

## 高渗盐水对缺血/再灌注损伤 肝脏血红素加氧酶-1 表达的影响

柯庆宏 郑树森 梁廷波 谢海洋 夏伟良

**【摘要】** 目的 探讨高渗盐水预处理对肝脏缺血/再灌注损伤的保护作用及其机制。方法 25 只 SD 大鼠随机分为假手术组、血红素加氧酶-1(HO-1)抑制剂锌原卟啉(ZnPP)组、缺血/再灌注组、高渗盐水预处理组及 ZnPP 干预组,每组 5 只。建立大鼠局部肝脏缺血/再灌注损伤模型,于缺血/再灌注后 6 h 测定血清丙氨酸转氨酶(ALT)活性、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )含量、肝组织髓过氧化物酶(MPO)活性及肝组织内皮素-1(ET-1)含量;采用逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)和蛋白质免疫印迹法(Western blot)检测肝组织 HO-1 mRNA 和蛋白表达;光镜和电镜下观察肝脏病理学改变及肝窦情况。观察使用 ZnPP 后,高渗盐水预处理对肝脏缺血/再灌注损伤的保护作用。结果 肝脏缺血/再灌注后血清 ALT 活性、TNF- $\alpha$  含量及肝组织 MPO 活性、ET-1 含量均明显升高( $P$  均 $<0.01$ ),HO-1 mRNA 和蛋白表达明显增强。高渗盐水预处理明显增强缺血/再灌注后肝脏 HO-1 mRNA 及蛋白表达,降低血清 ALT、TNF- $\alpha$  水平及肝组织 MPO 活性和 ET-1 含量,肝脏微循环明显改善;使用 ZnPP 以后,高渗盐水预处理的保护作用消失。结论 高渗盐水预处理通过增强 HO-1 表达,对肝脏缺血/再灌注损伤产生保护作用。

**【关键词】** 高渗盐水; 缺血/再灌注损伤,肝; 血红素加氧酶-1

**Effects of hypertonic saline on expression of heme oxygenase enzyme - 1 in hepatic ischemia/reperfusion injury rats** KE Qing - hong, ZHENG Shu - sen, LIANG Ting - bo, XIE Hai - yang, XIA Wei - liang. Department of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, The First Affiliated Hospital of Medical College, Key Lab of Combined Multi - organ Transplantation, Ministry of Health, Zhejiang University, Hangzhou 310003, Zhejiang, China

**【Abstract】 Objective** To explore the effect of the pretreatment with hypertonic saline (HTS) in the hepatic ischemia/reperfusion (I/R) injury. **Methods** Twenty - five SD rats were randomly divided into sham operation group, hemeoxygenase - 1 (HO - 1) blocker ZnPP group, I/R group, HTS pretreatment group and ZnPP intervention group ( $n=5$ ). The rat model of partial hepatic I/R injury was reproduced by isolating the portal venous and hepatic arterial branches to the left and median hepatic lobes, and they were occluded with a microvascular clamp for 30 minutes, followed by reperfusion. In HTS pretreatment group, the rats received 4 ml/kg volume of HTS (7.5%) intravenously 1 hour before the occlusion of the vessels. The rats were sacrificed 6 hours after reperfusion. The levels of alanine aminotransferase (ALT) and tumor necrosis factor -  $\alpha$  (TNF -  $\alpha$ ) in serum, liver myeloperoxidase (MPO) activity and liver endothelin - 1 (ET - 1) were determined. Reverse transcription - polymerase chain reaction (RT - PCR) and Western blot were used to examine the expression of HO - 1 in the liver. The pathological changes in the liver, including hepatic sinusoid, were evaluated in hematoxylin and eosin (HE) - stained sections and transmission electron microscopy (TEM) of liver specimens. The effect of HTS pretreatment was also assessed in the rats pretreated with ZnPP. **Results** The levels of serum ALT and TNF -  $\alpha$ , ET - 1 and MPO activity in hepatic tissues increased after hepatic I/R injury (all  $P < 0.01$ ), and expression of HO - 1 mRNA and protein were also increased. RT - PCR and Western - blot revealed that the expression of HO - 1 in the liver was upgraded significantly, and the ALT level, serum TNF -  $\alpha$ , liver MPO activity and liver ET - 1 were suppressed significantly after I/R injury in the HTS pretreatment group. In this group, there were moderate swelling of hepatocytes and mild neutrophils infiltration in the liver. The hepatic microcirculatory dysfunction was ameliorated. All these findings showed that HTS pretreatment produced the effect of prevention on hepatic I/R injury. However, the adjunctive infusion of ZnPP abrogated the beneficial effects. **Conclusion** Pretreatment of HTS has the effect of the prevention of hepatic I/R injury by promotion of the expression of HO - 1.

**【Key words】** hypertonic saline; hepatic ischemia/reperfusion injury; heme oxygenase - 1

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30371358);国家重点基础研究发展计划“973”项目(2003CB515501)

作者单位:310003 杭州,浙江大学医学院附属第一医院肝胆胰外科,卫生部多器官联合移植研究重点实验室

作者简介:柯庆宏(1976-),男(汉族),浙江人,医学博士,医师,主要从事普通外科及器官移植的基础与临床研究。

肝脏缺血/再灌注损伤常发生于需阻断肝门的肝叶切除、失血性休克、严重感染以及肝移植等情况下<sup>[1-5]</sup>,是引起肝移植后原发性移植肝无功能的主要原因之一<sup>[6]</sup>。如何预防或减轻肝脏缺血/再灌注损伤是目前肝胆外科领域亟需解决的一个关键问题。近年来研究发现,在有害刺激和疾病条件下血红素加

氧酶-1(HO-1)对机体具有保护作用,特别是在抗器官缺血/再灌注损伤方面具有很好的功效,诱导 HO-1 过度表达可明显减轻肝脏缺血/再灌注损伤<sup>[7-9]</sup>;在心肌和小肠缺血/再灌注损伤中,HO-1 也有类似的保护作用<sup>[10,11]</sup>。因此,通过诱导或增强 HO-1 的表达,对缺血/再灌注损伤的器官能起到保护作用。Tian 等<sup>[12]</sup>研究发现,高渗盐水可诱导肾髓质细胞表达 HO-1。高渗盐水现已广泛应用于炎症和休克等危重病治疗<sup>[13]</sup>,但目前国内尚无关于高渗盐水在缺血/再灌注损伤中作用的研究。本研究拟通过建立大鼠局部肝脏缺血/再灌注损伤模型,探讨高渗盐水的保护作用及其机制。

## 1 材料与方法

**1.1 试剂:** 锌原卟啉(ZnPP)购自美国 Porphyrin Products 公司,按文献<sup>[4]</sup>方法配成 1 g/L 溶液;髓过氧化物酶(MPO)试剂盒购自南京建成生物工程研究所;肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )酶联免疫吸附法(ELISA)试剂盒购自美国 R&D 公司;HO-1 兔抗鼠抗体购自美国 Santa Cruz 公司,羊抗兔二抗购自美国 Chemicon 公司,内皮素-1(ET-1)试剂盒购自北京东亚免疫技术研究所。

**1.2 动物模型制备与分组:** 清洁级健康雄性 SD 大鼠,购自上海实验动物中心,体重 220~250 g,术前不禁食、水。参照 Kohli 等<sup>[14]</sup>的方法建立 70%肝缺血模型,即分离出大鼠肝左、中叶肝动脉,门静脉和胆管支,用无创微血管夹阻断,造成肝左、中叶缺血 30 min 后,松开血管夹形成再灌注。25 只大鼠按随机数字表法分为 5 组,每组 5 只。①假手术组:仅行麻醉及肝脏分离,不钳夹肝脏血管;②ZnPP 组:术前 24 h 腹腔注射 5 ml/kg HO-1 抑制剂 ZnPP,余处理同假手术组,观察 ZnPP 是否具有肝脏毒性;③缺血/再灌注组:在阻断肝脏血流前 1 h 经阴茎背静脉注射 4 ml/kg 生理盐水,按上述方法建立肝脏缺血/再灌注损伤模型;④高渗盐水预处理组:阻断肝脏血流前 1 h 经阴茎背静脉注射 4 ml/kg 质量分数为 7.5%的高渗盐水,余处理同缺血/再灌注组;⑤ZnPP 干预组:术前 24 h 腹腔注射 5 ml/kg ZnPP,余处理同缺血/再灌注组。所有动物均在再灌注后 6 h 处死,收集血清及肝脏组织进行检测。

## 1.3 检测指标及方法

**1.3.1 血清丙氨酸转氨酶(ALT):** 采用全自动生化分析仪测定。

**1.3.2 血清 TNF- $\alpha$  含量:** 按试剂盒说明操作,各组血清 TNF- $\alpha$  水平均采用 ELISA 检测 3 次,取其

平均值,结果以 ng/L 表示。

**1.3.3 肝组织 MPO:** 按试剂盒说明进行测定。

**1.3.4 肝组织 ET-1 含量:** 切取活体肝组织约 100 mg,加入 1 mmol/L 盐酸 1 ml 碾磨,随后置于 100 °C 水浴 10 min,匀浆,4 °C、3 000 r/min 离心 10 min,取上清液,用放射免疫方法测定肝组织中 ET-1 含量,操作按试剂盒说明书进行。

**1.3.5 逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)法检测肝脏 HO-1 mRNA 表达:** 采用 Trizol 一步法提取总 RNA,测定其浓度以及 260 nm 和 280 nm 处吸光度比值( $A_{260}/A_{280}$ )。将 2  $\mu$ g mRNA 逆转录为 cDNA。引物由上海生工生物工程有限公司合成,引物序列为:HO-1(224 bp):上游为 5'-AAA-CAAGCAGAACCAGTC-3',下游为 5'-AGAG-GTCACCCAGGTAGCG-3';磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH,456 bp):上游为 5'-ACTGGCGTCTTC-ACCACCAT-3',下游为 5'-CTCCAGGCGGCA-TGTCAGAT-3'。反应条件:94 °C、45 s,57 °C、45 s,72 °C、60 s,扩增 30 个循环,最后 72 °C 延伸 10 min。取 8  $\mu$ l 扩增产物,在质量浓度为 15 g/L 的琼脂糖凝胶(内含 0.5 mg/L 的溴化乙锭)电泳,时间 30~40 min,电压 100 V,采用 Kodak Digital Science 成像分析系统扫描电泳条带,用 HO-1 与 GAPDH 的吸光度比值( $A_{HO-1}/A_G$ )表示 HO-1 的相对表达水平。

**1.3.6 蛋白质免疫印迹法(Western blot)检测肝脏中 HO-1:** 取肝脏组织约 50 mg,加 1 ml 预冷组织裂解液,在玻璃匀浆器中制成组织匀浆,冰上培育 15 min,4 °C、15 000 r/min 离心 10 min,取上清,得胞质蛋白。用二辛可宁酸(BCA)法测定蛋白浓度后确定上样浓度,加入 4 倍上样缓冲液,100 °C 沸水使蛋白变性 3~5 min,质量分数为 8%的十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),每个泳道加蛋白 45  $\mu$ g,将蛋白转移至硝酸纤维素膜上,兔抗鼠 HO-1 多抗(1:1 000)4 °C 孵育过夜,辣根过氧化物酶标记二抗(羊抗兔,1:2 000)4 °C 下孵育 2 h,采用免疫印迹化学发光法(ECL),在 KODAK Image Station 2000R 成像系统中曝光显影。

**1.3.7 肝脏组织病理学观察:** 处死大鼠,迅速将 0.5 cm<sup>3</sup> 大小的肝组织块用体积分数为 10%的甲醛固定,石蜡包埋、切片,苏木素-伊红(HE)染色,光镜下观察组织学变化。取 1 mm<sup>3</sup> 小块肝脏组织,体积分数为 2.5%的戊二醛固定,常规电镜制样,JEM-1200EX 透射电镜下观察肝窦情况。

1.4 统计学方法:数据采用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采用 *t* 检验或方差分析,  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 血清 ALT 变化(表 1):缺血/再灌注 6 h 大鼠 ALT 比假手术组明显升高( $P < 0.01$ ),而高渗盐水预处理组较缺血/再灌注组明显改善( $P < 0.05$ ); ZnPP 干预组和缺血/再灌注组间差异无显著性( $P > 0.05$ )。ZnPP 组和假手术组间 ALT 差异无显著性( $P > 0.05$ ),说明 ZnPP 无明显的肝脏毒性。

2.2 血清 TNF- $\alpha$  水平(表 1):缺血/再灌注 6 h 大鼠血清 TNF- $\alpha$  较假手术组明显升高( $P < 0.01$ ),高渗盐水预处理组比缺血/再灌注组明显下降( $P < 0.05$ ); ZnPP 干预组和缺血/再灌注组差异无显著性( $P > 0.05$ );假手术组和 ZnPP 组间差异亦无显著性( $P > 0.05$ )。

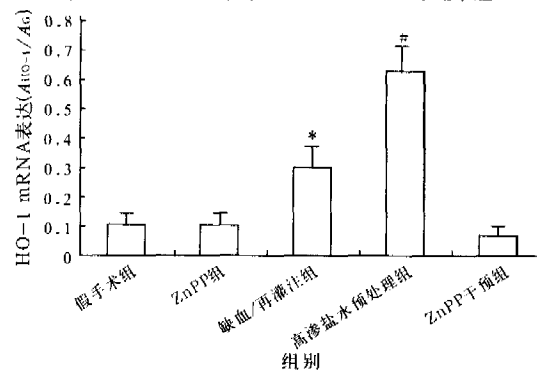
2.3 肝脏 MPO 活性(表 1):缺血/再灌注 6 h 大鼠肝脏 MPO 活性明显升高( $P < 0.01$ ),高渗盐水预处理可明显降低缺血/再灌注后升高的 MPO 活性( $P < 0.05$ );使用 ZnPP 以后,上述抑制作用消失。ZnPP 组与假手术组间肝脏 MPO 活性差异无显著性( $P > 0.05$ )。

2.4 肝脏 ET-1 水平(表 1):缺血/再灌注 6 h 大鼠肝脏 ET-1 水平明显升高( $P < 0.01$ );高渗盐水预处理可明显抑制缺血/再灌注后肝脏 ET-1 表达( $P < 0.05$ )。使用 ZnPP 以后,上述抑制作用消失。

2.5 HO-1 mRNA 及蛋白表达(图 1,图 2):假手术组大鼠肝组织 HO-1 mRNA 仅有微弱表达;缺血/再灌注组表达较假手术组略增强;高渗盐水预处理可明显增强缺血/再灌注后 HO-1 mRNA 表达,与缺血/再灌注组比较差异有显著性( $P < 0.05$ );使用 ZnPP 以后,HO-1 mRNA 表达受抑,与假手术组比较差异无显著性( $P > 0.05$ )。Western blot 显示,各组大鼠肝脏内 HO-1 蛋白表达与 mRNA 表达相似,高渗盐水预处理组条带明显强于其他各组。

2.6 肝脏组织病理学观察(彩色插页图 3):缺血/

再灌注组大鼠肝细胞及肝窦内皮细胞水肿,肝细胞索结构紊乱,有灶片状坏死,肝窦狭窄甚至闭塞。高渗盐水预处理组肝脏水肿程度明显轻于缺血/再灌注组,肝窦仍然保持通畅。ZnPP 干预组的病变与缺血/再灌注组相似,假手术组和 ZnPP 组未见明显异常。另外,高渗盐水预处理组肝脏内中性粒细胞浸润程度轻于缺血/再灌注组和 ZnPP 干预组。



注:与假手术组比较;\*  $P < 0.05$ ;与缺血/再灌注组比较;#  $P < 0.05$

图 1 高渗盐水预处理对肝脏缺血/再灌注 6 h 肝组织 HO-1 mRNA 表达的影响

Figure 1 Effects of pretreatment of hypertonic saline on expression of HO-1 mRNA in livers at 6 hours after hepatic ischemia/reperfusion

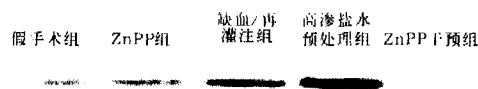


图 2 高渗盐水预处理对大鼠肝脏缺血/再灌注 6 h 肝组织 HO-1 蛋白表达的影响

Figure 2 Effects of pretreatment of hypertonic saline on expression of HO-1 protein in livers at 6 hours after hepatic ischemia/reperfusion

3 讨论

肝脏缺血/再灌注后 3~6 h,各种炎症因子显著升高,出现明显的肝功能损害<sup>[1,9]</sup>。本实验中以再灌注后 6 h 作为观察时间点,可确切反映大鼠肝脏缺血/再灌注后的肝功能状况。本研究中发现,肝脏缺血/再灌注后 6 h,血清 TNF- $\alpha$  明显升高,肝脏内有较多中性粒细胞浸润,肝脏 MPO 活性、ET-1 含量均明显升高,出现严重的微循环障碍。病理观察发

表 1 高渗盐水预处理对肝脏缺血/再灌注损伤的保护作用( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

Table 1 Effect of pretreatment of hypertonic saline on hepatic ischemia/reperfusion injury( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

组别	血清 ALT(U/L)	血清 TNF- $\alpha$ (ng/L)	肝脏 MPO 活性(U/g)	肝脏 ET-1(ng/100 mg)
假手术组	51.8 ± 6.9	44.3 ± 5.6	1.1 ± 0.2	153.4 ± 29.5
ZnPP 组	45.4 ± 5.3	47.0 ± 10.2	1.2 ± 0.3	142.8 ± 31.8
缺血/再灌注组	561.0 ± 50.2**	471.0 ± 77.6**	2.1 ± 0.3**	396.2 ± 68.3**
高渗盐水预处理组	362.0 ± 36.1#	333.3 ± 42.1#	1.6 ± 0.2#	279.5 ± 53.6#
ZnPP 干预组	604.3 ± 46.8	509.6 ± 69.4	2.3 ± 0.4	417.4 ± 66.7

注:与假手术组比较;\*\*  $P < 0.01$ ;与缺血/再灌注组比较;#  $P < 0.05$

现,肝细胞及肝窦内皮细胞水肿,电镜下显示肝窦狭窄甚至闭塞,出现明显的肝功能损害,ALT 水平也明显升高。高渗盐水预处理组血清 TNF- $\alpha$  水平及肝脏 MPO 活性、ET-1 含量均明显降低,微循环明显改善,ALT 水平明显下降,说明高渗盐水预处理对肝脏缺血/再灌注损伤具有明显的保护作用。

肝脏缺血/再灌注后,HO-1 表达较假手术组略有升高,但升高幅度不足以抵抗各种损伤性因素。Amersi 等<sup>[7]</sup>发现,使用 HO-1 诱导剂钴原卟啉(CoPP)和输注携带 HO-1 基因的腺病毒载体,可明显增加脂肪肝大鼠在肝脏缺血/再灌注后门静脉的血流,对肝脏缺血/再灌注损伤起到保护作用。本实验中在肝脏缺血/再灌注前 1 h 经静脉输注高渗盐水,可明显增加肝脏 HO-1 mRNA 及蛋白表达,对肝脏缺血/再灌注损伤具有明显的保护作用。使用 ZnPP 抑制 HO-1 表达,高渗盐水的保护作用消失,提示高渗盐水预处理对肝脏缺血/再灌注损伤的保护作用可能通过诱导 HO-1 表达发挥作用。

HO-1 是一种应激蛋白基因,是血红素降解过程中的限速酶。迄今为止,已发现 3 种 HO 同工酶,其中 HO-1 为诱导型,广泛分布于肝脏、脾脏、网状内皮系统和骨髓等组织,可被炎症因子、氧化应激、热应激、重金属及内毒素等所诱导。近年研究发现,渗透压的改变也可诱导 HO-1 表达<sup>[12]</sup>。这在本实验中得到证实。使用高渗盐水升高了细胞外渗透压,导致细胞内水分渗出,为了维持细胞自身体积和功能的稳定,细胞内一系列信号转导通路被激活,其中丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)途径的激活是引起 HO-1 表达增强的重要原因<sup>[15]</sup>。HO-1 表达增强后,可将血红素降解为胆绿素、游离铁和一氧化碳(CO)而发挥强大的抗炎效应<sup>[16]</sup>。其中,胆绿素、胆红素是体内有效的抗氧化剂;CO 是机体内源性 CO 的主要来源,具有扩张血管和抗血小板聚集的特性,可维持微循环;亚铁能诱导铁蛋白表达,减少活性氧产生。我们发现,高渗盐水预处理诱导 HO-1 表达增强后,血清 TNF- $\alpha$  水平明显下降,中性粒细胞在肝脏内浸润减轻,肝脏 MPO 活性明显下降。此外 CO 可激活可溶性鸟苷酸环化酶(sGC),引起细胞内 cGMP 水平升高,松弛平滑肌,抑制血小板聚集,明显改善肝脏微循环,表现为肝脏 ET-1 含量下降,肝窦保持开放,肝功能损害进一步减轻。另有研究发现,HO-1 表达和 CO 产生可通过 p38 MAPK 依赖途径增加另一强有力的抗炎因子白细胞介素-10 的释放,进一步增强抗炎效应<sup>[17]</sup>。

综上,高渗盐水预处理可能通过增强 HO-1 表达实现对肝脏缺血/再灌注损伤的保护作用。各种 HO-1 诱导剂及基因治疗尽管在实验中证实有强大的保护作用,但 HO-1 高度过表达的毒性作用限制了其在临床进一步应用<sup>[16]</sup>。高渗盐水使用安全有效,因此具有更大的临床应用和研究价值。

#### 参考文献:

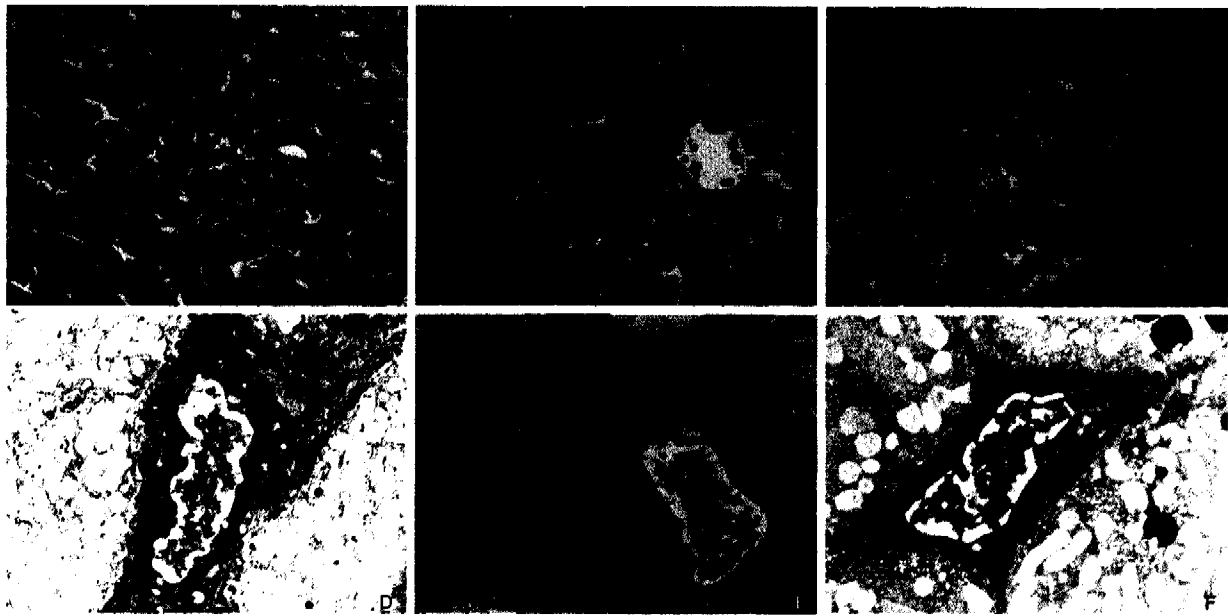
- Serracino - Inglott F, Habib N A, Mathie R T. Hepatic ischemia - reperfusion injury[J]. Am J Surg, 2001, 181: 160 - 166.
- 王万铁,王卫,徐正衿,等. 肝缺血-再灌注损伤中脂质过氧化反应及左旋精氨酸的干预作用[J]. 中国危重病急救医学, 2003, 15: 91 - 93.
- 林丽娜,王万铁,吴进泽,等. 异丙酚对围术期缺血-再灌注损伤肝脏的保护作用[J]. 中国危重病急救医学, 2004, 16: 42 - 44.
- 王万铁,林丽娜,潘雪蓉,等. 左旋精氨酸对肝缺血-再灌注损伤时血小板聚集功能的影响[J]. 中国危重病急救医学, 2004, 16: 49 - 51.
- 王万铁,林丽娜,王卫,等. 川芎嗪对肝缺血-再灌注损伤时黄嘌呤氧化酶活性的影响[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2003, 10: 340 - 342.
- Bzeizi K I, Jalan R, Plevris J N, et al. Primary graft dysfunction after liver transplantation: from pathogenesis to prevention[J]. Liver Transpl Surg, 1997, 3: 137 - 148.
- Amersi F, Buelow R, Kato H, et al. Up - regulation of heme oxygenase - 1 protects genetically fat Zucker rat livers from ischemia/reperfusion injury[J]. J Clin Invest, 1999, 104: 1631 - 1639.
- Kato H, Amersi F, Buelow R, et al. Heme oxygenase - 1 overexpression protects rat livers from ischemia/reperfusion injury with extended cold preservation[J]. Am J Transplant, 2001, 1: 121 - 128.
- Fondevila C, Busuttil R W, Kupiec - Weglinski J W. Hepatic ischemia/reperfusion injury: a fresh look [J]. Exp Mol Pathol, 2003, 74: 86 - 93.
- Katori M, Buelow R, Ke B, et al. Heme oxygenase 1 overexpression protects rat hearts from cold ischemia/reperfusion injury via anti-apoptotic pathway[J]. Transplantation, 2002, 73: 287 - 292.
- Cuturi M C, Christoph F, Woo J, et al. RDP1258, a new rationally designed immunosuppressive peptide, prolongs allograft survival in rats; analysis of its mechanism of action[J]. Mol Med, 1999, 5: 820 - 832.
- Tian W, Bonkovsky H L, Shibahara S, et al. Urea and hypertonicity increase expression of heme oxygenase - 1 in murine renal medullary cells[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2001, 281: 983 - 991.
- Rotstein O D. Novel strategies for immunomodulation after trauma; revisiting hypertonic saline as a resuscitation strategy for hemorrhagic shock[J]. J Trauma, 2000, 49: 580 - 583.
- Kohli V, Selzner M, Madden J F, et al. Endothelial cell and hepatocyte deaths occur by apoptosis after ischemia - reperfusion injury in the rat liver[J]. Transplantation, 1999, 67: 1099 - 1105.
- Kultz D, Burg M. Evolution of osmotic stress signaling via MAP kinase cascades[J]. J Exp Biol, 1998, 201: 3015 - 3021.
- Katori M, Busuttil R W, Kupiec - Weglinski J W. Heme oxygenase - 1 system in organ transplantation [J]. Transplantation, 2002, 74: 9005 - 9012.
- Lee T S, Chau I. Y. Heme oxygenase - 1 mediates the anti-inflammatory effect of interleukin - 10 in mice [J]. Nat Med, 2002, 8: 240 - 246.

(收稿日期: 2005 - 10 - 19 修回日期: 2005 - 12 - 25)

(本文编辑: 李银平)

# 高渗盐水对缺血/再灌注损伤肝脏血红素加氧酶-1表达的影响

(正文见5页)



A. 光镜下缺血/再灌注组(HE, ×400); B. 光镜下高渗盐水预处理组(HE, ×400); C. 光镜下ZnPP干预组(HE, ×400); D. 透射电镜下缺血/再灌注组(醋酸铀-枸橼酸铅双染, ×5 000); E. 透射电镜下高渗盐水预处理组(醋酸铀-枸橼酸铅双染, ×5 000); F. 透射电镜下ZnPP干预组(醋酸铀-枸橼酸铅双染, ×5 000); ↑所示为中性粒细胞浸润

图3 肝脏缺血/再灌注后6 h肝脏组织病理学变化  
Figure 3 Pathological change of livers at 6 hours after hepatic ischemia/reperfusion

# 成体表皮干细胞的分离培养与鉴定

(正文见46页)

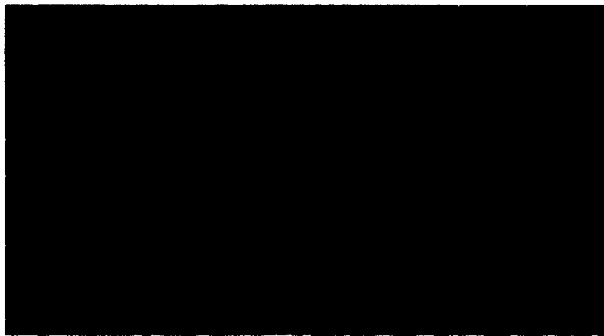


图1 分离的细胞贴壁10~15 min (×100)  
Figure 1 Several separate cells adhered to the plate 10~15 minutes after primary culture (×100)

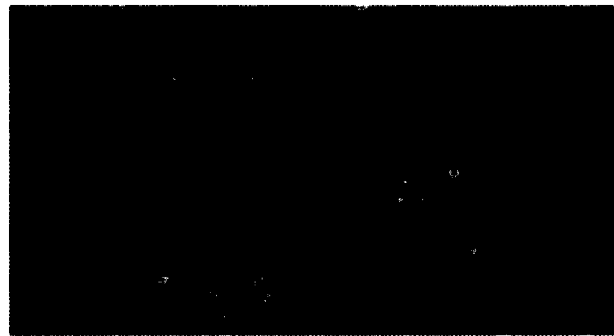


图2 分离的细胞贴壁生长24 h (×100)  
Figure 2 Cells adhered to the plate 24 hours after primary culture (×100)

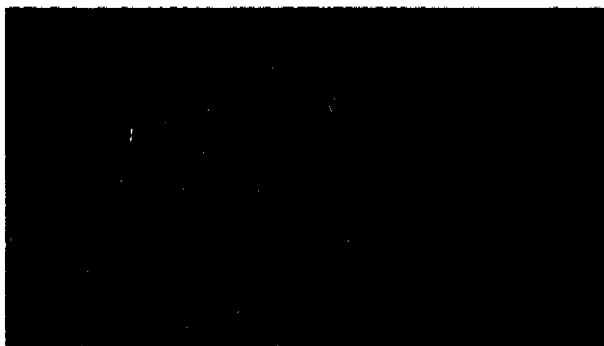


图3 细胞贴壁生长5 d后 (×100)  
Figure 3 Cells adhered to the plate 5 days after primary culture (×100)

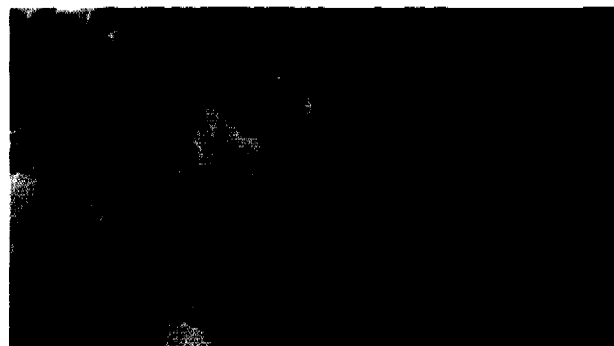


图4 第2代细胞K19(左)、β1整合素(右)染色(免疫细胞化学法, ×200)  
Figure 4 Cells of second generation strained with K19 (left) or intergrin (right, immunocytochemical, ×200)