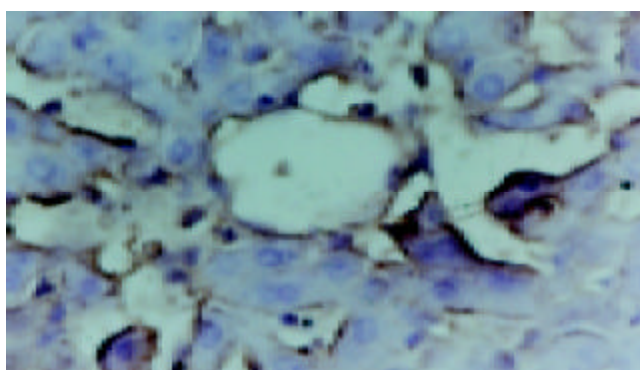


图 6 NS 组再灌注 6 h $\times$ 400.

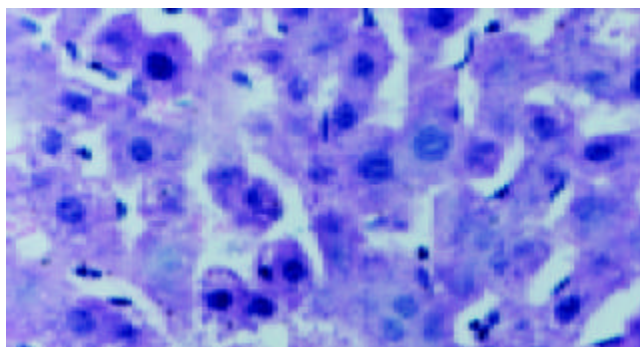


图 7 Melatonin 组再灌注 12 h $\times$ 400.

2.4 肝组织 HE 染色 在再灌注 12 h (图 7-9)及其之后的 24 h (图 10-12)时点的 Mel 处理组的肝细胞变性、坏死的程度与范围, 肝索结构的破坏程度与范围均明显的轻于 Alc 组和 NS 组. 并且对各组别内的各时点作了比

较, 发现随着再灌注的时间的延长, 两个对照组肝细胞变性坏死的程度及肝索破坏的范围也逐渐扩大, 到再灌注 24 h 时达到高峰; 而这一变化在 Mel 组则表现不明显, 从再灌注 12 及 24 h 的病理切片来看, 区别不明显. 提示外源性 Mel 可以减轻 I/R 后肝细胞的变性和坏死的程度及范围.

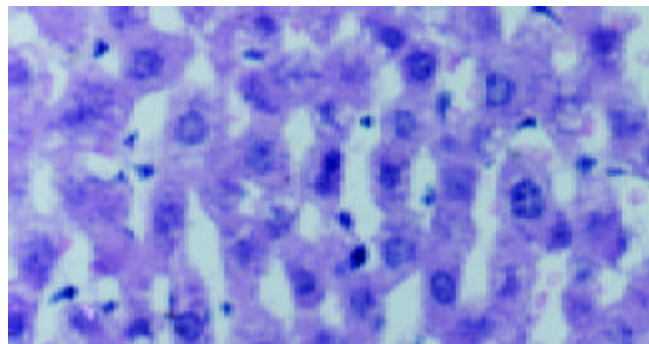


图 8 Alcohol 组再灌注 12 h $\times 400$.

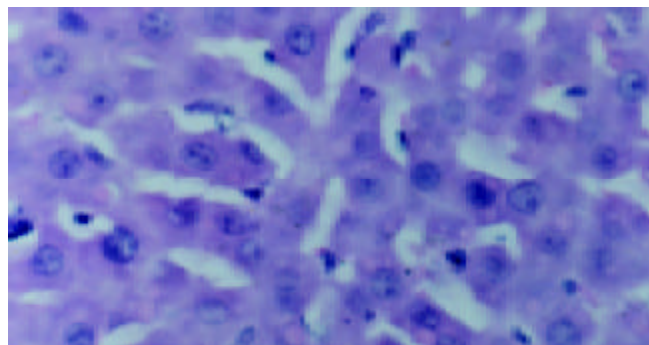


图 9 NS 组再灌注 12 h $\times 400$.

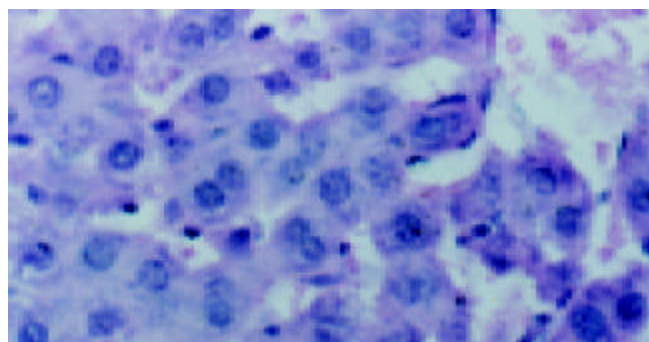


图 10 Melatonin 组再灌注 24 h $\times 400$.

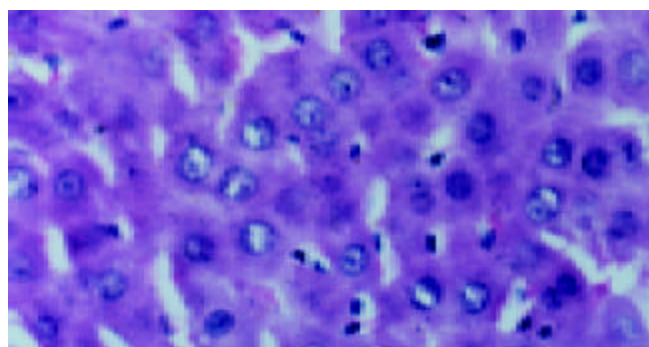


图 11 Alcohol 组再灌注 24 h $\times 400$.

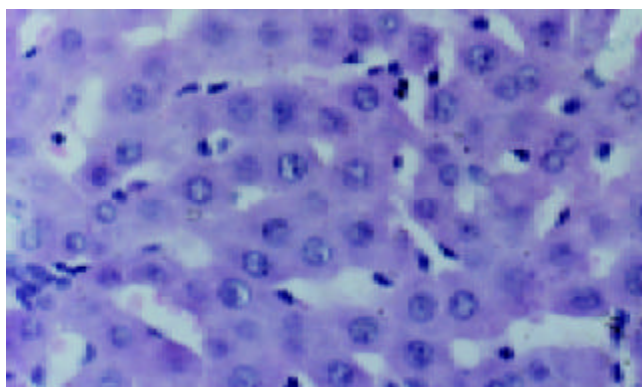


图 12 NS 组再灌注 24 h $\times 400$.

3 讨论

一般认为, I/R 可以造成 ROS 的大量释放^[15-16]; ROS 可以攻击生物膜, 造成后者通透性的改变^[17]; 生物膜通透性的改变诱发 Ca^{2+} 在细胞内及线粒体等浓度升高 (Overload)^[18]; 细胞内 Ca^{2+} Overload 又加速 ROS 的产生, 同时可激活多种磷脂酶, 促进膜磷脂分解, 造成膜磷脂降解产物花生四烯酸、溶血磷脂等增多; 花生四烯酸的代谢产物 (如白三烯) 能吸引大量中性粒细胞黏附于血管内皮并进入组织^[19]; 中性粒细胞与血管内皮细胞黏附后进一步激活, 自身合成释放如 TNF、IL、黏附分子^[20-21] 等多种具有趋化作用的炎性递质^[22-23], 使白细胞浸润进一步加重, 同时对血液流变学、微血管口径及血管通透性的影响最终造成了再灌注后的无复流现象^[24-25]. 另一方面, 早在 1991 年 Ianas *et al* 首次报道了 Mel 的具有抗氧化作用^[26], 之后 2a Tan 的研究说明与 GSH 及甘露醇相比, Mel 能更有效地清除 $\cdot\text{OH}$ ^[27]. 1996 年, Marshall 的研究发现 Mel 清除 $\text{ROO}\cdot$ 的能力是 V_E 的 2 倍^[28], 因此 Mel 是目前为止发现的最有效和最理想的自由基清除剂之一.

血清中 ALT, 是最敏感的肝功检测指标之一^[29]. 表 1 显示各组的 ALT 在再灌注后 30 min 已普遍升高, 而且持续到再灌注后 24 h. 从每个时点内组别情况来看, Mel 组的 ALT 值均显著低于其他两组对照组 ($^aP < 0.05$), 肝功能的损害明显减轻. 实验分别测定肝组织 MDA, SOD 作为评价 ROS 损伤及内源性抗 ROS 的指标^[30-31]. 表 2 第一组数据显示的是再灌注后肝组织 MDA 各组各时点的变化情况, 总体来看, 随着时间的延长, 各组 MDA 在肝组织内逐渐堆积, 呈逐渐增高的趋势, 从再灌注 6 h 开始, 与对照组相比 Mel 组 MDA 增加的速度逐渐放慢, 在 6、12、24 h 时点 MDA 值均显著性的低于对照组 ($^aP < 0.05$), 说明外源性 Mel 可以有效的降低再灌注后肝组织中 MDA 的浓度. 2001 年 Sinha *et al* 通过闭塞大鼠的大脑中动脉来模拟脑 I/R 过程中, 发现 Mel 组的 MDA 的水平显著低于溶媒对照组 ($P < 0.05$)^[32]; 之后 1 a Inci *et al* 在以 Mel 为处理因素用于肺 I/R 的模型研究中同样发现, Mel 组肺组织内的 MDA、MPO 的活性以及支气管肺泡的亚硝酸水平都明显的低于对照组 ($P < 0.05$)^[33]. 表

2的第二组数据显示由于再灌注损伤释放了大量 ROS, 反应性的造成 SOD 随着再灌注时间的延长而保护性的增高, 这种增高在再灌注后 12 h 达到了高峰. 与对照组相比, Mel 组这种保护性的增高更为明显, 且延续的时间更长, 在 12 h 及 24 h 时这种明显的增高差异具有显著性($P < 0.05$). 说明外源性 Mel 可以提高再灌注后肝组织 SOD 的活性. 与此同时以 Mel 为处理因素, 以 MDA、SOD、GSH. px、GSSG、LPO 等为测定的相关指标的再灌注损伤研究分别在胃^[34]、心脏^[35]、小肠^[36-37]等脏器中得到了相类似的结果. 近年来有关 Mel 结构研究提示吡啶环 5 位上的甲氧基和侧链上的 N-乙酰基是 Mel 作为自由基清除剂的必需基团^[38]. Mel 主要通过提供电子来清除自由基, 失去电子后 Mel 本身变成了毒性很低的吡啶阳离子自由基, 而他又能清除超氧阴离子自由基(O_2^-), 最后变成 AMFK 并经肾脏排出^[39]. 另外, Mel 还可以通过增强诸如 SOD、GSH. px 等抗自由基酶系的活性来发挥其清除自由基的作用^[40]. 更有报道证明, 外源性应用 Mel 可以在通过提升 SOD mRNA 的表达, 来发挥其对再灌注损伤的保护作用^[41]. 最近有关 Mel 外周受体的研究显示, Mel 可与除中枢外的多系统多脏器中的受体相结合, 来发挥多种生理作用^[42]. 通过统计肝细胞 ICAM-1 染色的阳性细胞率, 其结果显示 Mel 组再灌注后各时点的阳性细胞率均显著低于对照组($P < 0.05$), 且每时点内的 Alc 组与 NS 组相比无显著性差异. 验证了 I/R 诱发肝细胞 ICAM-1 的强表达, 而外源性 Mel 可以有效的抑制 ICAM-1 的表达. 2000 年 Cuzzocrea *et al* 通过钳夹肠系膜上动脉及腹腔干动脉建立大鼠的内脏器官缺血再灌注模型, 不仅通过测定 MDA、LPO 等指标证实了 Mel 可以通过清除 ROS 及抗氧化的途径来发挥对再灌注损伤的保护作用, 并且通过对回肠组织的免疫组织化学染色发现, 与对照组相比, Mel 组的 ICAM-1 及 P-selectin 的蛋白表达明显减少($P < 0.05$)^[43]; 1 a 以后他们在用 Mel 治疗二硝基苯磺酸所引起的结肠炎时再次证实了 Mel 可以通过抑制 ICAM-1 的表达, 有效地抑制中性粒细胞的浸润而发挥治疗作用^[44].

4 参考文献

- Jassem W, Susan V. The role of mitochondria in ischemia/reperfusion injury. *Transplantation* 2002;73:493-499
- Mathie, Robert T. Hepatic ischemia-reperfusion injury. *A J Surg* 2001;181:160-166
- 陈玺华, 李正中, 鲍民生, 郑绘霞. 一氧化氮在大鼠肝缺血再灌注损伤中的作用. *世界华人消化杂志* 1999;7:295-297
- Gong JP, Tu B. Protective effect of nitric oxide induced by ischemic preconditioning on reperfusion injury of rat liver graft. *World J Gastroenterol* 2004;10:73-76
- Takiguchi M, Totsuka E. Attenuation of microcirculatory disturbance after liver ischemia by newly synthesized inflammatory cytokine suppressor, FR167653. *Hepatogastroenterology* 2003;50:789-793
- Schauer RJ, Gerbes AL. Induction of cellular resistance against Kupffer cell-derived oxidant stress: a novel concept of hepatoprotection by ischemic preconditioning. *Hepatology* 2003;37:286-295
- Zhu XH, Qiu YD. Effect of matrine on Kupffer cell activation in cold ischemia reperfusion injury of rat liver. *World J Gastroenterol* 2002;8:1112-1116
- Benkoel L, Doderio F. Expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) during ischemia-reperfusion in human liver tissue allograft: image analysis by confocal laser scanning microscopy. *Dig Dis Sci* 2003;48:2167-2172
- Zhang WH, Wang JS, Zhou Y, Li JY, Shen H, Shi MK, Ding YT. Gadolinium chloride and salvia miltiorrhiza compound ameliorate reperfusion injury in hepatocellular mitochondria. *World J Gastroenterol* 2003;9:2040-2044
- Boeri D, Dondero F, Storace D, Maiello M, Pasqualini M, Pellicci R. Heat-shock protein 70 favours human liver recovery from ischaemia-reperfusion. *Eur J Clin Invest* 2003;33: 500-504
- Li SQ, Liang LJ, Huang JF, Li Z. Hepatocyte apoptosis induced by hepatic ischemia-reperfusion injury in cirrhotic rats. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2003;2:102-105
- Dubocovich ML, Rivera-Bermudez MA, Gerdin MJ, Masana MI. Molecular pharmacology, regulation and function of mammalian melatonin receptors. *Front Biosci* 2003;8:d1093-1098
- Jahovic N, Cevik H, Sehirli AO, Yegen BC, Sener G. Melatonin prevents methotrexate-induced hepatorenal oxidative injury in rats. *J Pineal Res* 2003;34:282-287
- Arai M, Thurman RG, Lemasters JJ. Ischemic preconditioning of rat livers against cold storage-reperfusion injury: role of nonparenchymal cells and the phenomenon of heterologous preconditioning. *Liver Transpl* 2001;7:292-299
- Bagchi D, Bagchi M. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention. *Toxicology* 2000;148:187-197
- Harrison R. Structure and function of xanthine oxidoreductase: where are we now? *Free Radic Biol Med* 2002;33:774-797
- Meneshian A, Bulkley GB. The physiology of endothelial xanthine oxidase: from urate catabolism to reperfusion injury to inflammatory signal transduction. *Microcirculation* 2002;9: 161-175
- Sakon M, Ariyoshi H, Umeshita K, Monden M. Ischemia-reperfusion injury of the liver with special reference to calcium-dependent mechanisms. *Surg Today* 2002;32:1-12
- Belous A, Knox C, Nicoud IB, Pierce J, Anderson C, Pinson CW, Chari RS. Reversed activity of mitochondrial adenine nucleotide translocator in ischemia-reperfusion. *Transplantation* 2003;75:1717-1723
- Fujii M, Noshima S, Nakayashiki C. Expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) during hypoxia-reoxygenation by sinusoidal endothelial cells (SECs) in an obstructive jaundice model. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2002;9:367-371
- Wu P, Li X, Zhou T, Zhang MJ, Chen JL, Wang WM, Chen N, Dong DC. Role of P-selectin and anti P selectin monoclonal antibody in apoptosis during hepatic/renal ischemia reperfusion injury. *World J Gastroenterol* 2000;6:244-247
- Frijns CJ, Kappelle LJ. Inflammatory cell adhesion molecules in ischemic cerebrovascular disease. *Stroke* 2002;33:2115-2122
- Young CS, Palma JM, Mosher BD. Hepatic ischemia/reperfusion injury in P-selectin and intercellular adhesion molecule-1 double-mutant mice. *Am Surg* 2001;67:737-744
- Lentsch AB, Kato A, Yoshidome H, McMasters KM, Edwards MJ. Inflammatory mechanisms and therapeutic strategies for warm hepatic ischemia/reperfusion injury. *Hepatology* 2000; 32:169-173
- Biasi F, Poli G. Effect of perioperative infusion of antioxidants on neutrophil activation during liver transplantation in humans. *Transplant Proceed* 2002;34:755-758
- Ianas O, Manda D, Campean D, Ionescu M, Soare G. Effects of melatonin and its relation to the hypothalamic-hypophyseal-gonadal axis. *Adv Exp Med Biol* 1999;460:321-328
- Reiter RJ, Tan DX, Mayo JC, Sainz RM, Leon J, Czarnocki Z. Melatonin as an antioxidant: biochemical mechanisms and pathophysiological implications in humans. *Acta Biochim Pol* 2003;50:1129-1146

- 28 Gitto E, Romeo C, Reiter RJ. Melatonin reduces oxidative stress in surgical neonates. *J Pediatr Surg* 2004;39:184-189
- 29 Lhuillier F, Parmantier P, Goudable J. Hepatic ischemia is associated with an increase in liver parenchyma nitric oxide that is in part enzyme-independent. *Anesthesiology* 2003;98:373-378
- 30 Klein MB, Chan PH, Chang J. Protective effects of superoxide dismutase against ischemia-reperfusion injury: development and application of a transgenic animal model. *Plast Reconstr Surg* 2003;111:251-255
- 31 Michael D. Wheeler, Michelle Katuna, Comparison of the effect of adenoviral delivery of three superoxide dismutase gene against hepatic ischemia-reperfusion injury. *Human Gene Therapy* 2001;12:2167-2177
- 32 Sinha K, Degaonkar MN. Effect of melatonin on ischemia reperfusion injury induced by middle cerebral artery occlusion in rats. *Eur J Pharmacol* 2001;428:185-192
- 33 Inci I, Inci D, Dutly A. Melatonin attenuates posttransplant lung ischemia-reperfusion injury. *Ann Thorac Surg* 2002;73:220-225
- 34 Cabeza J, Motilva V. Mechanisms involved in gastric protection of melatonin against oxidant stress by ischemia-reperfusion in rats. *Life Sciences* 2001;68:1405-1415
- 35 Kaneko S, Okumura K, Numaguchi Y, Matsui H, Murase K, Mokuno S. Melatonin scavenges hydroxyl radical and protects isolated rat hearts from ischemic reperfusion injury. *Life Sci* 2000;67:101-112
- 36 Ustundag B, Kazez A, Demirbag M, Canatan H, Halifeoglu I, Ozercan IH. Protective effect of melatonin on antioxidative system in experimental ischemia-reperfusion of rat small intestine. *Cell Physiol Biochem* 2000;10:229-236
- 37 Kazez A, Demirbag M, Ustundag B, Ozercan IH, Saglam M. The role of melatonin in prevention of intestinal ischemia-reperfusion injury in rats. *J Pediatr Surg* 2000;35:1444-1448
- 38 Witt-Enderby PA, Bennett J, Jarzynka MJ, Firestone S, Melan MA. Melatonin receptors and their regulation: biochemical and structural mechanisms. *Life Sci* 2003;72:2183-2198
- 39 Cuzzocrea S, Reiter RJ. Pharmacological action of melatonin in shock, inflammation and ischemia/reperfusion injury. *Eur J Pharmacol* 2001;426:1-10
- 40 Simonini G, Pignone A, Generini S, Falcini F. Emerging potentials for an antioxidant therapy as a new approach to the treatment of systemic sclerosis. *Toxicology* 2000;155:1-15
- 41 Sainz RM, Mayo JC, Reiter RJ, Antolin I, Esteban MM, Rodriguez C. Melatonin regulates glucocorticoid receptor: an answer to its antiapoptotic action in thymus. *FASEB J* 1999;13:1547-1556
- 42 Mailliet F, Audinot V, Malpoux B. Molecular pharmacology of the ovine melatonin receptor: comparison with recombinant human MT(1) and MT(2) receptors. *Biochem Pharmacol* 2004;67:667-677
- 43 Cuzzocrea S, Costantino G, Mazzon E, Micali A, De Sarro A, Caputi AP. Beneficial effects of melatonin in a rat model of splanchnic artery occlusion and reperfusion. *J Pineal Res* 2000;28:52-63
- 44 Cuzzocrea S, Costantino G, Mazzon E, Micali A, De Sarro A, Caputi AP. Melatonin reduces dinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis. *J Pineal Res* 2001;30:1-12

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2004 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

肠源性内毒素血症与肝病 出版

多种肝炎与肝病大多伴有肠源性内毒素血症(IETM)。胆病患者的临床表现与 IETM 密切相关，常与患者血浆细胞因子，炎性介质，自由基等相伴而生。韩德五教授领导的山西医科大学肝病研究所 20 年来围绕 IETM 与肝病进行了深入而系统的研究,在大量动物实验与临床研究基础上提出了新的观点和理论(1)一般认为各种肝炎是通过各自的病因及其发病机制所造成的肝损伤(称之为“原发性肝损伤”)。我们发现原发性肝损伤往往伴有 IETM,后者通过过度或持续激活枯否细胞所释放的细胞因子,炎性介质,自由基等又损伤了肝组织,这种肝损伤称之为“继发性肝损伤”。肝炎,肝病患者的临床表现是这两种肝损伤的叠和;(2)由于 IETM 过度或持续激活枯否细胞可促使肝炎重症化(如重型肝炎)和慢性化(急性肝炎→慢性肝炎→肝纤维化→肝硬化→肝癌),故对肝炎的发展与转归有着重要影响;(3)严重的急、慢性肝病可因内毒素而诱发肝功能衰竭。因此, IETM 是多种肝病的危险因素。此理论为防治肝炎,肝病提供了新的思路。显然,降低肠源性内毒素水平和阻断内毒素生物学效应的发挥就成了防治肝炎的关键因素之一。

本书共 10 章 51 节,约 120 万字,并附有百余张图片。内容主要取材于 40 名研究生(包括博士生与硕士生)的学位论文,以证实此学说的客观存在。为了便与国际交流在论文之前附有英文摘要。本书对多种肝炎,肝病的发病机制进行了再认识,故对消化内、外科,感染科医师,病理生理学教师及研究生均有重要参考价值。

本书已由中国科学技术出版社出版,各地新华书店发行。购买者也可与山西医科大学肝病研究所直接联系,电话: 0351-4135067。