

褪黑素对百草枯诱导小鼠急性肝损伤的干预作用及其机制

叶彬 刘虹 洪广亮 赵光举 李萌芳 吴斌 邱俏檬 卢中秋

325000 浙江温州,温州医科大学附属第一医院急诊医学中心

通讯作者:卢中秋, Email: lzq640815@163.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2016.04.007

【摘要】 目的 探讨褪黑素(MT)对百草枯(PQ)染毒小鼠肝损伤的保护作用及其可能机制。**方法** 将 48 只雄性 BALB/c 小鼠按随机数字表法分为正常组($n=6$)、MT 对照组($n=6$)、PQ 染毒组($n=18$)、MT 干预组($n=18$, PQ 染毒 1 h + MT);腹腔注射给药, MT 为 15 mg/kg, PQ 为 30 mg/kg;后两组再按给药后不同时间点分为 12、24、72 h 亚组,每个亚组 6 只。干预后不同时间点于小鼠内眦取血并取肝组织,用碘比色法检测血清丙氨酸转氨酶(ALT)和天冬氨酸转氨酶(AST)含量,用双抗夹心酶联免疫吸附试验(ELISA)测定肝组织肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β) 水平,用蛋白质免疫印迹试验(Western Blot)检测肝细胞核内转录因子- κ B p65 (NF- κ B p65)的蛋白表达;经苏木素-伊红(HE)染色后光镜下观察肝组织病理学改变。**结果** 与正常组比较, PQ 染毒组在染毒后 12 h 血清 ALT、AST 水平和肝组织 TNF- α 水平即明显升高, 24 h 达峰值[ALT(U/L): 417.88 ± 76.16 比 41.76 ± 3.63 , AST(U/L): 469.79 ± 69.81 比 53.19 ± 6.31 , TNF- α (pg/mg): 46.39 ± 9.81 比 13.01 ± 3.19 , 均 $P < 0.05$],之后逐渐下降;肝组织 IL-1 β 水平和细胞核内 NF- κ B p65 表达随时间延长持续升高, 72 h 达峰值[IL-1 β (pg/mg): 30.74 ± 5.81 比 3.81 ± 0.71 , NF- κ B p65 蛋白(灰度值): 1.70 ± 0.14 比 0.85 ± 0.08 , 均 $P < 0.05$]。MT 干预可明显抑制 PQ 染毒导致的上述指标异常升高,与 PQ 染毒组比较, MT 干预组血清 AST 和肝组织 TNF- α 、IL-1 β 水平于 12 h 起即明显降低[AST(U/L): 269.35 ± 11.34 比 391.11 ± 8.71 , TNF- α (pg/mg): 15.10 ± 5.03 比 28.77 ± 5.96 , IL-1 β (pg/mg): 6.23 ± 1.03 比 10.89 ± 3.02 , 均 $P < 0.05$],血清 ALT 水平和细胞核内 NF- κ B p65 蛋白表达于 24 h 起明显降低[ALT(U/L): 249.38 ± 21.71 比 417.88 ± 76.16 , NF- κ B p65 蛋白表达(灰度值): 1.13 ± 0.07 比 1.45 ± 0.09 , 均 $P < 0.05$]。光镜下观察显示,正常组肝细胞无病理学改变; PQ 染毒组肝组织出现炎性细胞广泛浸润,中心静脉、血窦出现扩张、充血,并有肝细胞坏死; MT 干预组肝细胞病理学改变较 PQ 染毒组明显减轻。正常组与 MT 对照组上述各指标比较均无差异。**结论** MT 可通过抑制 NF- κ B p65 的过度活化和减少 TNF- α 的释放,减轻 PQ 中毒引起的肝细胞坏死程度,从而起到肝脏保护作用。

【关键词】 百草枯; 褪黑素; 急性肝损伤; 核转录因子- κ B; 肿瘤坏死因子- α ; 白细胞介素-1 β

基金项目: 浙江省温州市科技计划项目(Y20120094);浙江省医学扶植重点建设学科项目(07-F04);浙江省医学创新学科项目(11-CX26);浙江省中医药重点学科项目(2012-XK-A28)

Effect of melatonin on paraquat-induced acute liver injury in mice and its mechanism Ye Bin, Liu Hong, Hong Guangliang, Zhao Guangju, Li Mengfang, Wu Bin, Qiu Qiaomeng, Lu Zhongqiu

Department of Emergency, the First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou 325000, Zhejiang, China
Corresponding author: Lu Zhongqiu, Email: lzq640815@163.com

【Abstract】 Objective To observe the protective effect of melatonin (MT) on paraquat (PQ)-induced acute liver injury in mice and its possible mechanism. **Methods** A total of 48 male BALB/c mice were randomly divided into normal group ($n=6$), MT control group ($n=6$), PQ poisoning group ($n=18$), and MT treatment group ($n=18$, 1 hour-PQ poisoning + MT). The drugs were intraperitoneally injected, MT 15 mg/kg, PQ 30 mg/kg. The mice in the later two groups were subdivided into 12, 24, 72 hours subgroups according to different time points after administration, with 6 mice in each subgroup. Blood from medial angle of eye and liver tissue were collected at different time points after intervention to determine the serum levels of alanine transaminase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) with iodine colorimetry. The levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-1 β (IL-1 β) in liver tissue were determined with double-antibody sandwich enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). The protein expression of nuclear factor- κ B p65 (NF- κ B p65) in liver nuclei was determined by Western Blot. The pathological changes in liver tissue were observed with light microscope using hematoxylin and eosin (HE) staining. **Results** Compared

with the normal group, the levels of serum ALT and AST, and TNF- α in liver tissue were significantly increased from 12 hours after poisoning, and peaked at 24 hours [ALT (U/L): 417.88 ± 76.16 vs. 41.76 ± 3.63 , AST (U/L): 469.79 ± 69.81 vs. 53.19 ± 6.31 , TNF- α (pg/mg): 46.39 ± 9.81 vs. 13.01 ± 3.19 , all $P < 0.05$], then they were gradually decreased; the levels of IL-1 β in liver tissue and NF- κ B p65 in nucleus were continuously rose with time prolongation, peaked at 72 hours [IL-1 β (pg/mg): 30.74 ± 5.81 vs. 3.81 ± 0.71 , NF- κ B p65 protein (gray value): 1.70 ± 0.14 vs. 0.85 ± 0.08 , both $P < 0.05$]. MT intervention could significantly inhibit the above parameters with abnormal increase induced by PQ poisoning. Compared with the PQ poisoning group, the levels of AST in serum and TNF- α and IL-1 β in liver tissue were significantly decreased from 12 hours [AST (U/L): 269.35 ± 11.34 vs. 391.11 ± 8.71 , TNF- α (pg/mg): 15.10 ± 5.03 vs. 28.77 ± 5.96 , IL-1 β (pg/mg): 6.23 ± 1.03 vs. 10.89 ± 3.02 , all $P < 0.05$], and the levels of serum ALT and NF- κ B p65 in nucleus were significantly decreased from 24 hours [ALT (U/L): 249.38 ± 21.71 vs. 417.88 ± 76.16 , NF- κ B p65 protein expression (gray value): 1.13 ± 0.07 vs. 1.45 ± 0.09 , both $P < 0.05$]. It was shown by light microscope that no pathological changes in hepatocyte were found in normal group. The pathological changes in hepatocyte were obvious in PQ poisoning group as following: inflammatory cell infiltrates, central venous and blood sinus dilation, hyperemia, and necrosis of liver cells. The pathological changes in hepatocyte in MT treatment group were lessened as compared with those of PQ poisoning group. No significant differences were found in above parameters between normal group and MT control group. **Conclusion** MT can lessen the necrosis of hepatocyte induced by PQ poisoning via inhibiting the excessive activity of NF- κ B p65 and decreasing the TNF- α releasing, and play a role of liver protection.

[Key words] Paraquat; Melatonin; Acute liver injury; Nuclear factor- κ B; Tumor necrosis factor- α ; Interleukin-1 β

Fund program: Science and Technology Planning Project of Wenzhou of Zhejiang Province (Y20120094); Foster and Construct Program of Key Medical Disciplines of Zhejiang Province (07-F04); Medical Innovation Discipline Project of Zhejiang Province (11-CX26); Key Discipline Project of Traditional Chinese Medicine of Zhejiang Province (2012-XK-A28)

百草枯(PQ)为广泛使用的有机杂环类除草剂,对人畜均有较强的毒性,且临床上缺乏有效的解毒剂^[1],中毒后病死率高达 50% 以上^[2],已成为严重威胁人类健康的重大难题。PQ 中毒后在体内主要作用于肺组织,重度中毒患者常出现急性肝功能障碍。本课题组前期研究发现,炎性因子在 PQ 中毒中具有重要作用,而核转录因子- κ B(NF- κ B)可调控众多炎性因子,在全身炎症反应中发挥了关键作用^[3-5]。褪黑素(MT)是一种主要由松果体分泌的神经内分泌激素,具有调节免疫、抗氧化、抗炎等多种生物学功能^[6]。本实验通过观察 MT 对 PQ 染毒小鼠肝组织 NF- κ B 表达及其下游因子肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)水平变化的影响,探讨 MT 对 PQ 中毒肝损伤的保护作用及其可能机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂及仪器: PQ 纯品(美国 Sigma 公司),MT 纯品(西安赛兴通生物科技有限公司),丙氨酸转氨酶(ALT)和天冬氨酸转氨酶(AST)测试盒(南京建成生物工程研究所),酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(上海西唐生物科技有限公司),兔抗小鼠 NF- κ B 抗体、 β -肌动蛋白(β -actin)单克隆抗体

(美国 Abcam 公司),辣根过氧化物酶(HRP)标记羊抗兔 IgG(上海碧云天生物技术研究所以)。

1.2 实验动物分组及处理: 清洁级雄性 BALB/c 小鼠 48 只,体质量 18~22 g,购自上海斯莱克实验动物有限责任公司,许可证号:SCXK(沪)2012-0002。按随机数字表法将小鼠分为 4 组:正常组($n=6$)常规饲养,不给予任何处理;MT 对照组($n=6$)腹腔注射 MT 15 mg/kg;PQ 染毒组($n=18$)腹腔注射 PQ 溶液 30 mg/kg;MT 干预组($n=18$)腹腔注射 PQ 溶液 30 mg/kg 1 h 后再注射 MT 15 mg/kg。后两组于给药后 12、24、72 h 各处死 6 只小鼠,取血液及组织标本备检。

本实验中动物处置方法符合动物伦理学标准。

1.3 检测指标及方法

1.3.1 血清 ALT、AST 检测: 小鼠内眦取血 1 mL,离心取血清,采用碘比色法,应用自动生化仪检测,操作严格按试剂盒说明书进行。

1.3.2 肝组织 TNF- α 、IL-1 β 水平测定: 取肝组织 100 mg 制备匀浆,采用双抗夹心 ELISA 法测定 TNF- α 、IL-1 β 水平,操作按试剂盒说明书进行。

1.3.3 蛋白质免疫印迹试验(Western Blot)检测肝组织细胞核内 NF- κ B p65 的蛋白表达: 提取肝组织

细胞核蛋白并定量,用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)、转膜、封闭,加兔抗小鼠 NF- κ B p65 抗体(1:1 000)和兔抗小鼠组蛋白 H₂A 抗体(1:1 000)4℃孵育过夜,洗膜,加入 HRP 标记羊抗兔抗体(1:5 000)室温下孵育 1 h,洗膜、曝光。应用 Genpro 32 软件分析灰度值,以 NF- κ B p65 与组蛋白 H₂A 的灰度值比值作为 NF- κ B p65 的蛋白表达量。

1.3.4 肝组织病理学观察:取部分肝叶组织置于 4% 多聚甲醛固定液中固定,常规石蜡包埋、切片,苏木素-伊红(HE)染色,光镜下观察肝组织病理学变化。

1.4 统计学方法:采用 SPSS 19.0 软件进行数据分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,对各组数据先进行正态检验和方差齐性检验,若符合正态分布、方差齐,则进行单因素方差分析,组间比较采用 LSD 检验;若不符合方差齐性要求,则进行秩和检验,组间比较采用 Mann-Whitney 法; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组肝组织病理学变化:光镜下显示,正常组(图 1A)和 MT 对照组(图 1B)肝细胞结构清晰,肝索排列整齐。PQ 染毒组(图 1C)肝细胞结构紊乱,中心静脉、血窦出现扩张、充血,并有肝细胞坏死,细胞界限模糊、白细胞浸润,炎性细胞激活。MT 干预组(图 1D)炎性细胞浸润,肝细胞坏死及细胞质、细胞核变性等较 PQ 染毒组减轻。

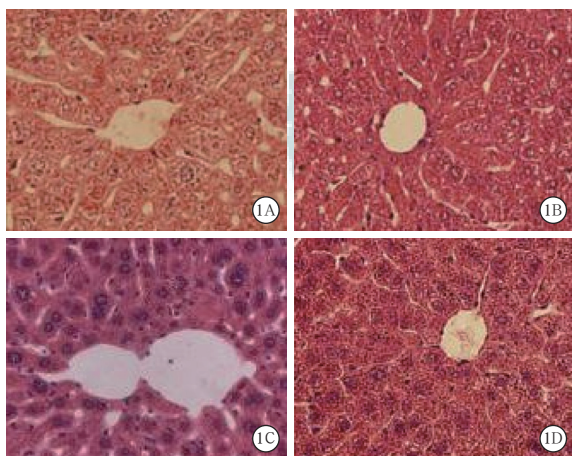


图 1 光镜下观察各组小鼠肝组织病理学变化 正常组(A)和褪黑素(MT)对照组(B)肝细胞结构清晰,肝索排列整齐;百草枯(PQ)染毒组(C)72 h 肝细胞结构紊乱,中心静脉、血窦出现扩张、充血,且出现肝细胞坏死,细胞界限模糊、炎性细胞浸润;MT 干预组(D)72 h 肝组织仍有损害,但较 PQ 染毒组减轻 HE 染色 高倍放大

2.2 各组血清 ALT、AST 水平比较(表 1):PQ 染毒组各时间点血清 ALT、AST 水平较正常组和 MT 对照组明显增高(均 $P < 0.05$),24 h 达峰值后开始下降;MT 干预后 12 h 血清 AST 水平即较 PQ 染毒组明显降低($P < 0.05$),而 ALT 水平在 24 h 起也较 PQ 染毒组明显降低,差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。正常组与 MT 对照组血清 ALT、AST 水平无差异。

表 1 MT 对 PQ 染毒小鼠不同时间点血清 ALT、AST 水平变化的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	ALT(U/L)	AST(U/L)
正常组	6	41.76 $\pm$ 3.63	53.19 $\pm$ 6.31
MT 对照组	6	43.98 $\pm$ 4.77	58.73 $\pm$ 6.94
PQ 染毒 12 h 组	6	267.83 $\pm$ 9.11 ^{ab}	391.11 $\pm$ 8.71 ^{ab}
PQ 染毒 24 h 组	6	417.88 $\pm$ 76.16 ^{ab}	469.79 $\pm$ 69.81 ^{ab}
PQ 染毒 72 h 组	6	89.11 $\pm$ 9.78 ^{ab}	103.98 $\pm$ 10.33 ^{ab}
MT 干预 12 h 组	6	263.15 $\pm$ 17.96	269.35 $\pm$ 11.34 ^c
MT 干预 24 h 组	6	249.38 $\pm$ 21.71 ^c	257.99 $\pm$ 31.10 ^c
MT 干预 72 h 组	6	75.31 $\pm$ 8.71 ^c	81.39 $\pm$ 8.73 ^c

注:MT 为褪黑素,PQ 为百草枯,ALT 为丙氨酸转氨酶,AST 为天冬氨酸转氨酶;与正常组比较,^a $P < 0.05$;与 MT 对照组比较,^b $P < 0.05$;与 PQ 染毒组同期比较,^c $P < 0.05$

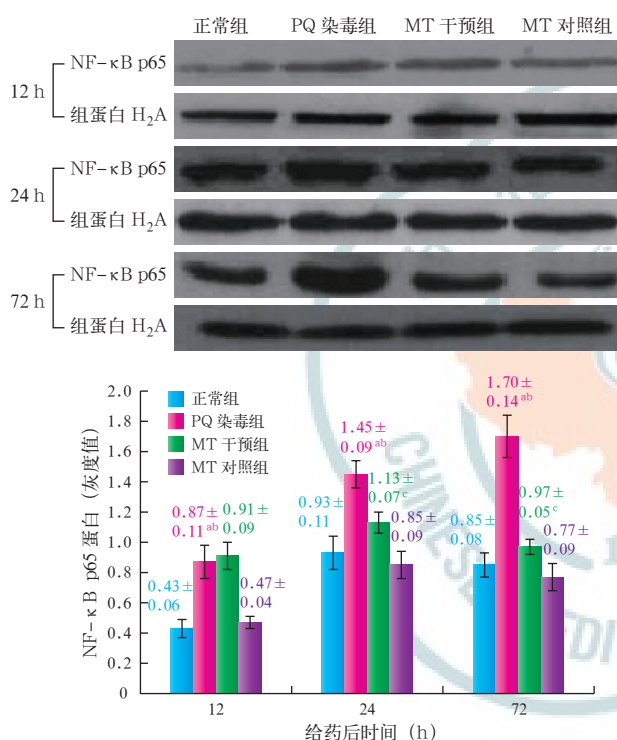
2.3 各组肝组织 TNF- α 、IL-1 β 水平比较(表 2):PQ 染毒组各时间点 TNF- α 、IL-1 β 水平较正常组和 MT 对照组明显增高(均 $P < 0.05$),TNF- α 24 h 达峰值后下降,但仍维持在较高水平,IL-1 β 持续升至 72 h;MT 干预后 12 h 肝组织 TNF- α 、IL-1 β 水平即较 PQ 染毒组明显降低(均 $P < 0.05$)。正常组与 MT 对照组肝组织 TNF- α 、IL-1 β 水平无差异。

表 2 MT 对 PQ 染毒小鼠不同时间点肝组织 TNF- α 、IL-1 β 水平变化的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	TNF- α (pg/mg)	IL-1 β (pg/mg)
正常组	6	13.01 $\pm$ 3.19	3.81 $\pm$ 0.71
MT 对照组	6	12.79 $\pm$ 4.32	4.39 $\pm$ 1.98
PQ 染毒 12 h 组	6	28.77 $\pm$ 5.96 ^{ab}	10.89 $\pm$ 3.02 ^{ab}
PQ 染毒 24 h 组	6	46.39 $\pm$ 9.81 ^{ab}	21.81 $\pm$ 4.76 ^{ab}
PQ 染毒 72 h 组	6	39.98 $\pm$ 6.97 ^{ab}	30.74 $\pm$ 5.81 ^{ab}
MT 干预 12 h 组	6	15.10 $\pm$ 5.03 ^c	6.23 $\pm$ 1.03 ^c
MT 干预 24 h 组	6	20.03 $\pm$ 8.91 ^c	18.79 $\pm$ 5.34 ^c
MT 干预 72 h 组	6	17.33 $\pm$ 8.23 ^c	22.74 $\pm$ 6.19 ^c

注:MT 为褪黑素,PQ 为百草枯,TNF- α 为肿瘤坏死因子- α ,IL-1 β 为白细胞介素-1 β ;与正常组比较,^a $P < 0.05$;与 MT 对照组比较,^b $P < 0.05$;与 PQ 染毒组同期比较,^c $P < 0.05$

2.4 各组肝细胞核内 NF- κ B p65 蛋白表达比较 (图 2): PQ 染毒组各时间点肝细胞核内 NF- κ B p65 蛋白表达较正常组和 MT 对照组明显增高 (均 $P < 0.05$), 且随时间延长持续升高至 72 h; MT 干预后 24 h 起细胞核内 NF- κ B p65 蛋白表达较 PQ 染毒组明显降低, 差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。正常组与 MT 对照组肝细胞核内 NF- κ B p65 蛋白表达无明显差异。



注: MT 为褪黑素, PQ 为百草枯, NF- κ B p65 为核转录因子- κ B p65; 与正常组同期比较, ^a $P < 0.05$; 与 MT 对照组同期比较, ^b $P < 0.05$; 与 PQ 染毒组同期比较, ^c $P < 0.05$ 。

图 2 MT 对 PQ 染毒小鼠不同时间点肝细胞核内 NF- κ B p65 蛋白表达的影响

3 讨论

PQ 中毒的损伤机制十分复杂, 目前研究最多的是 PQ 对肺脏的损害作用, 而其早期对肝脏的损伤也不容忽视。有研究显示, PQ 早期对肝脏的损害作用主要为氧化损伤、炎症损伤、细胞凋亡^[7-11]。还有研究显示, 急性肝损伤的炎症反应主要由炎性介质和炎性细胞介导^[11-13]。血清 TNF- α 和 IL-1 β 在炎症的发生发展过程中发挥了关键作用。PQ 能通过多条途径诱导 TNF- α 、IL-1 β 等细胞因子的基因表达和蛋白质合成, 其中 TNF- α 是最关键的细胞因子, 它可以吸引中性粒细胞进入肝细胞并产生超氧阴离子, 促使库普弗细胞发生“呼吸爆发”,

释放氧自由基, 加重肝脏微循环障碍, 使肝组织发生缺血缺氧性损伤^[14-15]。目前研究已证实 NF- κ B 对炎性因子的产生起重要作用, 能与众多炎性因子的基因启动子区域结合, 启动炎性因子转录, 此过程是全身炎症反应的关键环节^[15-16]。

MT 是迄今为止发现的最有效的自由基清除剂之一, 它兼具亲水性和疏水性, 可自由通过任何器官组织细胞的形态生理屏障及各种体液, 同时具有免疫调节、抗肿瘤、延缓衰老等作用, 对脑、心、肝等重要器官具有保护作用^[17]。有报道显示, MT 能够通过减少氧自由基和 TNF- α 的释放, 减轻 PQ 中毒引起的氧化损伤^[18-19]。García-Rubio 等^[20]通过 MT 干预 PQ 染毒的体外大鼠肝细胞发现, MT 可通过减轻氧化损伤对 PQ 染毒的肝细胞起保护作用。此外, MT 还可通过多种方式减少大鼠肝细胞凋亡, 从而对肝细胞起到保护作用^[21-22]。

本实验结果显示, PQ 染毒组血清 ALT、AST 水平持续升高, 24 h 达高峰后明显下降, 可能与肝损伤加重出现胆酶分离有关; 而 MT 干预组血清 ALT、AST 水平在 12 h 后持续下降, 24 h 明显低于 PQ 染毒组。肝组织病理结果显示, MT 干预组小鼠肝细胞的细胞质、细胞核变性等情况较 PQ 染毒组有所减轻, 且未发现肝细胞坏死。说明 MT 对急性 PQ 中毒肝脏损伤具有保护作用。其可能机制为: ① MT 通过抑制 NF- κ B p65 从胞质到胞核的转位过程, 防止 NF- κ B p65 过度活化, 降低 TNF- α 、IL-1 β 水平, 从而阻止炎症级联放大, 减轻炎症损伤。本实验结果显示, MT 干预组小鼠肝细胞核内 NF- κ B p65 蛋白表达及其调控的 TNF- α 、IL-1 β 表达较 PQ 染毒组明显降低, 对该推断起到了一定的支持作用。② 通过减少 TNF- α 的释放, 减轻 PQ 中毒的氧化损伤^[18-19]。本实验也显示 MT 干预组 TNF- α 表达较 PQ 染毒组明显降低。

综上, 本实验证实, MT 减轻 PQ 诱导的急性肝损伤可能与其抑制 NF- κ B 炎症反应通路, 从而减轻炎症损伤有关, 但其与减轻氧化损伤和减少细胞凋亡两个机制的相互联系尚有待进一步研究。此外, MT 对 PQ 中毒肝损伤的治疗作用对于临床运用仍缺乏有效的循证医学依据, 亦有待进一步研究。

参考文献

- [1] 王金柱, 兰超, 李莉, 等. 176 例急性百草枯中毒患者预后危险因素分析 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2013, 20 (4): 240-243. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2013.04.019.
- Wang JZ, Lan C, Li L, et al. Analysis of risk factors for prognoses of

- 176 patients with acute paraquat intoxication [J]. Chin J TCM WM Crit Care, 2013, 20 (4): 240–243. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2013.04.019.
- [2] 卢中秋. 急性百草枯中毒的救治: 任重道远 [J]. 中华危重病急救医学, 2015, 27 (4): 241. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.04.001.
- Lu ZQ. The treatment of acute paraquat poisoning: a long and hard way [J]. Chin Crit Care Med, 2015, 27 (4): 241. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.04.001.
- [3] 曹玉芳, 李景辉, 欧宗兴, 等. 二烯丙基硫化物可下调百草枯中毒大鼠肺组织核转录因子- κ B 蛋白及肿瘤坏死因子- α mRNA 表达 [J]. 中华危重病急救医学, 2015, 27 (4): 274–279. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.04.010.
- Cao YF, Li JH, Ou ZX, et al. Inhibition of pulmonary nuclear factor- κ B and tumor necrosis factor- α expression by diallyl sulfide in rats with paraquat poisoning [J]. Chin Crit Care Med, 2015, 27 (4): 274–279. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.04.010.
- [4] 李冬, 徐丽艳, 常子娟, 等. 沙利度胺对百草枯诱导小鼠急性肺损伤的干预 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2013, 31 (3): 178–183. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-9391.2013.03.004.
- Li D, Xu LY, Chang ZJ, et al. Effect of thalidomide in a mouse model of paraquat-induced acute lung injury and the underlying mechanisms [J]. Chin J Ind Hyg Occup Dis, 2013, 31 (3): 178–183. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-9391.2013.03.004.
- [5] Dinis-Oliveira RJ, de Pinho PG, Santos L, et al. Postmortem analyses unveil the poor efficacy of decontamination, anti-inflammatory and immunosuppressive therapies in paraquat human intoxications [J]. PLoS One, 2009, 4 (9): e7149. DOI: 10.1371/journal.pone.0007149.
- [6] 梁岚. 褪黑素作用机制的研究进展 [J]. 中华实用中西医杂志, 2007, 20 (17): 1551–1553.
- Liang L. Research Progress on the mechanism of melatonin [J]. Chin J Pract TCM, 2007, 20 (17): 1551–1553.
- [7] 洪广亮, 卢中秋. 百草枯急性中毒机制及治疗研究现状 [J]. 中国急救复苏与灾害医学杂志, 2011, 6 (8): 748–750. DOI: 10.3969/j.issn.1673-6966.2011.08.026.
- Hong GL, Lu ZQ. Study on the mechanism and treatment of acute paraquat poisoning [J]. China J Emerg Resusc Disaster Med, 2011, 6 (8): 748–750. DOI: 10.3969/j.issn.1673-6966.2011.08.026.
- [8] 孔庆福, 张华, 王丽, 等. 急性百草枯中毒早期器官损害与细胞因子的变化 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2010, 17 (3): 159–162. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2010.03.009.
- Kong QF, Zhang H, Wang L, et al. Investigation on early organic injury and changes of cytokines in acute paraquat poisoning [J]. Chin J TCM WM Crit Care, 2010, 17 (3): 159–162. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2010.03.009.
- [9] Morán JM, Ortiz-Ortiz MA, Ruiz-Mesa LM, et al. Nitric oxide in paraquat-mediated toxicity: A review [J]. J Biochem Mol Toxicol, 2010, 24 (6): 402–409. DOI: 10.1002/jbt.20348.
- [10] 韩文文, 吴冬, 刘虹, 等. 姜黄素对急性百草枯中毒大鼠肝脏氧化损伤的干预 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2014, 32 (5): 352–356. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-9391.2014.05.007.
- Han WW, Wu D, Liu H, et al. Curcumin alleviated liver oxidative stress injury of rat induced by paraquat [J]. Chin J Ind Hyg Occup Dis, 2014, 32 (5): 352–356. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-9391.2014.05.007.
- [11] 郭宏兴, 高珂, 罗亮, 等. 早期百草枯中毒大鼠的急性肝损伤研究 [J]. 中华危重病急救医学, 2014, 26 (6): 374–378. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.06.002.
- Guo HX, Gao K, Luo L, et al. Early acute liver injury in paraquat poisoning rats [J]. Chin Crit Care Med, 2014, 26 (6): 374–378. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.06.002.
- [12] Ponmari G, Annamalai A, Gopalakrishnan VK, et al. NF- κ B activation and proinflammatory cytokines mediated protective effect of Indigofera caerulea Roxb. on CCl₄ induced liver damage in rats [J]. Int Immunopharmacol, 2014, 23 (2): 672–680. DOI: 10.1016/j.intimp.2014.10.021.
- [13] Song E, Fu J, Xia X, et al. Bazhen decoction protects against acetaminophen induced acute liver injury by inhibiting oxidative stress, inflammation and apoptosis in mice [J]. PLoS One, 2014, 9 (9): e107405. DOI: 10.1371/journal.pone.0107405.
- [14] Ryckman KK, Williams SM, Krohn MA, et al. Interaction between interleukin-1 receptor 2 and Toll-like receptor 4, and cervical cytokines [J]. J Reprod Immunol, 2011, 90 (2): 220–226. DOI: 10.1016/j.jri.2011.03.007.
- [15] Wang X, Luo F, Zhao H. Paraquat-induced reactive oxygen species inhibit neutrophil apoptosis via a p38 MAPK/NF- κ B-IL-6/TNF- α positive-feedback circuit [J]. PLoS One, 2014, 9 (4): e93837. DOI: 10.1371/journal.pone.0093837.
- [16] Zheng W, Zheng X, Liu S, et al. TNF α and IL-1 β are mediated by both TLR4 and Nod1 pathways in the cultured HAPI cells stimulated by LPS [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2012, 420 (4): 762–767. DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.04.007.
- [17] 刘丹, 安友仲. 褪黑素与谵妄 [J]. 中华危重病急救医学, 2013, 25 (6): 382–384. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2013.06.018.
- Liu D, An YZ. Melatonin and delirium [J]. Chin Crit Care Med, 2013, 25 (6): 382–384. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2013.06.018.
- [18] Medina-Leendertz S, Paz M, Mora M, et al. Longterm melatonin administration alleviates paraquat mediated oxidative stress in Drosophila melanogaster [J]. Invest Clin, 2014, 55 (4): 352–364.
- [19] Ramírez-Zambrano E, Zambrano E, Rojas G, et al. Protective effect of melatonin and sodium thiosulphate on histopathology and ultrastructure of the kidney in rats with acute paraquat poisoning [J]. Invest Clin, 2007, 48 (1): 81–89.
- [20] García-Rubio L, Matas P, Míguez MP. Protective effect of melatonin on paraquat-induced cytotoxicity in isolated rat hepatocytes [J]. Hum Exp Toxicol, 2005, 24 (9): 475–480.
- [21] 崔东旭, 柴芳, 尹剑桥, 等. 褪黑素对大鼠肝缺血再灌注损伤的保护作用 [J]. 中华实验外科杂志, 2008, 25 (5): 597–598. DOI: 10.3321/j.issn.1001-9030.2008.05.018.
- Cui DX, Chai F, Yin JQ, et al. Protective effects of melatonin on hepatic ischemia reperfusion injury in rats [J]. Chin J Exp Surg, 2008, 25 (5): 597–598. DOI: 10.3321/j.issn.1001-9030.2008.05.018.
- [22] 马勇, 丁体龙, 袁福华, 等. 褪黑素对自身免疫性肝炎大鼠肝星状细胞增殖及凋亡的影响 [J]. 中国微生态学杂志, 2009, 21 (1): 32–35.
- Ma Y, Ding TL, Yuan FH, et al. The effect of melatonin on hepatic stellate cells proliferation and apoptosis of rats with autoimmune hepatitis [J]. Chin J Microecol, 2009, 21 (1): 32–35.

(收稿日期: 2016-03-07)

(本文编辑: 孙茜, 李银平)

欢迎订阅 2016 年《中国中西医结合急救杂志》 CN 12-1312/R

中国中西医结合学会主办 中文核心期刊 中国科技论文统计源期刊

全国各地邮局订阅, 邮发代号: 6-93 定价: 每期 26 元 全年 156 元 邮购电话: 022-23197150