

静脉注射含饱和氢气生理盐水减轻小鼠肾脏缺血再灌注损伤

宋少华 沈筱芸 傅志仁 刘芳 郭闻渊 傅宏 王正昕 丁国善

【摘要】 目的 研究静脉注射含饱和氢气生理盐水对小鼠肾脏缺血再灌注(IR)损伤的保护作用及其机制。方法 健康、雄性的 C57BL/6 小鼠随机分为 3 组,每组 10 只。假手术组(SO 组)小鼠仅接受中线开腹、双侧肾蒂游离及关腹操作;缺血再灌注组(IR 组)小鼠用无损伤动脉夹同时钳夹双侧肾蒂,阻断 45 min,制成肾脏 IR 损伤模型,并于肾脏缺血同时经尾静脉注射生理盐水,5 ml/kg;实验组小鼠制成肾脏 IR 损伤模型,并于肾脏缺血同时经尾静脉注射含饱和氢气生理盐水,5 ml/kg。各组小鼠于肾脏再灌注 6 h 时检测血清尿素氮(BUN)和肌酐(Scr);检测肾组织中丙二醛(MDA)和髓过氧化物酶(MPO)的含量;观察肾脏组织形态学变化并检测肾小管上皮细胞的凋亡情况;观察肾组织中巨噬细胞的浸润情况;检测各组小鼠肾组织中肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素 6(IL-6)、IL-1 β 和 IL-17 mRNA 的水平。结果 实验组血清 BUN 和 Scr 水平明显低于 IR 组($P < 0.05$)。实验组肾组织病理改变较 IR 组明显减轻,其肾小管损伤评分明显低于 IR 组($P < 0.01$),肾小管上皮细胞凋亡明显轻于 IR 组($P < 0.05$)。实验组肾组织内 MDA 含量低于 IR 组($P < 0.05$)。实验组小鼠肾组织内中性粒细胞和巨噬细胞的浸润较 IR 组减少($P < 0.05$)。实验组 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 和 IL-17 mRNA 的水平均低于 IR 组($P < 0.05$)。结论 静脉注射含饱和氢气生理盐水能够在一定程度上减轻肾脏 IR 损伤,其机制可能与抑制肾脏 IR 后炎症反应有关。

【关键词】 氢;氯化钠;再灌注损伤;小鼠;肾

The effects of hydrogen-rich saline on renal ischemia/reperfusion injury in mice SONG Shao-hua*, SHEN Xiao-yun, FU Zhi-ren, LIU Fang, GUO Wen-yuan, FU Hong, WANG Zheng-xin, DING Guo-shan. *Organ Transplantation Center, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China

Corresponding author: FU Zhi-ren, E-mail: zhirenfu@163.com

【Abstract】 **Objective** To evaluate the protective effect of hydrogen-rich saline on renal ischemia/reperfusion (I/R) in mice. **Methods** Thirty C57BL/6 mice were randomly divided into 3 groups: sham-operated (SO) group, I/R group (mice were injected with 5 ml/kg saline by tail vein just before ischemia induction) and hydrogen-rich saline group (mice were injected with 5 ml/kg hydrogen-rich saline). At the 6th h after reperfusion, the sera and renal samples subject to IR injury were collected. The Scr and BUN levels in serum were determined and renal histological changes were also examined. The apoptosis of renal tubular epithelial cells was measured by terminal deoxynucleotidyl transferase mediated dUTP nick end labeling assay. Malondialdehyde (MDA) contents in renal samples were measured using specific kits. The infiltration of F4/80 positive macrophages and neutrophils was assayed by using immunohistochemistry. The mRNA expression of TNF- α , IL-6, IL-1 β and IL-17 was detected by using real time reverse transcription PCR. **Results** As compared with IR group, at the 6th h following reperfusion the levels of Scr and BUN were significantly reduced ($P < 0.05$), histological changes obviously alleviated ($P < 0.01$), apoptosis of renal tubular epithelial cells and MDA contents was decreased ($P < 0.05$) in hydrogen-rich saline group. Moreover, the infiltration of macrophages and neutrophils, and the mRNA expression of TNF- α , IL-6, IL-1 β and IL-17 in renal tissue in hydrogen-rich saline group were also declined as compared with IR group ($P < 0.05$). **Conclusion** Hydrogen-rich saline can ameliorate renal IR injury to some extent, which is associated with inhibition of inflammatory response induced by reperfusion.

【Key words】 Hydrogen; Sodium chloride; Reperfusion injury; Mice; Kidney

DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0254-1785. 2010. 02. 013

作者单位: 200003 第二军医大学长征医院器官移植中心(宋少华、傅志仁、刘芳、郭闻渊、傅宏、王正昕、丁国善); 第二军医大学免疫学研究所(沈筱芸)

通信作者: 傅志仁, E-mail: zhirenfu@163.com

移植肾缺血再灌注(IR)损伤是引起急性肾功能衰竭(ARF)最主要的原因之一^[1]。肾脏 IR 损伤后炎症反应会促进肾脏细胞坏死及凋亡,是始动及促进肾功能损伤的重要机制,并且坏死细胞释放的细胞内毒性成分会进一步加重炎症反应^[2,3]。因此,抑制 IR 诱导的炎症反应可能是减轻肾脏 IR 后 ARF 的有效途径。氢气作为自由基清除剂能够选择性地降低组织和细胞内的活化氧簇,抑制器官再灌注后炎症反应^[4-7]。研究显示,静脉注射含饱和氢气的生理盐水对动物模型的心脏、肠道以及肺脏 IR 损伤均有明显的保护作用^[8-10]。本研究旨在观察静脉注射含饱和氢气的生理盐水对小鼠肾脏 IR 损伤的保护作用,现报告如下。

材料与方 法

一、实验动物

8~10 周龄的健康、雄性 C57BL/6 小鼠(H-2^b),体重为 23~25 g,购于第二军医大学实验动物中心,于无特殊病原体(SPF)级环境饲养,自由进食、饮水。

二、含饱和氢气生理盐水的制备

按 Mao 等^[10]的方法制备,经 γ 射线杀菌。实验使用时新鲜制备,以维持稳定的氢气含量。

三、小鼠肾脏 IR 损伤模型的制作

参照 Basile 等^[11]的方法进行,腹腔注射 10 g/L 戊巴比妥钠(40~45 mg/kg)麻醉小鼠,取腹正中切口暴露双侧肾脏,仔细游离双侧肾蒂,用无损伤动脉夹同时钳夹双侧肾蒂,阻断 45 min 后松开动脉夹。小鼠肾脏颜色在数秒钟内由暗褐色逐渐变为鲜红色,提示血供恢复,再灌注良好。

四、实验分组

用随机数字表法将小鼠分为 3 组,每组 10 只。假手术组(SO 组)小鼠仅接受中线开腹、双侧肾蒂游离及关腹操作,缺血再灌注组(IR 组)小鼠制成肾脏 IR 损伤模型,并于肾脏缺血同时经尾静脉注射生理盐水,5 ml/kg;实验组小鼠制成肾脏 IR 损伤模型,并于肾脏缺血同时经尾静脉注射含饱和氢气生理盐水,5 ml/kg^[9,10]。

五、检测样本的获取

各组小鼠于肾脏再灌注 6 h 时再次麻醉并处死,获取下腔静脉血及肾脏。血液样本于 37 °C 恒温箱静置 1 h,4 °C 冰箱过夜后以 2000 × g 离心 10 min,分离、获取血清,置于 -80 °C 下保存,待用。取部分肾

组织,用体积分数 10 % 甲醛溶液固定,石蜡包埋,用于形态学观察。另取部分肾组织迅速置入液氮中,于 -80 °C 冰箱保存,用于提取核酸及蛋白质。

六、检测指标

1. 各组小鼠肾功能的检测:用 LX20 型自动化分析仪(加拿大和美国 Beckman 公司产品)检测各组小鼠血清尿素氮(BUN)和肌酐(Cr)。

2. 各组小鼠肾组织中丙二醛(MDA)含量的检测:用 MDA 含量检测试剂盒(南京凯基生物科技有限公司产品)进行测定。

3. 各组小鼠肾组织中髓过氧化物酶(MPO)活性的检测:用 MPO 活性检测试剂盒(南京凯基生物科技有限公司产品)进行测定。MPO 为中性粒细胞特异性酶,其活性可以反映肾组织内中性粒细胞的浸润情况。

4. 各组小鼠肾组织中巨噬细胞浸润情况的检测:用免疫组织化学法进行检测。包埋于 TissueTeck 组织冷冻保存液的冰冻肾组织样本切成 4 μ m 薄片,用多聚甲醛固定,100 g/L 牛血清白蛋白(BSA)封闭 1 h,加入大鼠抗小鼠 F4/80 一抗(加拿大及美国 SanDiego 公司产品),4 °C 下孵育过夜,加入 2 % 过氧化氢孵育 10 min(清除内源性过氧化物酶),加入辣根过氧化物酶(HRP)偶联的羊抗大鼠二抗,并加入底物二氨基联苯(DAB)显色。在 $\times 400$ 高倍镜视野(hpf)下计数 F4/80 阳性细胞数,每组检测 4 只小鼠,每只小鼠每个样本计数 5 个视野。

5. 各组小鼠肾组织中炎症介质 mRNA 水平的检测:用实时定量逆转录酶聚合酶链反应(RT-PCR)法测定肾组织内肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素 6(IL-6)、IL-1 β 和 IL-17 mRNA 的水平。取冻存的肾组织约 10 mg,研磨器研磨后,用 Trizol 试剂提取总 RNA。RT-PCR 反应体系中,TNF- α 上游引物为 5'-AAGCCTGTAGCCCACGTCGTA-3',下游引物为 5'-GGCACCCTAGTTGGTTGTCTTTG-3';IL-6 上游引物为 5'-ACAAC CACGGCCTTCCCTACTT-3',下游引物为 5'-CACGATTTCCAGAGAACATGTG-3';IL-1 β 上游引物为 5'-ACACCAGCCTGGCTTCCATC-3',下游引物为 5'-TTGGAGCTGGAGCTGCTTATAGTTG-3';IL-17 上游引物为 5'-GGACTCTC CACCGCAATGA-3',下游引物为 5'-GACCAG GATCTCTTGCTGGA-3';肌动蛋白 β (β -actin)上游引物为 5'-GGCTGTATTCCCCTCCATCG-3',

下游引物为 5'-CCAGTTGGTAACAATGCCATGT-3'。引物由上海生工生物工程有限公司合成, ABI StepOne™ 实时 RT-PCR 仪为美国 Applied Biosystems 公司产品。目的基因 mRNA 表达水平采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算, 并以相应标本内 β -actin mRNA 为基准进行标准化^[12]。

6. 各组小鼠肾组织的形态学观察: 肾组织样本切成 1 cm × 1 cm × 1 cm 小块, 保存于体积分数 10 % 中性甲醛溶液内, 检测时切成 5 μ m 薄片, 行 HE 染色, 于光学显微镜下观察, 按 Jablonski 评分方法分析肾小管上皮细胞的损伤程度^[13]。

7. 各组小鼠肾小管上皮细胞凋亡的检测: 采用原位末端脱氧核糖核酸转移酶介导的 dUTP 缺口末端标记法 (TUNEL) 对肾脏凋亡细胞进行测定。按 S7100 型细胞凋亡检测试剂盒 (美国 Chemicon 公司产品) 说明书操作。计数 × 400 高倍镜视野下 TUNEL 阳性细胞数, 每组检测 4 只小鼠, 每只小鼠每个样本计数 5 个视野。

七、统计学分析

数据应用 SPSS 统计软件 (16.0 版) 分析, 计量资料用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间样本均数的比较采用单因素方差分析, 两组间的比较采用最小显著性差异法 (LSD 检验), $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、各组小鼠肾功能的变化情况

各组小鼠再灌注后 6 h 时血清 BUN 和 Cr 水平见表 1。IR 组血清 BUN 和 Cr 水平明显高于 SO 组 ($P < 0.01$), 实验组血清 BUN 和 Cr 水平明显低于 IR 组 ($P < 0.05$)。

表 1 各组小鼠血清 BUN 和 Cr 水平 ($\bar{x} \pm s$)

| 组 别 | n | Cr (μ mol/L) | BUN (mmol/L) |
|------|---|---------------------------|-------------------------|
| SO 组 | 5 | 59.8 ± 8.1 | 6.3 ± 0.8 |
| IR 组 | 5 | 235.4 ± 28.7 ^a | 20.7 ± 2.5 ^a |
| 实验组 | 5 | 147.8 ± 17.3 ^b | 12.5 ± 1.7 ^b |

注: 与 SO 组比较, ^a $P < 0.01$; 与 IR 组比较, ^b $P < 0.05$

二、各组小鼠肾组织的形态学变化

再灌注 6 h 时, 小鼠肾组织的形态学变化见图 1。SO 组肾小球、肾小管结构清晰, 无明显病变; IR 组可见肾小球轮廓尚清楚, 肾小管上皮细胞出现明显的空泡、滴状变性, 部分上皮细胞坏死、脱落, 基底膜暴露, 大量炎症细胞浸润; 实验组病理改变较 IR

组明显减轻, 部分肾小管上皮细胞缘脱落, 出现空泡, 部分管腔扩张。

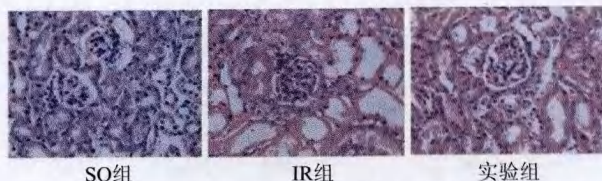


图 1 再灌注 6 h 时小鼠肾脏组织形态学改变 (HE × 400)

各组肾小管损伤的半定量评分结果见图 2。IR 组肾小管损伤评分明显高于 SO 组 ($P < 0.01$), 实验组肾小管损伤评分明显低于 IR 组 ($P < 0.01$)。

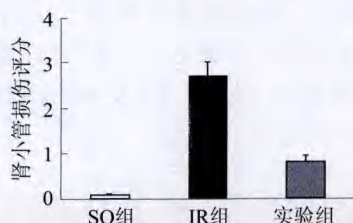


图 2 各组小鼠肾小管损伤评分的比较

三、各组小鼠肾组织中肾小管上皮细胞的凋亡情况

SO 组肾小管上皮细胞无明显凋亡, IR 组存在大量凋亡的肾小管上皮细胞, 实验组肾小管上皮细胞凋亡较 IR 组明显减轻 (图 3)。IR 组每高倍镜视野下凋亡细胞数明显高于 SO 组 ($P < 0.01$), 实验组每高倍镜视野下凋亡细胞数则低于 IR 组 ($P < 0.05$, 图 4)。

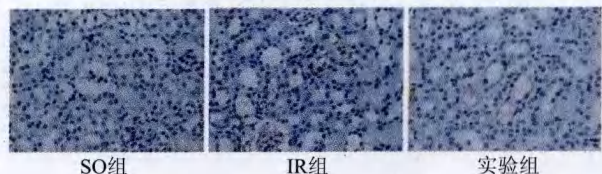


图 3 各组小鼠肾小管上皮细胞凋亡情况 (TUNEL × 400)

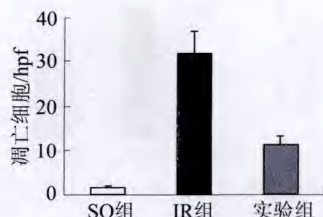


图 4 各组小鼠肾小管上皮细胞凋亡情况的比较

四、各组小鼠肾组织内 MDA 的含量

IR 组肾组织内 MDA 含量明显高于 SO 组 (P

<0.05), 实验组肾组织内 MDA 含量则低于 IR 组 ($P<0.05$, 图 5)。

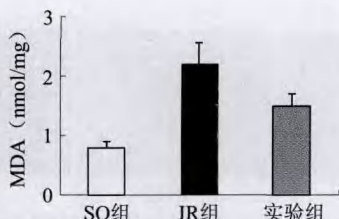


图 5 各组小鼠肾组织内 MDA 含量的比较

五、各组小鼠肾组织内炎症细胞的浸润情况

SO 组小鼠肾组织内仅存少量巨噬细胞(每高倍镜下 4.2 ± 0.5 个细胞), IR 组小鼠肾组织内有大量巨噬细胞浸润(每高倍镜下 45.5 ± 7.2 个细胞), 二者相比, 差异有统计学意义 ($P<0.01$); 实验组小鼠肾组织内每高倍镜下有 18.3 ± 3.8 个巨噬细胞, 明显少于 IR 组 ($P<0.05$, 图 6、7)。

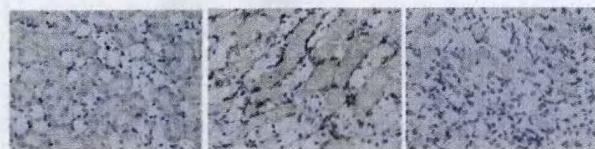


图 6 各组小鼠肾组织巨噬细胞的浸润情况 ($\times 400$)

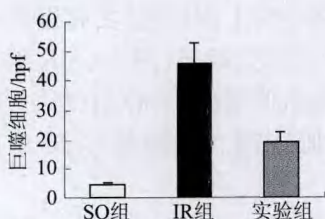


图 7 各组小鼠肾组织巨噬细胞数目的比较

IR 组肾组织内 MPO 活性明显高于 SO 组 ($P<0.05$), 实验组 MPO 活性则低于 IR 组 ($P<0.05$, 图 8)。

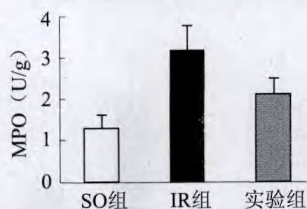


图 8 各组小鼠肾组织 MPO 活性的比较

六、各组小鼠肾组织内炎症介质的表达情况

IR 组肾组织内 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 和 IL-17 mRNA 的表达明显高于 SO 组 ($P<0.01$, $P<0.01$,

$P<0.01$, $P<0.05$), 而实验组上述炎症介质 mRNA 的水平均低于 IR 组 ($P<0.05$, 图 9)。

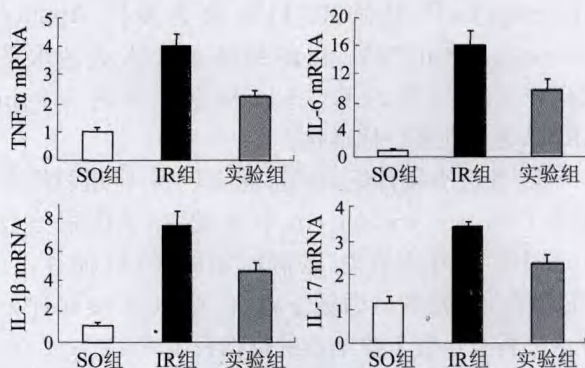


图 9 各组小鼠肾组织内炎症介质的表达情况

讨 论

氢气是电荷中性、较氧气分子更小的分子, 与水溶性抗氧化剂不同, 氢气分子具有更好的生物膜通透性, 更易通过细胞膜进入细胞及细胞器, 尤其是产生活化氧簇的主要细胞器——线粒体。因此, 氢气能够有效地清除活细胞内的羟基, 抑制活化氧簇产生^[4]。MDA 是非饱和脂质过氧化反应的终产物, 其含量能够反映脂质过氧化反应的程度及水平。本研究结果显示, 肾脏 IR 损伤后, 组织内 MDA 含量显著升高, 而注射含饱和氢气生理盐水能降低 MDA 含量, 即能够减轻组织的过氧化损伤。

既往研究显示, 急性炎症反应在器官、组织 IR 损伤中具有重要作用。大量的效应细胞活化并浸润至损伤部位, 产生并分泌大量的炎性介质, 引起局部及全身的器官损伤^[14,15]。巨噬细胞和中性粒细胞在 IR 诱导的炎症反应中扮演至关重要的角色^[16,17]。巨噬细胞引发并加重组织再灌注损伤的机制包括: (1) 在再灌注早期巨噬细胞活化并分泌大量炎性因子^[18]; (2) 在肝脏发生再灌注损伤时, 大量的巨噬细胞浸润会加重微循环障碍。中性粒细胞在再灌注早期即开始向损伤部位浸润, 并于再灌注 24 h 左右达到高峰, 通过释放活化氧簇以及多种蛋白水解酶加重细胞损伤^[19,20]。本研究中, 再灌注 6 h 时 IR 组小鼠肾组织内有大量巨噬细胞浸润, 而实验组巨噬细胞浸润有所减轻。实验组注射含饱和氢气生理盐水后肾组织内 MPO 的活性也有所降低, 即是中性粒细胞的浸润有所减轻。

TNF- α 被认为是再灌注后炎症反应的核心因子之一, 通过 TNF- α 受体信号转导途径诱导多种炎

症介质的基因表达,进而加重炎症反应^[21]。IL-6 和 IL-1 β 是急性炎症反应最重要的介质,参与了炎症时多种细胞活动,包括细胞增殖、分化和凋亡等。与其他组织细胞相比,肾小管上皮细胞表达较高水平的 IL-6 受体,IL-6 与受体结合后活化 Janus 激酶/信号转导子和转录激活子(JAK/STAT)信号通路,促进凋亡相关分子半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶(caspase)-1 及 caspase-3 表达升高,进而诱导肾小管上皮细胞凋亡,而且,巨噬细胞、中性粒细胞和部分 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞亚群也表达 IL-6 受体,再灌注时大量内源性 IL-6 与受体结合后活化此类免疫细胞,促进其向炎症部位聚集,进而加重组织损伤^[22,23]。临床研究也发现,细胞因子 IL-6 和 IL-1 β 对肾脏 IR 损伤有明显的加重作用^[24]。IL-17 在 IR 损伤中的作用逐渐受到研究者重视,Edgerton 等发现 T 淋巴细胞浸润程度与组织损伤呈明显正相关,共聚焦显微技术表明,浸润的 T 淋巴细胞为 IL-17 分泌性 T 淋巴细胞;而 IL-17 合成障碍的 IL-23 基因敲除小鼠,其小肠 IR 损伤明显减轻,进一步研究表明,IL-17 可能介导了 T 淋巴细胞在 IR 损伤中的致病作用^[25]。本研究中,实验组注射含饱和氢气生理盐水处理后,上述炎症介质的表达均低于 IR 组。

参 考 文 献

- [1] Bonventre JV, Zuk A. Ischemic acute renal failure: an inflammatory disease? *Kidney Int*, 2004, 66(2):480-485.
- [2] Daemen MA, de Vries B, Buurman WA. Apoptosis and inflammation in renal reperfusion injury. *Transplantation*, 2002, 73(1):1693-1700.
- [3] Daemen MA, van 't Veer C, Denecker G, et al. Inhibition of apoptosis induced by ischemia-reperfusion prevents inflammation. *J Clin Invest*, 1999, 104(5):541-549.
- [4] Ohsawa I, Ishikawa M, Takahashi K, et al. Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals. *Nat Med*, 2007, 13(6):688-694.
- [5] Cai J, Kang Z, Liu K, et al. Neuroprotective effects of hydrogen saline in neonatal hypoxia-ischemia rat model. *Brain Res*, 2009, 1256:129-137.
- [6] Fukuda K, Asoh S, Ishikawa M, et al. Inhalation of hydrogen gas suppresses hepatic injury caused by ischemia/reperfusion through reducing oxidative stress. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 361(3):670-674.
- [7] Hayashida K, Sano M, Ohsawa I, et al. Inhalation of hydrogen gas reduces infarct size in the rat model of myocardial ischemia-reperfusion injury. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 373(1):30-35.
- [8] Sun Q, Kang Z, Cai J, et al. Hydrogen-rich saline protects myocardium against ischemia/ reperfusion injury in rats. *Exp Biol Med(Maywood)*, 2009, 234(10):1212-1219.
- [9] Zheng X, Mao Y, Cai J, et al. Hydrogen-rich saline protects against intestinal ischemia/reperfusion injury in rats. *Free Radic Res*, 2009, 43(5):478-484.
- [10] Mao YF, Zheng XF, Cai JM, et al. Hydrogen-rich saline reduces lung injury induced by intestinal ischemia/reperfusion in rats. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 381(4):602-605.
- [11] Basile DP, Donohoe D, Cao X, et al. Resistance to ischemic acute renal failure in the Brown Norway rat: a new model to study cytoprotection. *Kidney Int*, 2004, 65(6):2201-2211.
- [12] Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C (T)) Method. *Methods*, 2001, 25(4):402-408.
- [13] Jablonski P, Howden BO, Rae DA, et al. An experimental model for assessment of renal recovery from warm ischemia. *Transplantation*, 1983, 35(3):198-204.
- [14] Zwacka RM, Zhang Y, Halldorson J, et al. CD4(+) T-lymphocytes mediate ischemia/reperfusion-induced inflammatory responses in mouse liver. *J Clin Invest*, 1997, 100(2):279-289.
- [15] Zhai Y, Shen XD, Hancock WW, et al. CXCR3+ CD4+ T cells mediate innate immune function in the pathophysiology of liver ischemia/reperfusion injury. *J Immunol*, 2006, 176(10):6313-6322.
- [16] Day YJ, Huang L, Ye H, et al. Renal ischemia-reperfusion injury and adenosine 2A receptor-mediated tissue protection: role of macrophages. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2005, 288(4):F722-731.
- [17] Jo SK, Sung SA, Cho WY, et al. Macrophages contribute to the initiation of ischaemic acute renal failure in rats. *Nephrol Dial Transplant*, 2006, 21(5):1231-1239.
- [18] Hisama N, Yamaguchi Y, Ishiko T, et al. Kupffer cell production of cytokine-induced neutrophil chemoattractant following ischemia/reperfusion injury in rats. *Hepatology*, 1996, 24(5):1193-1198.
- [19] Heinzelmann M, Mercer-Jones MA, Passmore JC. Neutrophils and renal failure. *Am J Kidney Dis*, 1999, 34(2):384-399.
- [20] Okusa MD. The inflammatory cascade in acute ischemic renal failure. *Nephron*, 2002, 90(2):133-138.
- [21] Colletti LM, Kunkel SL, Walz A, et al. The role of cytokine networks in the local liver injury following hepatic ischemia/reperfusion in the rat. *Hepatology*, 1996, 23(3):506-514.
- [22] Jones SA, Horiuchi S, Topley N, et al. The soluble interleukin 6 receptor: mechanisms of production and implications in disease. *FASEB J*, 2001, 15(1):43-58.
- [23] Nechemia-Arbely Y, Barkan D, Pizov G, et al. IL-6/IL-6R axis plays a critical role in acute kidney injury. *J Am Soc Nephrol*, 2008, 19(6):1106-1115.
- [24] Domanski L, Pawlik A, Safranow K, et al. Purine and cytokine concentrations in the renal vein of the allograft during reperfusion. *Transplant Proc*, 2007, 39(5):1319-1322.
- [25] Edgerton C, Crispin JC, Moratz CM, et al. IL-17 producing CD4+ T cells mediate accelerated ischemia/reperfusion-induced injury in autoimmunity-prone mice. *Clin Immunol*, 2009, 130(3):313-321.

(收稿日期:2009-12-03)