

·基础研究·

## 程序性坏死参与大鼠肠缺血再灌注所致肺损伤的发生

杨 芑<sup>1</sup>, 魏 明<sup>1</sup>, 李 响<sup>1</sup>, 温仕宏<sup>1</sup>, 刘克玄<sup>2</sup>

(1. 中山大学附属第一医院麻醉科, 广东 广州 510080; 2. 南方医科大学南方医院麻醉科, 广东 广州 510000)

**摘 要:**【目的】探讨程序性坏死是否参与肠缺血再灌注所致肺损伤的发病机制。【方法】雄性SD大鼠32只,随机分为4组( $n=8$ ):假手术组(sham组)、肠缺血再灌注组(I/R组)、程序性坏死特异性抑制剂Necrostatin-1组(Nec-1组)和溶剂二甲亚砜组(DMSO组)。采用夹闭肠系膜上动脉1.5 h再灌注6 h的方法制备肠缺血再灌注损伤模型。sham组仅分离血管; Nec-1组及DMSO组分别于夹闭肠系膜上动脉前30 min时腹腔注射Necrostatin-1 11.0 mg/kg或等容量DMSO。于再灌注6 h时取肺组织,测定肺含水率,HE染色后观察肺组织形态学并评分。采用Western blot法和免疫组化法检测受体相互作用蛋白1(RIP1)和受体相互作用蛋白3(RIP3)的表达。【结果】与sham组相比,I/R组和DMSO组的肺组织形态学评分和肺含水率较高( $P < 0.05$ ),Nec-1组组织形态学评分和肺含水率较I/R组和DMSO组明显下降( $P < 0.05$ ),Nec-1组的肺组织含水率与sham组相比无统计学差异( $P > 0.05$ )。Western-blot和免疫组化检测结果显示,I/R组和DMSO组的肺组织RIP1、RIP3的表达上调( $P < 0.05$ ),而Nec-1抑制RIP1及RIP3蛋白的表达( $P < 0.05$ )。【结论】程序性坏死参与了大鼠肠缺血再灌注所致肺损伤,使用RIP1的特异性抑制剂Nec-1可以减轻肺损伤。

**关键词:**肠;再灌注损伤;肺;细胞死亡

中图分类号:R364.1

文献标志码:A

文章编号:1672-3554(2017)03-0321-06

## Necroptosis Involves in Mechanism of Lung Injury Induced by Intestinal Ischemia-Reperfusion

YANG Peng<sup>1</sup>, WEI Ming<sup>1</sup>, LI Xiang<sup>1</sup>, WEN Shi-hong<sup>1</sup>, LIU Ke-xuan<sup>2</sup>

(1. Department of Anesthesiology, The First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China; 2. Department of Anesthesiology, Nanfang Hospital of Southern Medical University, Guangzhou 510000, China)

Corresponding to: LIU Ke-xuan, E-mail: liukexuan705@163.com

**Abstract:** 【Objective】 To explore whether necroptosis is involved in the mechanism of lung injury induced by intestinal ischemia-reperfusion. 【Method】 Thirty-two healthy male Sprague-Dawley rats were randomly assigned into 4 groups ( $n=8$ ): sham operation group (sham group), ischemia/reperfusion group (I/R group), necroptosis inhibitor necrostatin-1 group (Nec-1 group) and solvent dimethyl sulfoxide (DMSO) group (DMSO group). Model of intestinal I/R injury was produced by clamping the superior mesenteric artery for 1.5 h followed by 6 h reperfusion in rats. Necrostatin-1 1.0 mg/kg was administered 30 min before occlusion in Nec-1 group, while the equal volume of DMSO was given instead in DMSO group. The rats were sacrificed at 6 h of reperfusion and the lung tissues were removed for measurement of wet-dry ratio and microscopic examination and scored. The expression of receptor-interacting protein 1 (RIP1) and receptor-interacting protein 3 (RIP3) in lung tissues was detected using Western-blot and immunohistochemistry. 【Result】 Compared with sham group, lung morphology score and wet/dry ratio in I/R, DMSO group raised ( $P < 0.05$ ). Lung morphology score and wet/dry ratio statistically declined in Nec-1 group compared with I/R and DMSO group ( $P < 0.05$ ), while there was no statistical difference of wet/dry ratio between sham group and Nec-1 group ( $P > 0.05$ ). As the result of western-blot and immunohistochemistry showed, the expression of RIP1 and RIP3 was up-regulated in I/R group and DMSO group ( $P < 0.05$ ), which was inhibited by Nec-1 in Nec-1 group ( $P < 0.05$ ). 【Conclusion】 Necroptosis is involved in the mechanism of lung injury induced by intestinal ischemia-reperfusion, and Nec-1, the special inhibitor of RIP1, can reduce the injury.

**Key word:** intestine; reperfusion injury; lung; cell death

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2017, 38(3): 321-326]

收稿日期:2017-01-05

基金项目:国家自然科学基金(81270456)

作者简介:杨芑,博士研究生,主治医师,E-mail ypsums@126.com;刘克玄,通信作者,博士,教授,博士生导师,E-mail liukexuan705@163.com

肠缺血再灌注(ischemic/reperfusion injury, I/R)损伤是临床中常见的组织器官损伤之一,在严重感染、休克、肠梗阻以及体外循环、腹主动脉瘤、小肠移植手术的病理生理演变过程中起重要作用,它不仅引起肠道局部损害,而且还是导致全身器官的损伤的“扳机点”,最终可演变成多器官功能衰竭<sup>[1-2]</sup>。其中以肺损伤引起的ARDS最为突出<sup>[3]</sup>。目前研究认为肠I/R所致肺损伤是肠源性细菌迁移和内毒素血症、中性粒细胞的肺内聚集和激活、细胞因子(如肿瘤坏死因子,TNF)和氧自由基的激活与释放等多因素参与的复杂的病理过程<sup>[4-5]</sup>。传统观念认为,细胞死亡方式有三种,分别是凋亡(apoptosis)、坏死(necrosis)和自噬(autophagy)。近几年一种新的细胞死亡方式——程序性坏死(necroptosis)备受关注。在形态学上,程序性坏死与有害信号强烈刺激造成的被动的坏死没有明显区别,细胞器肿胀崩解,细胞核稍固缩或者裂解,细胞膜完整性严重受损,最终细胞结构消失,但它实际上是由特定的死亡受体介导,受一系列信号分子或蛋白质精细调控,不依赖凋亡蛋白酶(caspase)的可控性细胞死亡方式<sup>[6-7]</sup>。程序性坏死在缺血性损伤、神经退行性疾病、恶性肿瘤等多种人类疾病中发挥重要作用<sup>[7]</sup>。已有文献报导,大鼠肠I/R可导致肠粘膜上皮细胞程序性坏死的发生,抑制程序性坏死可减轻肠损伤<sup>[8]</sup>。也有报导肾缺血再灌注后远隔肺损伤的发病机制中有程序性坏死的参与<sup>[9]</sup>。而在肠I/R致肺损伤机制的研究中,已证实细胞凋亡和自噬参与了肠I/R所致肺损伤的发病机制<sup>[10]</sup>,那么程序性坏死这一细胞死亡方式是否也参与肠I/R所致远隔肺损伤的发生发展呢?本文拟就这一问题进行探讨。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物及分组

SPF级成年健康雄性SD大鼠32只,体质量200~220 g,购自广州中医药大学动物实验中心。术前禁食12 h,自由饮水。采用随机数字表法,将大鼠分为4组( $n=8$ ):假手术组(sham组)、肠缺血再灌注组(I/R组)、程序性坏死特异性抑制剂Necrostatin 1组(Nec-1组)和溶剂二甲基亚砜组(DMSO组)。

### 1.2 动物模型制作

参照文献介绍的方法制备肠缺血再灌注损伤模型。腹腔注射20%乌拉坦0.5 mL/100 g后仰卧位固定于动物实验台,常规消毒,经腹正中切口,分离肠系膜上动脉后用无创微动脉夹夹闭,缝合切口。1.5 h后经原切口进腹,松开微动脉夹恢复血供,缝合伤口并消毒,待动物自然苏醒,放回饲养笼中,自由饮水。sham组进行切开及分离的操作,但不夹闭肠系膜上动脉。Nec-1组和DMSO组分别于缺血前30 min时腹腔注射Nec-1(批号:BML AP309 0020, EnzoLife公司,瑞士)1.0 mg/kg或等容量DMSO(批号:D4540, Sigma公司,美国),其余操作同I/R组。于再灌注6 h处死大鼠,处死后立即分离并摘取双侧肺脏,留取右下肺叶,用40 g/L多聚甲醛溶液固定,常规石蜡包埋、切片,HE染色,光镜下观察肺组织形态学的变化;右中肺叶用做含水率测定,左肺两叶用做Western blot和免疫组化。

### 1.3 观测指标

1.3.1 肺组织形态学评分 肺组织形态学采用盲法评分。标准如下<sup>[9]</sup>:0分,结构正常,没有损伤。1分,轻至中度的间质淤血和中性粒细胞浸润。2分,血管周围水肿形成,部分肺泡结构破坏,中度的细胞浸润。3分,中度肺泡损伤,密集的细胞浸润。4分,严重的细胞浸润和严重的肺泡结构破坏。

1.3.2 肺组织含水率测定 将右中肺叶称质量后放入60℃恒温干燥箱中烘烤72 h后称质量,含水率=(湿质量-干质量)/湿质量。

1.3.3 Western blot检测肺组织RIP1, RIP3表达 取适量肺组织,匀浆,4℃离心后取上清液分装。采用BCA法进行蛋白定量。用10%的分离胶进行SDS-PAGE凝胶电泳。转膜后使用5%脱脂牛奶室温下封闭1 h。分别加入活化的RIP1单克隆一抗(批号:610459, BD bioscience, 美国)、RIP3单克隆一抗(批号:0630-1430, BD bioscience, 美国)和 $\beta$ -actin单克隆一抗(批号:4967, 美国CST),4℃静置孵育过夜。TBST缓冲液室温下洗膜(10 min $\times$ 3)。使用羊抗兔荧光二抗(批号:926-32210, Licor-biosciences公司, 美国)室温下孵育1 h。TBST缓冲液(含0.05% Tween-20的TBS)室温下洗膜(10 min $\times$ 3)。用Odyssey双色红外激光扫描成像系统(Li-COR)扫描PVDF膜。实验结果图片

表 1 肺组织形态学评分和肺组织含水率

Table 1 Lung morphology score and lung wet/ dry ratio

( $\bar{x} \pm s$ )

	Sham group	I/R group	DMSO group	Nec-1 group	F value	P value
Injury score of lung morphology	0.20 ± 0.48	3.40 ± 0.55 <sup>1)2)</sup>	3.00 ± 0.71 <sup>1)2)</sup>	1.60 ± 0.55	32.56	0.00
Wet/dry ratio	0.71 ± 0.02	0.82 ± 0.02 <sup>1)2)</sup>	0.83 ± 0.01 <sup>1)2)</sup>	0.74 ± 0.04	26.47	0.00

1)  $P < 0.05$  vs sham group, 2)  $P < 0.05$  vs Nec-1 group

使用 Image J 软件进行图像处理,测定灰度值。 $\beta$ -actin 作为内参对照。以目的蛋白灰度值与  $\beta$ -actin 灰度值的比值反映目的蛋白表达水平。

1.3.4 免疫组化测定肺上皮细胞 RIP1、RIP3 表达 常规烤片、切片并脱蜡,100%、95%、80%、50%酒精、蒸馏水各 1 min,之后进行抗原修复,PH8.0 的 EDTA 高压修复 2.5 min,然后室温自然冷却。PBST 漂洗 1 min×8。手工分别滴加 RIP1、RIP3 单克隆一抗:37℃孵育 50 min,4℃36 h,常温 1~2 h,再 PBST 漂洗 1 min×8。加 Envision 二抗,37℃孵育 30 min,DAB 显色,自来水洗后复染苏木素 3~5 min,最后 65℃烤 15 min 干封,软件 image-pro plus 处理图像。

#### 1.4 统计学方法

采用 SPSS 19.0 统计学软件进行分析,计量资料以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采用单因素方差分析和 LSD 多重比较, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

### 2.1 肺损伤指标

sham 组肺组织形态未见异常。与 sham 组比较,I/R 组和 DMSO 组的肺组织形态学评分明显升高( $P < 0.05$ ),可见间质水肿明显,大量红细胞浸润,肺泡结构破坏,Nec-1 组所见除间质轻度水肿外,肺泡结构基本正常,但评分与 sham 组比较仍

有统计学差异( $P < 0.05$ ;表 1,图 1A~D)。肺组织含水率方面,4 组间有统计学差异,I/R 组和 DMSO 组高于 sham 组( $P < 0.05$ ),Nec-1 组与 I/R 组和 DMSO 组相比有统计学差异( $P < 0.05$ ),但与 sham 组相比没有统计学差异( $P > 0.05$ ;表 1)。

### 2.2 肺 RIP1 和 RIP3 蛋白定量

与 sham 组比较,I/R 组和 DMSO 组的肺组织 RIP1、RIP3 的表达上调( $P < 0.05$ ),Nec-1 组与 I/R 组和 DMSO 组相比,RIP1 及 RIP3 蛋白的表达下降( $P < 0.05$ ;图 2)。

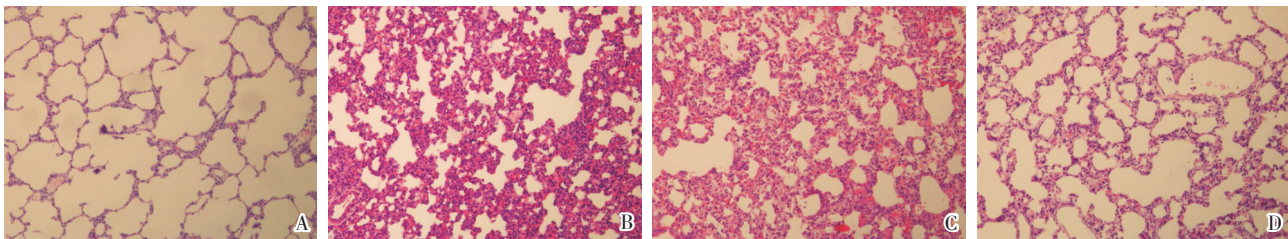
### 2.3 肺 RIP1 和 RIP3 免疫组化染色

与 sham 组比较,I/R 组和 DMSO 组的肺组织 RIP1、RIP3 阳性(棕色)的细胞数增加( $P < 0.05$ ),而使用了 Nec-1 之后,RIP1、RIP3 阳性(棕色)的细胞数较 I/R 组和 DMSO 组下降,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ;图 3、4)。

## 3 讨 论

本研究以肠缺血 1.5 h,再灌注 6 h 之大鼠为模型,选取肺组织形态学评分和肺组织含水率作为评价肺损伤的指标。病理检查发现肠 I/R 后肺血管通透性明显升高,肺组织出现间质水肿、中性粒细胞浸润增加和出血等病理改,形态组织学评分明显升高,肺组织含水率明显增加。表明肠 I/R 确实能引起急性肺损伤,与文献报道一致<sup>[11-13]</sup>。

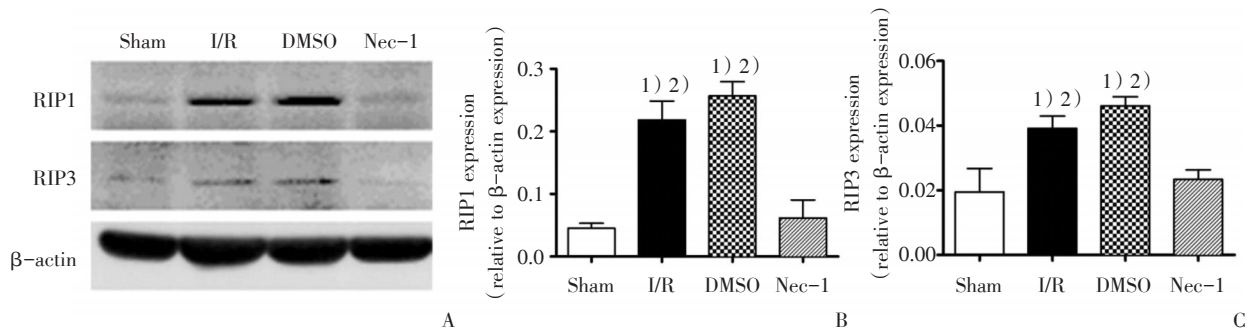
传统观念认为,细胞死亡方式有三种,分别



A: lung morphology in HE staining of sham group, B: I/R group, C: DMSO group, D: Nec-1 group, ×100.

图 1 肺组织 HE 染色图

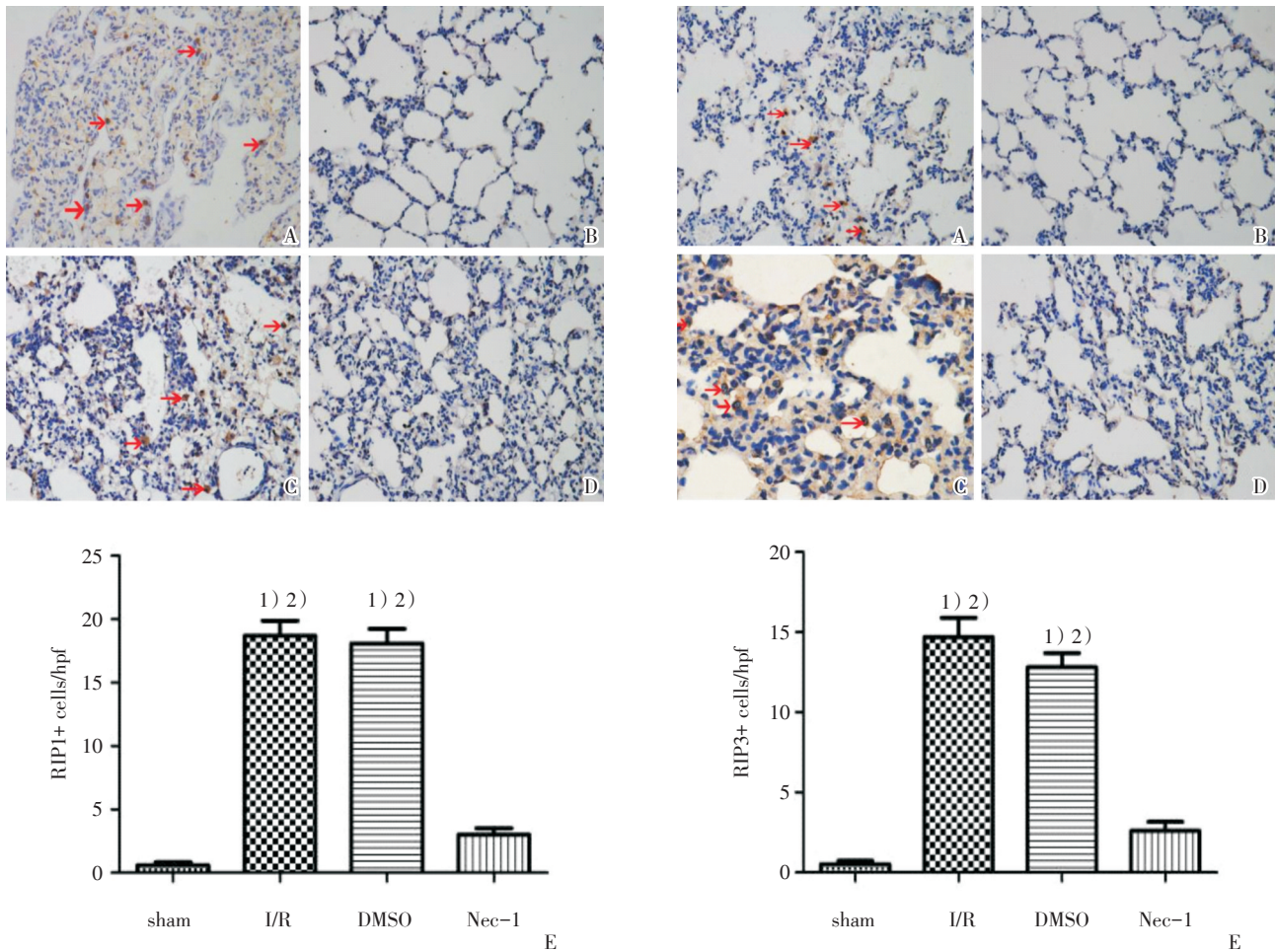
Fig.1 HE staining of lung tissue



Western blot (A) and quantification (B, C) show that the expression of lung tissue RIP1 and RIP3 were significantly up-regulated after intestinal I/R, and reduced by Nec-1. B:  $F = 38.46, P < 0.001$ ; C:  $F = 17.98, P = 0.01$ . 1)  $P < 0.05$  vs sham group; 2)  $P < 0.05$  vs Nec-1 group

图2 肺组织 RIP1 和 RIP3 Western blot 蛋白定量结果

Fig.2 Result of RIP1 and RIP3 expression of lung tissue by western-blot



RIP1 immunohistochemistry staining of lung tissue of I/R group (A  $\times 200$ ), sham group (B  $\times 200$ ), DMSO group (C  $\times 200$ ), and Nec-1 group (D  $\times 200$ ); The brown stained cell is RIP1 positive cell. Result of positive cells counting (E).  $F = 123.19, P = 0.00, 1) P < 0.05$  vs sham group; 2)  $P < 0.05$  vs Nec-1 group.

图3 肺组织的 RIP1 免疫组化染色图

Fig.3 Result of lung tissue RIP1 immunohistochemistry staining

RIP3 immunohistochemistry staining of lung tissue of I/R group (A  $\times 200$ ), sham group (B  $\times 200$ ), DMSO group (C  $\times 400$ ), and Nec-1 group (D  $\times 200$ ); The brown stained cell is RIP3 positive cell. Result of positive cells counting (E).  $F = 78.56, P = 0.00, 1) P < 0.05$  vs sham group; 2)  $P < 0.05$  vs Nec-1 group.

图4 肺组织的 RIP3 免疫组化染色结果

Fig.4 Result of lung tissue RIP3 immunohistochemistry staining

是凋亡、坏死和自噬。程序性坏死的概念最早是由美国华裔女科学家 Yuan 和她的研究团队于 2005 年提出来的<sup>[6]</sup>,在形态学上,程序性坏死与有害信号刺激造成的被动的、意外的细胞坏死没有明显区别,其还具有下述特点:①早期细胞膜完整性严重缺失,核内染色质凝聚;②能引起显著地炎症反应,③不受凋亡抑制剂的影响。进一步的研究发现,多种信号分子和信号通路参与了程序性坏死发生发展的调控,而其中受体相互作用蛋白 1 (receptor-interacting protein 1, RIP1)和受体相互作用蛋白 3 (receptor-interacting protein 3, RIP3)是调控细胞程序性坏死的关键靶点,其扮演着选择启动细胞凋亡或程序性坏死的“分子开关(molecular switch)”角色。在经典的 TNF-TNFR1 的调控通路中, TNF 与肿瘤坏死因子受体 1 (TNFR1)结合后,结构改变的 TNFR1 可募集胞质中的 RIP1 和 RIP3 结合形成坏死小体(necrosome),如果 caspase8 活化同时 RIP1、RIP3 失活,将启动经典的细胞凋亡途径;如果 caspase8 活化受阻,而 RIP1 和 RIP3 被磷酸化,细胞将启动非 caspase 依赖的程序性坏死<sup>[14-15]</sup>。也就是说, RIP1/RIP3 复合物的形成及磷酸化是细胞程序性坏死起始阶段的调控核心和发生标志,多数研究中将此二者的表达增加作为程序性坏死发生的标志。而 Nec-1 正是通过作用于 RIP1/RIP3 激酶并抑制其活性及其相互磷酸化,抑制 RIP1/RIP3 复合体的形成,从而抑制程序性坏死的发生<sup>[16]</sup>。Nec-1 和 RIP1-RIP3 分别作为程序性坏死的特异性阻断剂和特异性分子标志,是目前研究程序性坏死的重要手段,如果某种类型的细胞死亡能被 Nec-1 或 RIP1-RIP3 基因敲除所抑制,那么这种死亡就是程序性坏死。本研究中, I/R 组和 DMSO 组肺组织的 RIP1/RIP3 的表达升高,表明肠 I/R 后的肺组织有程序性坏死的发生。使用了 Nec-1 后,肺组织 RIP1 和 RIP3 的表达水平明显下降。阻断了程序性坏死的发生后肺组织形态学评分和肺组织含水率下降,肺损伤减轻,则更进一步说明,程序性坏死在肠 I/R 后的肺损伤扮演了重要的角色。

肺是肠 I/R 损伤最常见的受损靶器官之一,而肠 I/R 过程中肺损伤的发生机制尚未完全阐明。肠 I/R 时肠局部组织损伤导致一系列炎症介质释放,通过血循环导致肺内炎症与抗炎失衡;肠 I/R 后激活的白细胞,一方面可释放多种蛋白酶和

氧自由基,造成肺结构的破坏和肺血管通透性增加,另一方面,白细胞粘附后又加重肺微循环的无复流(no-reflow)现象,都进一步加重肺损伤。因此,在肠 I/R 所致肺损伤的保护方面,减轻肠道损伤和保护肺组织都是研究者探索的方向。有报导对肠道进行缺血预处理和后处理均可减轻再灌注后的肺损伤<sup>[17-18]</sup>,丙泊酚、七氟烷等药物在对 I/R 的肠道有保护作用的同时<sup>[19-20]</sup>,也对肠 I/R 后的肺组织也有保护作用<sup>[11-12]</sup>。本课题组之前的研究已经证实,肠上皮细胞发生程序性坏死是肠 I/R 损伤的重要因素,且使用 Nec-1 抑制肠上皮细胞程序性坏死在减轻肠 I/R 损伤的同时,可以减少 TNF、白介素-1(IL-1)和高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)等细胞因子的释放<sup>[8]</sup>,本研究中,由于 Nec-1 是在小鼠的腹腔注射吸收进入全身血循环,作用于肠上皮细胞的同时也作用于肺组织细胞,因此推测肺损伤的减轻是肠上皮程序性坏死减轻并由此带来的血循环中炎症因子释放减少,以及肺组织细胞本身程序性坏死发生减少两者的共同作用。

综上所述,本研究通过特异性的分子标志和特异性的阻断剂,证实了程序性坏死参与了肠 I/R 后肺损伤的发生,阻断程序性坏死的发生可以减轻肺损伤,为这一疾病的防治提供了新的靶点。

#### 参考文献:

- [1] Mallick IH, Yang W, Winslet MC, et al. Ischemia-reperfusion injury of the intestine and protective strategies against injury [J]. *Dig Dis Sci*, 2004, 49(9): 1359-1377.
- [2] MacSweeney ST, Postlethwaite JC. 'Second-look' laparoscopy in the management of acute mesenteric ischaemia [J]. *Br J Surg*, 1994, 81(10): 1546.
- [3] Ware LB, Matthay MA. The acute respiratory distress syndrome [J]. *N Engl J Med*, 2000, 342(18): 1334-1349.
- [4] Ito K, Ozasa H, Horikawa S. Edaravone protects against lung injury induced by intestinal ischemia/reperfusion in rat [J]. *Free Radical Biology Medicine*, 2005, 38(3): 369-374.
- [5] Guzel A, Kanter M, Guzel A, et al. Anti-inflammatory and antioxidant effects of infliximab on acute lung injury in a rat model of intestinal ischemia/reperfusion [J]. *J Mol Histol*, 2012, 43(3): 361-369.
- [6] Degtarev A, Huang ZH, Boyce M, et al. Chemical in-

- hibitor of nonapoptotic cell death with therapeutic potential for ischemic brain injury [J]. *Nat Chem Biol*, 2005, 1(2): 112-119.
- [7] Linkermann A, Green R. Necroptosis [J]. *N Engl J Med*, 2014, 370(5): 455-465.
- [8] Wen SH, Ling YH, Yang WJ, et al. Necroptosis is a key mediator of enterocytes loss in intestinal ischaemia/reperfusion injury [J]. *J Cell Mol Med*, 2016, DOI: 10.1111/jcmm.12987.
- [9] Zhao H, Ning J, Lemaire A, et al. Necroptosis and parthanatos are involved in remote lung injury after receiving ischemic renal allografts in rats [J]. *Kidney int*, 2015, 87(4): 738-748.
- [10] 解春艳, 李云峰, 梁江水, 等. 右美托咪定对肠缺血再灌注肺损伤中自噬与凋亡的影响 [J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2015, 38(10): 761-764.
- Xie CY, Li YF, Liang JS, et al. The effect of dexmedetomidine on autophagy and apoptosis in intestinal ischemia reperfusion-induced lung injury [J]. *Chin J Tuberc Respir Dis*, 2015, 38(10): 761-764.
- [11] Zhao W, Zhou S, Yao W, et al. Propofol prevents lung injury after intestinal ischemia-reperfusion by inhibiting the interaction between mast cell activation and oxidative stress [J]. *Life Sci*, 2014, 108(2): 80-87.
- [12] Luo C, Yuan D, Zhao W, et al. Sevoflurane ameliorates intestinal ischemia-reperfusion induced lung injury by inhibiting the synergistic action between mast cell activation and oxidative stress [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(1): 1082-1090.
- [13] Hirano Y, Aziz M, Yang WL, et al. Neutralization of osteopontin ameliorates acute lung injury induced by intestinal ischemia-reperfusion [J]. *Shock*, 2016, 46(4): 431-438.
- [14] Vandenabeele P, Galluzzi L, Vanden Berghe T, et al. Molecular mechanisms of necroptosis: an ordered cellular explosion [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2010, 11(10): 700-714.
- [15] Cho YS, Challa S, Moquin D, et al. Phosphorylation-driven assembly of the RIP1-RIP3 complex regulated programmed necrosis and virus induced inflammation [J]. *Cell*, 2009, 137(6): 1112-1123.
- [16] Han W, Xie J, Li L, et al. Necrostatin-1 reverts shikonin-induced necroptosis to apoptosis [J]. *Apoptosis*, 2009, 14(5): 674-686.
- [17] 李太勇, 李曙平, 张瞿璐. 缺血预处理对大鼠肠缺血再灌注诱发肺损伤的保护作用 [J]. *华南国防医学杂志*, 2011, 25(2): 107-110.
- Li TY, Li SP, Zhang QL. Protective Effect of Ischemic Preconditioning on Lung Injury Induced by Intestinal Ischemia/Reperfusion in Rats [J]. *Mil Med J S Chin*, 2011, 25(2): 107-110.
- [18] 褚薇薇, 聂蕾, 和新盈, 等. 后处理对肠缺血-再灌注大鼠肺组织凋亡相关基因表达的影响 [J]. *中国病理生理杂志*, 2010, 26(9): 1786-1789.
- Chu WW, Nie L, He XY, et al. The effect of postconditioning on apoptosis-related gene expression of lung tissues in rat intestinal ischemia-reperfusion [J]. *Chin J Pathophysiol*, 2010, 26(9): 1786-1789.
- [19] Liu KX, Chen SQ, Huang WQ, et al. Propofol pretreatment reduces ceramide production and attenuates intestinal mucosal apoptosis induced by intestinal ischemia/reperfusion in rats [J]. *Anesth Analg*, 2008, 107(12): 1884-1891.
- [20] Liu C, Shen Z, Liu Y, et al. Sevoflurane protects against intestinal ischemia-reperfusion injury partly by phosphatidylinositol 3 kinases/Akt pathway in rats [J]. *Surgery*, 2015, 157(5): 924-933

(编辑 徐杰)