

iNOS 抑制剂对大鼠胰腺缺血 / 再灌注损伤的保护作用

李柏峰, 刘永锋, 夏丽萍, 程颖, 成东华, 王晓东, 李铁民, 赵宁

李柏峰, 刘永锋, 程颖, 成东华, 李铁民, 赵宁, 中国医科大学附属第一医院普外一科暨器官移植科 辽宁省沈阳市 110001
夏丽萍, 中国医科大学附属第一医院风湿免疫科 辽宁省沈阳市 110001
王晓东, 沈阳市第四人民医院普外科 辽宁省沈阳市 110031
李柏峰, 男, 1976-08-18 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缺血/再灌注损伤发生机制及其相关影响因素的研究。
辽宁省重大项目资助项目, No. 00225001.
项目负责人: 刘永锋, 110001, 辽宁省沈阳市南京北街 155 号, 中国医科大学附属第一医院普外一科暨器官移植科. yfliu@mail.cum.edu.cn
电话: 024-23265284 传真: 024-23252007
收稿日期: 2004-09-13 接受日期: 2004-10-20

Protective effect of iNOS inhibitor on pancreas ischemia/reperfusion injury in rats

Bai-Feng Li, Yong-Feng Liu, Li-Ping Xia, Ying Cheng, Dong-Hua Cheng, Xiao-Dong Wang, Tie-Min Li, Ning Zhao

Bai-Feng Li, Yong-Feng Liu, Ying Cheng, Dong-Hua Cheng, Tie-Min Li, Ning Zhao, Department of Surgery and Organ Transplant Unit, First Affiliated Hospital, China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China
Li-Ping Xia, Department of rheumatism immunity, the First Affiliated Hospital, China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China
Xiao-Dong Wang, Department of General Surgery, Shengyang Fourth Municipal People's Hospital 110031, Liaoning Province, China
Supported by Natural Science Foundation of Liaoning Province, No. 00225001.
Correspondence to: Dr Yong-Feng Liu, Department of Surgery and Organ Transplant Unit, First Affiliated Hospital, China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. yfliu@mail.cum.edu.cn
Received: 2004-09-13 Accepted: 2004-10-20

Abstract

AIM: To investigate the effect of inducible nitric oxide synthase (iNOS) inhibitor aminoguanidine (AG) during ischemia/reperfusion (I/R) in rat pancreas.

METHODS: The models of sham-operation and pancreas ischemia were established in rats. The splenic artery of rats in I/R group was occluded reversibly by microsurgical clip for 30 minutes, and the animals were killed after 2, 4, 6, 12, or 24 hours of reperfusion. Aminoguanidine was given to the rats in AG group (40, 60, 80 mg/kg; iv). Rats in control group received saline only. The serum nitric oxide (NO) level and amylase activity were determined with nitrate reductase and iodine-starch chromatometry. Pancreas constitutive NOS (cNOS) and iNOS activities were measured using NOS Test Kit. Pancreas sections were evaluated by light microscopy after HE and immunohistochemistry staining.

RESULTS: In I/R group, serum NO level and amylase activity were increased significantly after 4-hour reperfusion. The NO level reached the peak and the amylase activity began to rise at 4 hour. After the administration of aminoguanidine (80 mg/kg), the NO level and amylase activity became much lower than those in the I/R group ($P < 0.01$). After 4-hour reperfusion, tissue iNOS activity was increased significantly in I/R group, but remained normal in AG group ($P < 0.01$). Six, twelve, and twenty-four hours after reperfusion, pancreas injury was observed in I/R group, but no significant changes occurred in pancreas after aminoguanidine (80 mg/kg) administration. Four hours after reperfusion, the positive rate of iNOS in the specimens from I/R group was significantly higher than that in AG (80 mg/kg) group (439 ± 127 vs 33 ± 4 , $P < 0.01$). The activity of cNOS showed no significant difference between any two groups.

CONCLUSION: Selective iNOS inhibitor aminoguanidine has protective effect against the ischemia/reperfusion injury in rat pancreas.

Key Words: Ischemia/reperfusion; iNOS; NOS; cNOS; Pancreas

Li BF, Liu YF, Xia LP, Cheng Y, Cheng DH, Wang XD, Li TM, Zhao N. Protective effect of iNOS inhibitor on pancreas ischemia/reperfusion injury in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2005;13(1):44-48

摘要

目的: 探讨选择性诱导型一氧化氮合酶(iNOS)抑制剂氨基胍(AG)在大鼠胰腺缺血/再灌注损伤(I/R)中的作用。

方法: 建立大鼠胰腺缺血/再灌注模型。I/R组胰腺缺血30 min, 再灌注时间分别为2、4、6、12、24 h; AG组静脉注射氨基胍(40、60、80 mg/kg); 对照组注射等量的生理盐水。使用硝酸还原酶法和碘-淀粉比色法分别检测血清一氧化氮(NO)水平及淀粉酶活性随再灌注时间的变化, 定量分析结构型一氧化氮合酶(cNOS)和诱导型一氧化氮合酶(iNOS)在胰腺组织中的活性, 并对胰腺进行组织形态学检查和免疫组化分析。

结果: I/R组血清NO水平和淀粉酶活性明显升高, 再灌注4 h后NO水平达到高峰, 淀粉酶活性开始升高; AG组血清NO水平及淀粉酶活性低于I/R组($P < 0.01$)。I/R

组再灌注4 h后 iNOS 活性显著增强, AG 组 iNOS 活性明显下降($P < 0.01$). 再灌注6 h后 I/R 组开始出现胰腺损伤的表现, AG组未见胰腺组织明显损害表现. 再灌注4 h后 I/R 组见 iNOS 强阳性染色, AG组中未见 iNOS 阳性染色, 二者比较有显性差异(439 ± 127 vs 33 ± 4 , $P < 0.01$).

结论: 选择性 iNOS 抑制剂氨基胍在大鼠胰腺缺血/再灌注中起到保护作用.

关键词: 缺血再灌注; iNOS; cNOS; NOS; 胰腺

李柏峰, 刘永锋, 夏丽萍, 程颖, 成东华, 王晓东, 李铁民, 赵宇. iNOS 抑制剂对大鼠胰腺缺血/再灌注损伤的保护作用. 世界华人消化杂志 2005;13(1): 44-48

http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/44.asp

0 引言

缺血/再灌注损伤是胰腺移植术后并发急性胰腺炎的主要原因之一^[1-2]. 再灌注期间, 氧自由基的产生是造成损伤的重要原因, 一氧化氮(NO)作为一种反应性极强的自由基, 具有非常强烈的细胞毒性作用; 但同时NO还有显著舒张血管的功能, 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, 有着重要的意义. 本实验建立大鼠胰腺缺血/再灌注模型, 探讨胰腺缺血/再灌注损伤过程中一氧化氮合酶(NOS)各种亚型的表达情况, 以及诱导型一氧化氮合酶(iNOS)抑制剂在胰腺缺血/再灌注损伤中起到怎样的作用.

1 材料和方法

1.1 材料 δ Wistar 大鼠, 质量 250 ± 20 g, 随机分为: 对照组(control), 仅游离胃脾韧带和腹腔动脉; 缺血/再灌注组(I/R), 夹闭脾动脉造成胰腺体尾部缺血^[3], 30 min后开放, 恢复灌注之前, 经阴茎背静脉注入与实验组等量的生理盐水, 分别于再灌注后0, 2, 4, 6, 12, 24 h处死动物, 并迅速开腹取胰腺; 氨基胍处理组(AG), 缺血30 min后, 恢复灌注之前, 注入盐酸氨基胍溶液, 剂量分别为40, 60, 80 mg/kg, 再灌注4, 6 h后处死动物, 迅速开腹取胰腺. 将胰腺标本分为2部分, 一部分放入40 g/L的 PBS 甲醛溶液中固定, 另一部分深低温冰箱 -70°C 保存. 所采集的血液不经抗凝, $2\ 000$ r/min 离心10 min, 取血清 -20°C 冻存.

1.2 方法 血清中NO水平使用硝酸还原酶法, 特异性将硝酸盐还原为亚硝酸盐得以检测. 血清中的淀粉酶的活性使用碘-淀粉比色法检测. 胰腺组织中cNOS和 iNOS 活性使用 NOS 测定试剂盒分别检测, 以每克组织每分钟生成 $1\ \mu\text{mol}$ NO为一个酶活力单位. 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. 使用特异性抗 iNOS 的第一抗体, 以及SABC试剂盒对石蜡切片染色, 对胰腺组织进行免疫组织化学分析, 观察 iNOS 在胰腺组织种表达的部位.

统计学处理 连续数据以平均值 $\pm$ 标准差(mean $\pm$ SD)表示, 使用 SPSS10.0 软件系统对实验结果进行统计学分析, 各组间差异进行方差分析.

2 结果

2.1 氨基胍对血清NO水平的影响 对照组血清中NO很低. I/R组再灌注4 h后, 血清NO水平明显升高, 达到高峰, 与对照组差异显著($P < 0.01$, 表1);随着再灌注时间延长, NO水平降至正常. AG组中氨基胍剂量为80 mg/kg时, NO水平明显低于I/R-4 h组($P < 0.01$);而与对照组无明显差异($P > 0.05$). 氨基胍剂量为40, 60 mg/kg时, 作用不明显($P > 0.05$, 表2).

2.2 血清淀粉酶活性 I/R组血清淀粉酶均显著升高, 其中以再灌注4 h以后各组升高更为明显(表1). 统计学分析, 对照组和I/R-0 h组之间无差别($P > 0.05$); I/R-4, I/R-6, I/R-12, I/R-24 h各组之间无差异($P > 0.05$). 而(对照组和I/R-0 h组)与(I/R-4, I/R-6, I/R-12, I/R-24 h各组)两大组之间的组间差异具有统计学意义($P < 0.01$). AG组中氨基胍剂量为80 mg/kg时, 血清淀粉酶水平明显低于对应非治疗组($P < 0.01$, 表2).

表1 缺血/再灌注各时段大鼠NO及淀粉酶水平(mean $\pm$ SD)

分组	NO($\mu\text{mol/L}$)	淀粉酶(nKat/L)
Control	30.0 ± 3.5	570 ± 122
I/R		
0 h	35.0 ± 8.5	683 ± 110
2 h	32.6 ± 9.5	4071 ± 362
4 h	123.5 ± 24.3^b	6441 ± 655^b
6 h	26.3 ± 12.3	6326 ± 705
12 h	28.1 ± 5.7	5753 ± 628
24 h	36.1 ± 8.1	6596 ± 435

^b $P < 0.01$ vs Control 组.

表2 氨基胍对大鼠I/R-4h血清NO和淀粉酶水平的影响(mean $\pm$ SD)

	NO($\mu\text{mol/L}$)	淀粉酶(nKat/L)
Control	30.0 ± 3.5	570 ± 122
I/R-4 h	123.5 ± 24.3	6441 ± 655
AG + I/R-4 h		
40 mg/kg	116.3 ± 15.5	6398 ± 395
60 mg/kg	109.5 ± 13.0	4299 ± 462
80 mg/kg	28.8 ± 10.4^b	2852 ± 272^b

^b $P < 0.01$ vs I/R-4 h组.

2.3 胰腺病理改变和组织中 NOS 及 iNOS 的表达 再灌注 6 h 后, I/R 组开始出现胰腺损伤的表现, 如毛细血管扩张, 周围水肿, 静脉扩张并充血(图 1A); 使用氨基胍后, 再灌注 6 h 未见胰腺组织明显损害表现(图 1B). I/R 组再灌注 4 h 后, iNOS 活性显著增强, 高于对照组 ($P < 0.01$). AG 组 (80 mg) iNOS 活性明显低于 I/R-4 h 组 ($P < 0.01$). 各组中 cNOS 均无变化 ($P > 0.05$, 表 3). 再灌注 4 h 后, I/R 组发现 iNOS 强阳性染色, iNOS 的染色主要集中于血管内膜、平滑肌和胰岛细胞的胞质内(图 2A-B); 使用氨基胍后, 组织中未见 iNOS 阳性染色(图 2C).

表3 氨基胍对 NOS 的影响 (mean±SD)

分组	NOS(mKat/L)	cNOS(mKat/L)	iNOS(mKat/L)
Control	120 ± 19	89 ± 17	31 ± 3
I/R-4 h	540 ± 140	101 ± 16	439 ± 127 ^b
I/R-4+AG(80 mg/kg)	126 ± 18	93 ± 15	33 ± 4 ^d

^b $P < 0.01$, vs Control 组; ^d $P < 0.01$, vs I/R-4 h 组.

3 讨论

一氧化氮 (NO) 在生物体内可转化成过氧化亚硝酸盐 ($\cdot\text{ONOO}\cdot$), 是一种氧化性极强且性质非常稳定的自由基, 具有非常强烈的细胞毒性作用^[4]; 在胰腺缺血/再灌注损伤中, NO 是一种重要的炎症因子^[5, 6]. 同时 NO 还有舒张血管, 改善微循环灌流, 保护组织

器官的作用^[7]. 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, 所以有着非常重要的病理作用^[8]. Takacs *et al*^[9] 给大鼠注射 NOS 底物 L-精氨酸, 6 h 后动物血清淀粉酶升高, 12 h 后达到峰值, 同时发现胰腺血管通透性升高, 蛋白渗出, 以及组织损伤等急性胰腺炎的证据; 使用了 NOS 抑制剂 L-NAME 后, 虽然组织损伤未见明显改善, 但淀粉酶水平显著下降, 胰腺水肿减轻. 相应的研究还发现, 重症急性胰腺炎体内 iNOS 活性上调, 胰腺微循环中白细胞黏附的数量及出血坏死型胰腺炎的病理形态改变与胰腺组织内 iNOS 的表达和血中 NO 的水平正相关, 从而指出在胰腺炎的发展过程中 iNOS 和 NO 起着不利的作用^[10-14]. Cuzzocrea *et al*^[15] 利用基因敲除技术建立 iNOS 基因缺陷的小鼠模型, 证实了 iNOS 的表达在急性胰腺炎中起到了重要的致炎作用. Zhou *et al*^[16] 综述了急性胰腺炎中对胰腺微循环有损害作用的影响因素, 指出 NO 同缓激肽、血小板活化因子、内皮素等一起促进了胰腺微循环衰竭的进展. Leindler *et al*^[17] 和 Viola *et al*^[18] 在大鼠胰腺缺血/再灌注模型中发现, 胰腺缺血/再灌注损伤可导致严重的急性出血坏死性胰腺炎, 在这一过程中, 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, 并与细胞凋亡密切相关. McDonald *et al*^[19] 在研究中发现, 钙蛋白酶抑制剂 I 能够减轻胰腺缺血/再灌注损伤引起的机

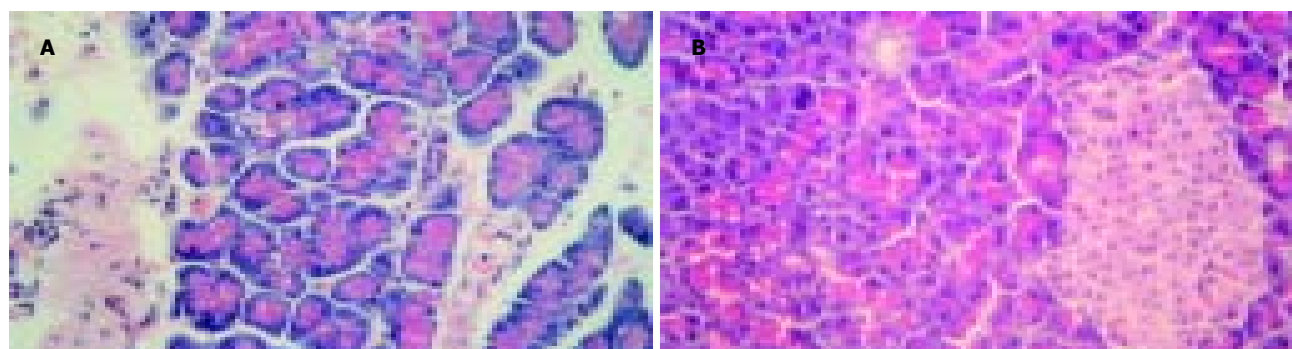


图1 大鼠胰腺 I/R 损伤 HE ×400. A: 再灌注 6 h; B: 氨基胍后再灌注 6 h.



图2 大鼠胰腺 I/R 损伤 iNOS 表达 SABC ×400. A: 再灌注 6 h; B: 再灌注 6 h; C: 使用氨基胍后再灌注 6 h.

体循环衰竭和多脏器功能不全, 其机制可能与防止了NF- κ B和iNOS的表达有关. Duchen综合了以往的文献提出^[20], 在组织器官缺血/再灌注损伤中, 细胞内钙超载与NO的大量产生有关, 他们共同参与了细胞内线粒体膜的破坏, 最终引起细胞死亡. Pi *et al*^[21]和Wakai^[22]发现, 在胰腺保存液中加入腺苷抑制物可以通过减少NO的增加, 从而降低髓过氧化物酶活性和脂过氧化物水平, 减轻了大鼠胰腺移植中的炎症反应. Yamamoto *et al*^[23]建立了狗胰腺缺血/再灌注模型, 发现细胞因子IL-1 β 抑制物对缺血胰腺的保护作用, 当IL-1 β mRNA表达下调时, 胰淀粉酶和胰脂肪酶水平也降低, 胰腺损伤减轻. 而IL-1 β 可诱导iNOS大量表达^[24], 进而他们提出一些致炎细胞因子对胰腺组织的损害与iNOS的过度表达关系密切. 然而, Svensson *et al*^[25]在应用非选择性NOS抑制剂后发现, 抑制NO的合成将造成大鼠本身胰腺和移植胰腺血流量减少; 而提供NOS底物虽然会导致大鼠胰腺形态学上的不良改变, 但可以改善胰腺组织血液灌注^[26]. 其他一些研究者也曾得出过类似结论^[27-30], 他们在大鼠的胰腺移植或胰腺缺血/再灌注模型中发现, 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/再灌注损伤中所起到的作用比较复杂, 尚未得到统一的认识. 经过比较这两类结论相反的研究, 我们发现后者所使用的均为非特异性的NOS抑制物^[27-28], 而且结果多于胰腺再灌注120-240 min后得出^[29-31]. 这说明在胰腺缺血/再灌注过程中, 动物体内NO水平可能存在变化, 因而在不同时段起着不同的作用, 而且NOS的各种亚型对胰腺缺血/再灌注损伤起到作用可能是不一样的. 那么, 随着胰腺恢复灌注时间的延长, 体内NOS和NO发生了什么变化, 对胰腺组织又有怎样的作用呢? 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, 他对iNOS的抑制活性比对eNOS和nNOS分别强500倍和50倍, 而且急性毒性较低, 很有临床应用前景^[11]. 在本实验中, 大鼠胰腺体尾部缺血后再灌注4 h, 内源性开始NO大量产生, 此时iNOS表达在胰腺组织上且活性远高于对照组, 同时发现了急性胰腺炎的证据; 而cNOS没有明显变化. 再灌注期使用选择性iNOS抑制剂氨基胍后, 这些变化都得到改善. 这说明胰腺缺血/再灌注损伤后, 胰腺炎的发生发展与iNOS关系密切. 基于以往的有关文献和本实验的结果可以得出这样的结论, 胰腺缺血/再灌注早期(0-2 h左右), NO主要由cNOS催化产生, 可以起到舒张胰腺血管, 改善微循环血流, 减轻组织水肿和炎症细胞浸润. 但随着再灌注早期的NO大量

消耗, 这种保护作用减弱, 适当补充外源性NO或NOS的底物, 可能延续这种保护作用, 继续发挥舒张血管、缓解移植血管痉挛的作用^[28], 对于缺血/再灌注损伤造成的术后血栓形成及移植后胰腺炎的发生都有一定的预防作用. 而再灌注超过一定时间后(4 h以上), 一些在缺血/再灌注过程中大量表达的炎症递质如TNF- α 、L-1 β 等在分子水平上激活iNOS^[24, 32-33], 使其过量表达, 进一步引起NO浓度异常升高, 使后者作为自由基的细胞毒性充分表现出来, 并掩盖了他在改善微循环方面的保护作用. 因此iNOS和NO成为介导胰腺缺血/再灌注损伤的重要因素, 导致了移植后胰腺炎的发生发展. 使用选择性iNOS抑制剂, 虽然不能阻止炎症递质的产生, 但可以通过抑制iNOS的过量表达, 避免NO的异常增多, 在减少NO细胞毒性的同时, 保留其正常浓度下的有益作用, 减轻胰腺缺血/再灌注损伤, 在胰腺移植中起到保护作用.

4 参考文献

- 1 Sweiry JH, Mann GE. Role of oxidative stress in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1996; 219:10-15
- 2 Benz S, Bergt S, Obermaier R, Wiessner R, Pfeffer F, Schareck W, Hopt UT. Impairment of microcirculation in the early reperfusion period predicts the degree of graft pancreatitis in clinical pancreas transplantation. *Transplantation* 2001;71: 759-763
- 3 Viola G, al-Mufti RA, Sohail M, Williamson RC, Mathie RT. Nitric oxide induction in a rat model of selective pancreatic ischemia and reperfusion. *Hepatogastroenterology* 2000;47: 1250-1255
- 4 Butler AR, Flitney FW, Williams DL. NO, nitrosonium ions, nitroxide ions, nitrosothiols and iron-nitrosyls in biology: a chemist's perspective. *Trends Pharmacol Sci* 1995;16:18-22
- 5 Hotter G, Pi F, Sanz C, Peralta C, Prats N, Gelpi E, Badosa F, Fernandez-Cruz L, Rosello-Catafau J. Endothelin mediated nitric oxide effects in ischemia-reperfusion associated with pancreas transplantation. *Dig Dis Sci* 1998;43:2627-2633
- 6 Peralta C, Hotter G, Closa D, Pi F, Badosa F, Gelpi E, Rosello-Catafau J. Nitric oxide enhances endothelin production in pancreas transplantation. *Pancreas* 1997;14:369-372
- 7 Konturek SJ, Szlachcic A, Dembinski A, Warzecha Z, Jaworek J, Stachura J. Nitric oxide in pancreatic secretion and hormone-induced pancreatitis in rats. *Int J Pancreatol* 1994;15: 19-28
- 8 Mizutani A, Maki H, Torii Y, Hitomi K, Tsukagoshi N. Ascorbate-dependent enhancement of nitric oxide formation in activated macrophages. *Nitric Oxide* 1998;2:235-241
- 9 Takacs T, Czako L, Morschl E, Laszlo F, Tiszlavicz L, Rakonczay Z Jr, Lonovics J. The role of nitric oxide in edema formation in L-arginine-induced acute pancreatitis. *Pancreas* 2002;25:277-282
- 10 Chen HM, Shyr MH, Lau YT, Hwang TL, Chen MF. Leukocyte-endothelial adherence correlates with pancreatic nitric oxide production in early cerulein-induced pancreatitis in rats. *Shock* 1998;10:218-222
- 11 Rahman SH, Ammori BJ, Larvin M, McMahon MJ. Increased nitric oxide excretion in patients with severe acute pancreatitis: evidence of an endotoxin mediated inflammatory response? *Gut* 2003;52:270-274

- 12 Rau B, Bauer A, Wang A, Gansauge F, Weidenbach H, Nevalainen T, Poch B, Beger HG, Nussler AK. Modulation of endogenous nitric oxide synthase in experimental acute pancreatitis: role of anti-ICAM-1 and oxygen free radical scavengers. *Ann Surg* 2001;233:195-203
- 13 Tomaszewska R, Dembinski A, Warzecha Z, Ceranowicz P, Stachura J. Morphological changes and morphological-functional correlations in acute experimental ischemia/reperfusion pancreatitis in rats. *Pol J Pathol* 2000;51:179-184
- 14 Ayub K, Serracino-Inglott F, Williamson RC, Mathie RT. Expression of inducible nitric oxide synthase contributes to the development of pancreatitis following pancreatic ischaemia and reperfusion. *Br J Surg* 2001;88:1189-1193
- 15 Cuzzocrea S, Mazzone E, Dugo L, Serraino I, Centorrino T, Ciccolo A, Van de Loo FA, Britti D, Caputi AP, Thiemermann C. Inducible nitric oxide synthase-deficient mice exhibit resistance to the acute pancreatitis induced by cerulein. *Shock* 2002;17:416-422
- 16 Zhou ZG, Chen YD. Influencing factors of pancreatic micro-circulatory impairment in acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2002;8:406-412
- 17 Leindler L, Morschl E, Laszlo F, Mandi Y, Takacs T, Jarmai K, Farkas G. Importance of cytokines, nitric oxide, and apoptosis in the pathological process of necrotizing pancreatitis in rats. *Pancreas* 2004;29:157-161
- 18 Viola G, al-Mufti RA, Sohail M, Williamson RC, Mathie RT. Nitric oxide induction in a rat model of selective pancreatic ischemia and reperfusion. *Hepatogastroenterology* 2000;47:1250-1255
- 19 McDonald MC, Mota-Filipe H, Paul A, Cuzzocrea S, Abdelrahman M, Harwood S, Plevin R, Chatterjee PK, Yaqoob MM, Thiemermann C. Calpain inhibitor I reduces the activation of nuclear factor-kappaB and organ injury/dysfunction in hemorrhagic shock. *FASEB J* 2001;15:171-186
- 20 Duchon MR. Roles of mitochondria in health and disease. *Diabetes* 2004;53(Suppl 1):S96-102
- 21 Pi F, Badosa F, Sola A, Rosello Catafau J, Xaus C, Prats N, Gelpi E, Hotter G. Effects of adenosine on ischaemia-reperfusion injury associated with rat pancreas transplantation. *Br J Surg* 2001;88:1366-1375
- 22 Wakai A. Effect of adenosine on ischaemia-reperfusion injury associated with rat pancreas transplantation. *Br J Surg* 2002;89:494
- 23 Yamamoto H, Sugitani A, Kitada H, Arima T, Nishiyama Ki, Motoyama K, Shiiba M, Kawano R, Morisaki T, Nakafusa Y, Tanaka M. Effect of FR167653 on pancreatic ischemia-reperfusion injury in dogs. *Surgery* 2001;129:309-317
- 24 Larsen CM, Wadt KA, Juhl LF, Andersen HU, Karlsen AE, Su MS, Seedorf K, Shapiro L, Dinarello CA, Mandrup-Poulsen T. Interleukin-1beta-induced rat pancreatic islet nitric oxide synthesis requires both the p38 and extracellular signal-regulated kinase 1/2 mitogen-activated protein kinases. *J Biol Chem* 1998;273:15294-15300
- 25 Svensson AM, Sandler S, Jansson L. The blood flow in pancreatoduodenal grafts in rats: inhibition of nitric oxide synthase preferentially decreases islet blood flow. *Eur J Pharmacol* 1995;275:99-103
- 26 Dobosz M, Wajda Z, Hac S, Mysliwska J, Bryl E, Mionskowska L, Roszkiewicz A, Mysliwski A. Nitric oxide, heparin and procaine treatment in experimental cerulein-induced acute pancreatitis in rats. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 1999;47:155-160
- 27 Benz S, Obermaier R, Wiessner R, Breitenbuch PV, Burska D, Weber H, Schnabel R, Mayer J, Pfeffer F, Nizze H, Hopt UT. Effect of nitric oxide in ischemia/reperfusion of the pancreas. *J Surg Res* 2002;106:46-53
- 28 Yuan CH, Liu YF, Cheng Y, Zhao N, Li GC, Liang J, He SG. Protective effects of L-arginine on reperfusion injury after pancreaticoduodenal transplantation in rats. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2004;3:349-354
- 29 Vollmar B, Janata J, Yamauchi JI, Menger MD. Attenuation of microvascular reperfusion injury in rat pancreas transplantation by L-arginine. *Transplantation* 1999;67:950-955
- 30 Obermaier R, von Dobschuetz E, Muhs O, Keck T, Drognitz O, Jonas L, Schareck W, Hopt UT, Benz S. Influence of nitric oxide on microcirculation in pancreatic ischemia/reperfusion injury: an intravital microscopic study. *Transpl Int* 2004;17:208-214
- 31 Wolff DJ, Lubeskie A. Aminoguanidine is an isoform-selective, mechanism-based inactivator of nitric oxide synthase. *Arch Biochem Biophys* 1995;316:290-301
- 32 Eberhardt W, Kunz D, Pfeilschifter J. Pyrrolidine dithiocarbamate differentially affects interleukin 1 beta- and cAMP-induced nitric oxide synthase expression in rat renal mesangial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1994;200:163-170
- 33 Oddis CV, Finkel MS. NF-kappa B and GTP cyclohydrolase regulate cytokine-induced nitric oxide production by cardiac myocytes. *Am J Physiol* 1996;270(5 Pt 2):H1864-H1868

编辑 潘伯荣 审读 张海宁