

无心跳供肾模型大鼠的安全热缺血时限**

戴晨, 李素华, 刘健

Safe duration limits of tolerance to warm ischemia of kidney grafts from non-heart-beating donor rats

Dai Chen, Li Su-hua, Liu Jian

Abstract

BACKGROUND: Recently, non-heart-beating donor has become the most potential source of transplant donors. At present, the research reports on safe duration limits of tolerance to warm ischemia of kidney grafts differ significantly, much less reach the theoretical perspective of safe duration limits.

OBJECTIVE: To investigate the establishment of kidney transplantation model of non-heart-beating donors in rats and to explore the safe duration limits of tolerance to warm ischemia of the donor.

METHODS: Rat medulla oblongata was broken to establish the kidney transplantation model of non-heart-beating donors in rats. The rats were divided into four groups according to the warm ischemia time (0, 10, 30 and 60 minutes). Changes of histopathology and malondialdehyde content in kidney off-body with different warm ischemia time were observed.

RESULTS AND CONCLUSION: Under light-microscopy, renal pathological changes were reversible within 30 minutes of warm ischemia. Along with the extension of warm ischemia time, pathological changes developed towards irreversible direction. The malondialdehyde contents in the groups of 10, 30 and 60 minutes warm ischemia were increased than that in the group without warm ischemia ($P < 0.05$). The malondialdehyde contents in the groups of 30 and 60 minutes warm ischemia were significantly increased than that in the 10 minutes warm ischemia group ($P < 0.05$). There was no significant difference in malondialdehyde content between the groups of 30 and 60 minutes warm ischemia ($P > 0.05$). These findings indicate that the kidney transplantation model of non-heart-beating donors was established successfully by breaking the medulla oblongata. On that basis, the safe duration limits of tolerance to warm ischemia of kidney grafts from non-heart-beating donor is determined as 30 minutes according to the pathological results and malondialdehyde content changes in donor kidneys.

Department of Nephrology, the First Teaching Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Dai Chen★, Studying for master's degree, Department of Nephrology, the First Teaching Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China mimose1986@sina.com

Dai C, Li SH, Liu J. Safe duration limits of tolerance to warm ischemia of kidney grafts from non-heart-beating donor rats. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2012;16(5): 813-817. [http://www.crter.cn http://en.zgckf.com]

Correspondence to: Liu Jian, Professor, Chief physician, Master's supervisor, Department of Nephrology, the First Teaching Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China jianliu@medmail.com

Supported by: the Natural Science Foundation of Xinjiang Uygur Autonomous Region, No. 2011211A058*

Received: 2011-08-20 Accepted: 2011-10-13

摘要

背景:近年来心脏停搏供体已然成为最有潜力的移植供体来源。目前有关于供肾安全热缺血期的时限研究各报道差异较大,更未上升到安全时限的理论高度。

目的:探讨建立大鼠无心跳供肾模型的实验方法,并分析此供体耐受热缺血的安全时限。

方法:采用断髓法建立大鼠无心跳供肾模型,并按肾移植供体经历的热缺血时间0, 10, 30, 60 min 将其分为4组。观察离体肾脏经过不同热缺血期后,供肾的组织病理学及肾组织丙二醛含量变化。

结果与结论:光镜下观察,热缺血30 min 以前,肾脏病理改变为可逆性改变,随着热缺血时间的延长病理改变向着不可逆方向发展。与无热缺血期比较,热缺血10 min 组、30 min 组及60 min 组的丙二醛含量均有所升高($P < 0.05$);与热缺血10 min 组比较,热缺血30 min 组及60 min 组丙二醛含量明显升高($P < 0.05$);但热缺血30 min 与60 min 组差异无显著性意义($P > 0.05$)。提示可成功采用断髓法建立无心跳供肾模型,并在此基础上,结合供肾的病理结果和肾组织丙二醛含量变化,综合评定无心跳供肾所能耐受的安全热缺血时限为30 min。

关键词:心脏停搏供体;肾移植;热缺血;安全时限;大鼠

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2012.05.013

戴晨, 李素华, 刘健. 无心跳供肾模型大鼠的安全热缺血时限[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(5):813-817. [http://www.crter.org http://cn.zgckf.com]

0 引言

肾移植是治疗终末期肾脏病的最佳方法。近年来,供肾不足与等待肾移植的患者剧增的供求矛盾日益突出,据统计,国内每年有150万人等待肾移植,而能够接受肾移植的人不到1万人。只有扩大供体来源才能够缓解供需矛盾,因此,无心跳供体的利用再次成为器官移植的研究热点。本课题通过对大鼠无心跳供体动物

模型的建立和研究,来探讨可以用于肾移植的无心跳供体的安全热缺血期。

1 材料和方法

设计:完全随机设计,动物实验。

时间及地点:于2010-11-15/2011-05-20在新疆医科大学第一附属医院实验动物科学研究所动物实验中心完成。

材料:清洁级雄性SD大鼠16只,体质量

新疆医科大学第一附属医院肾病科, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市830000

戴晨★, 女, 1986年生, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市人, 汉族, 新疆医科大学在读硕士生, 主要从事肾脏保存液方面的研究。
mimose1986@sina.com

通讯作者: 刘健, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 新疆医科大学第一附属医院肾病科, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市830000
jianliu@medmail.com

中图分类号: R318
文献标识码: A
文章编号: 1673-8225(2012)05-00813-05

收稿日期: 2011-08-20
修回日期: 2011-10-13
(20110804016/G·LX)

(230±10) g, 由新疆医科大学实验动物中心提供, 国际实验动物评估和认可委员会(AAALAC)编号: 001279, 实验动物生产许可证号: SCXK(新)2003-0001。实验过程中对动物处置符合动物伦理学要求。

主要实验试剂: 氯胺酮、地西洋、阿托品等麻醉药品、肝素钠、生理盐水等由新疆医科大学实验中心提供。丙二醛以及考马斯亮蓝法蛋白测定试剂盒由南京建成生物工程研究所提供。

方法:

实验分组: 16只大鼠按随机数字表法分为4组, 在供肾获取前分别经心脏停搏的时间分别为0 min(WI-0), 10 min(WI-10), 30 min(WI-30), 60 min(WI-60), 而后用4 °C生理盐水进行原位灌注并留取标本。每组4只大鼠, 按肾脏计数样本量(n=8)。

手术方法:

断延髓法建立大鼠无心跳供肾模型: 将大鼠经腹腔麻醉全麻(剂量7.5 mL/kg), 钳夹大鼠尾部无疼痛反应, 说明麻醉成功。将大鼠仰卧位固定于手术台上, 常规腹部手术区域消毒, 用手术剪沿腹部正中线剪开皮肤, 沿腹白线剪开腹肌全层, 暴露两侧肾脏, 分离肠系膜上动脉并备线结扎, 接着分离腹主动脉及下腔静脉的上端并备线以备后续结扎, 在分离下腔静脉的上端时靠近膈顶, 在门静脉下端备线; 分离并结扎左肾上腺动脉, 游离双侧肾脏的动静脉及双侧输尿管上端, 轻度剥离肾周组织。经阴茎背动脉注入肝素钠1 500 U, 等待5~10 min之后, 即达到全身肝素化, 将大鼠颈背部皮肤消毒, 并使用一次性针头刺入大鼠枕骨大孔(定位于大鼠颅骨下方3~5 mm与颈部交界处), 损毁其延髓, 之后立刻用秒表计时, 触摸法确认大鼠心脏停跳后, 立即在胸骨剑突处剪开一侧胸腔, 证实心脏完全停跳后停止计时, 该时段为由脑死亡导致心脏停跳的时间, 简称心脏停跳时间。直视下心脏停跳, 并且呼吸停止, 大鼠角膜反射及疼痛反射消失, 说明大鼠无心跳供体建模成功。

实验操作: 大鼠经腹全麻, 取仰卧位, 固定四肢, 常规腹部手术区域消毒, 切开腹部, 充分显露双侧肾血管、输尿管, 及腹主动脉和下腔静脉。游离双侧肾血管、输尿管及肾周组织。器官游离完成后, 经阴茎背动脉注入肝素钠1 500 U, 全身肝素化, 之后用一次性针头刺入枕骨大孔处捣毁延髓, 确认心跳停止后, 开始

计算热缺血期, 在相应的热缺血时段(0, 10, 30, 60 min)到时时, 开始进行双侧肾脏的原位灌洗, 采用4 °C生理盐水进行灌洗, 压力为2.66~3.32 kPa, 灌注直至肾静脉流出清亮液体, 肾脏均质苍白, 表明灌注完全, 取下双侧肾脏。放入体积分数10%的甲醛溶液中保存48 h, 送免疫组化室进行包埋、切片、苏木精-伊红染色。光镜下观察其组织形态学变化。并取肾脏组织制成10%组织匀浆, 检测肾脏组织的细胞氧化损伤程度。

主要观察指标:

肾脏组织病理: 通过光镜下直观的观察肾脏组织的病理改变, 取新鲜肾组织用40 g/L多聚甲醛固定后依次进行脱水、透明、浸蜡, 制备石蜡切片, 进行苏木精-伊红染色后常规光镜下观察。肾脏缺血性损伤的形态学评价按照1983年Jablonski等^[1]制定的根据近曲小管坏死程度分级标准分为5级: 0级为正常; 1级为单个细胞的坏死伴核分裂; 2级为相邻近曲小管所有细胞的坏死但周围小管存活; 3级为限于近曲小管远端1/3细胞的坏死并扩展到皮质和髓质交界处; 4级为近曲小管整段坏死。

肾组织丙二醛测定: 取0.3 g肾组织制备成1%的组织匀浆, 采用考马斯亮兰法检测蛋白含量, 最后用硫代巴比妥酸法测定并计算丙二醛含量。

统计学分析: 实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用SPSS 18.0统计软件进行数据处理。多组间计量资料采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示差异有显著性意义。

2 结果

2.1 实验动物数量分析 共纳入16只大鼠, 均建模成功, 按照肾脏个数计数样本量, 共分4组, 每组4只大鼠, 样本量为8只。均进入结果分析, 无脱失。

2.2 造模结果 与WI-0比较, WI-10、WI-30、WI-60的大鼠体质量、心脏停跳时间(即断延髓法建立无心跳模型的时间段), 肾脏灌注时间差异无显著性意义($P > 0.05$), 见表1。

2.3 肾脏组织病理观察结果 光镜下可见肾小管上皮细胞水肿, 刷状缘消失, 细胞变性、坏死、脱落, 间质中性粒细胞浸润, 无明显肾小球累及。

镜下见WI-0组在200倍光镜下, 肾皮质及髓质肾小球、肾小管细胞未见明显异常, 显示

仅在肾脏皮髓交界处可见肾小管上皮细胞排列整齐, 仅出现细胞轻度细胞水肿, 未见炎症细胞浸润, 未见间质充血。**400倍光镜下**, 观察肾小管上皮细胞细胞质内胞浆稍疏松, 细胞核未见异常。损伤分级以**0级**为主。

表 1 各组大鼠造模情况
Table 1 Experimental data of rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)

| Group | Weight (g) | Cardiac arrest time (s) | Renal perfusion time (s) |
|-------|--------------|-------------------------|--------------------------|
| WI-0 | 342.25±55.58 | 126.50±23.24 | 521.25±7.91 |
| WI-10 | 329.00±16.32 | 113.75±21.57 | 497.50±24.01 |
| WI-30 | 301.00±46.04 | 110.75±29.67 | 503.50±45.01 |
| WI-60 | 322.25±17.41 | 120.50±11.53 | 499.00±14.60 |
| F | 0.523 | 0.788 | 1.349 |
| P | 0.670 | 0.511 | 0.278 |

WI-0: 0 min warm ischemia group; WI-10: 10 min warm ischemia group; WI-30: 30 min warm ischemia group; WI-60: 60 min warm ischemia group

WI-10组在**200倍光镜下**, 肾脏皮质、髓质肾小管上皮细胞轻度水肿, 肾脏皮髓交界区肾小管上皮细胞透亮度增加, 细胞排列整齐, 轻度空泡变性, 肾小管上皮细胞水肿, 未见炎细胞浸润, 未见间质充血。**400倍光镜下**, 皮髓交界区肾小管上皮细胞轻度水肿, 刷状缘轻度、少量脱落, 连续性稍差, 胞浆疏松, 透亮度增加。基底膜完好, 细胞极性可。细胞核未见异常。损伤分级以**1级**为主。

WI-30组在**200倍光镜下**, 肾脏皮质、髓质肾小球及肾小管细胞中度水肿, 肾脏皮髓交界区肾小管上皮细胞透亮度较前增加, 细胞极性稍差, 空泡变性较前稍重, 肾小管上皮细胞水肿, 未见炎细胞浸润, 间质轻度充血。**400倍光镜下**, 皮髓交界处肾小管上皮细胞水肿加重, 轻度红色颗粒样变性, 肾小管上皮细胞刷状缘多点出现轻度脱落, 但未出现片状脱落至管腔的现象。细胞极性尚可, 细胞核未见浓缩、碎裂、消失。肾小管基底膜连续性良好, 管腔内未见蛋白管型。损伤程度以**3级**为主, 伴有**2级**损伤。

WI-60组在**200倍光镜下**, 肾脏皮质、髓质肾小球及肾小管细胞重度水肿, 肾脏皮髓交界区肾小管上皮细胞透亮度增加明显, 肾小管上皮细胞结构破坏严重, 细胞极性消失, 肾小管上皮细胞严重水肿, 未见明显炎症细胞浸润, 间质充血。**400倍光镜下**, 皮髓交界处肾小管上皮细胞重度水肿, 肾小管上皮细胞刷状缘片状脱落, 并脱落至管腔。细胞极性消失, 并出现部分肾小管上皮细胞的脱落。基底膜连续性被破坏, 管腔内可见脱落的片状刷状缘及少量半脱落肾小管上皮细胞。以**4级**肾小管损伤为主, 伴发**3级**损伤, 损伤呈不可逆性改变。

肾脏病理学观察发现热缺血**30 min**前, 肾小管损伤为可逆性, 随无心跳热缺血时间的延长病理改变向不可逆方向发展, 见图1~4。

Figure 1 Histopathological image of rat renal tissue in 0 min warm ischemia group (Hemotoxylin and eosin staining, $\times 400$)

图 1 无热缺血组大鼠肾脏组织病理观察结果(苏木精-伊红染色, $\times 400$)

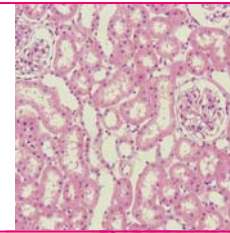


Figure 2 Histopathological image of rat renal tissue in 10 min warm ischemia group (Hemotoxylin and eosin staining, $\times 400$)

图 2 热缺血 10 min 组大鼠肾脏组织病理观察结果(苏木精-伊红染色, $\times 400$)

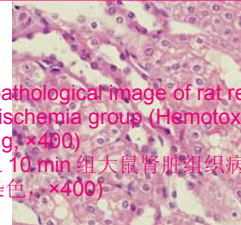


Figure 3 Histopathological image of rat renal tissue in 30 min warm ischemia group (Hemotoxylin and eosin staining, $\times 400$)

图 3 热缺血 30 min 组大鼠肾脏组织病理观察结果(苏木精-伊红染色, $\times 400$)

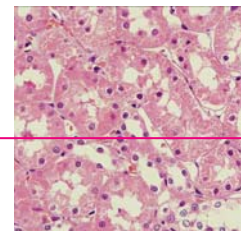
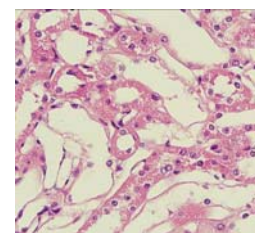


Figure 4 Histopathological images of rat renal tissue in 60 min warm ischemia group (Hemotoxylin and eosin staining, $\times 400$)

图 4 热缺血 60 min 组大鼠肾脏组织病理观察结果(苏木精-伊红染色, $\times 400$)



2.4 肾组织丙二醛含量变化 与WI-0组比较, WI-10组大鼠肾组织的丙二醛含量均有升高, 但差异无显著性意义($P>0.05$); WI-30组和WI-60组与WI-0组比较, 丙

二醛含量明显升高, 且差异具有显著性意义($P < 0.05$), 见表2。

表2 各组大鼠肾组织丙二醛含量的比较
Table 2 Malondialdehyde contents in rat renal tissue
($\bar{x} \pm s$, $n=8$, $\mu\text{mol/g}$)

| Group | Malondialdehyde |
|-------|-------------------------|
| WI-0 | 1.05±0.79 |
| WI-10 | 1.47±1.90 ^a |
| WI-30 | 2.60±1.90 ^{ab} |
| WI-60 | 2.51±1.42 ^{ab} |
| F | 193.168 |
| P | 0.000 |

^a $P < 0.05$, vs. WI-0; ^b $P < 0.05$, vs. WI-10; WI-0: 0 min warm ischemia group; WI-10: 10 min warm ischemia group; WI-30: 30 min warm ischemia group; WI-60: 60 min warm ischemia group

3 讨论

心死亡供体指心跳呼吸停止、器官处于无血供状态的供者。心死亡供体分为可控制型和不可控制型^[2]。前者指器官切取小组有计划地撤掉生命支持设备, 供者循环骤停, 开始获取器官, 它的特点是器官损伤较小, 移植受者远期预后与脑死亡供体的无差异。后者指心肺复苏失败, 心脏骤停在不可控制的情况下发生, 或者供者在前往医院途中死亡, 该型特点为供者器官热缺血时间长、移植后远期预后较差、移植后并发症发生率高。随着移植水平的不断提高, 供肾短缺成为阻碍肾移植瓶颈, 心死亡供体再次为移植事业带来曙光, 成为研究焦点^[3-6]。

Rudich等^[7]研究报道, 控制型和非控制型心死亡供体肾移植短期和长期效果与其他类型供者接近, 6年移植存活率为73.2%。但也有中心报道应用此类供肾由于不可控制的热缺血时间, 以及随后的低温保存和再灌注损伤, 常导致移植后移植体失功或者功能不良发生率增高, 术后早期肾功能差, 移植体生存率降低等问题^[8-9]。因此, 对于无心跳供体达到更安全有效的应用仍需克服诸多问题。

目前, 国外有van den Eijnden等^[10]专家关于无心跳供体肾移植模型建立的研究报道, 国内有关于无心跳供体大鼠肝移植模型建立的研究报道^[11-14], 国内还有研究无心跳供体肺移植模型的研究报道^[15-19], 以及无心跳供体心脏移植模型的研究报道^[20]。但国内未见无心跳供体肾移植模型的建立, 且目前建立无心跳供体的主要方法为夹闭心脏基底部造成急性的心脏停跳。但是, 这种心脏停跳方式并不符合临床心死亡供体在心脏停跳前后的血液流变学的变化。临床上, 能够被用于器官移植的心死亡供体, 主要是可控性心脏死亡供体^[21-22], 这种供者多是被诊断为脑死亡患者, 需依靠呼吸机等辅助设备维系呼吸

心跳, 随时会出现心脏骤停, 一旦心脏骤停, 心肺复苏亦不能恢复心脏跳动, 这类供者虽然为心脏死亡供体, 但由于可知且较短的热缺血期, 被认为可以安全应用于临床^[23]。为此, 作者模拟临床可控性心脏停跳供者死亡过程, 通过断延髓法, 捣毁其生命中枢, 造成脑死亡, 不进行体外呼吸循环支持, 造成脑死亡诱导的心脏停跳更加贴近临床, 符合实际情况下心脏停跳供体的生理病理过程。

热缺血所造成的损伤直接影响供体器官的活力及移植后功能的恢复^[24-27]。然而在存在热缺血损伤的情况下, 如何评估供体器官的活力及供体耐受热缺血的安全时限的研究仍需要进一步的探索。

本实验通过大鼠动物实验, 模拟脑死亡诱导产生的心脏死亡过程, 即可控型心死亡供体, 对比观察在不同热缺血时间下, 结合肾脏组织病理改变程度及肾小管上皮细胞脂质过氧化程度, 来反映肾脏组织的活力及损伤程度。实验发现, 病变部主要在皮质和髓质交界处的肾小管上皮细胞, 损伤程度呈现时间依赖性, 随着时间的延长, 肾小管上皮细胞出现细胞水肿, 刷状缘的脱落、消失, 甚至基底膜的断裂。随着热缺血时间的延长, 肾小管损伤程度加重, 30 min及30 min热缺血以前, 肾小管上皮细胞的损伤以3级为主, 伴有部分2级损伤, 仍以可逆性病变为主。热缺血60 min, 肾小管上皮细胞基底膜的连续性遭到严重破坏, 即肾小管上皮细胞不可再生, 损伤呈现不可逆性。丙二醛为多不饱和脂肪酸过氧化物的降解产物, 当生物体内出现缺血、缺氧等损伤, 自由基作用于脂质发生过氧化反应, 其反应终产物丙二醛, 会引起蛋白质、核酸等生命大分子的交联聚合。在肾脏的缺血再灌注中, 丙二醛在一定程度上能够反映机体内氧自由基的代谢和脂质过氧化损伤程度^[28-30]。通过对供肾组织匀浆丙二醛含量的测定, 同样发现, 随着时间的推移, 肾小管上皮细胞的损伤呈现时间依赖性, 与WI-0组相比, WI-30组和WI-60组的丙二醛含量明显升高, 且差异具有显著性意义, 说明30 min以后, 肾小管上皮细胞脂质过氧化损伤的程度加重, 并且向不可逆的方向发展。

故本实验显示, 综合肾脏组织病理改变程度及肾小管上皮细胞脂质过氧化程度, 综合评定无心跳供肾所能耐受的安全热缺血时限为30 min。

4 参考文献

- [1] Jablonski P, How den BO, Rae DA, et al .An experimental model for assessment of renal recovery from warm ischemia. *Transplantation*. 1983;35(3):198-204.
- [2] Koostra G.The asystolic, or non-heart beating, donor. *Transplantation*.1997;63:917-921.
- [3] Cohen B, Smits JM, Haase B, et al. Expanding the donor pool to increase renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant*. 2005; 20(1):34-41.
- [4] Abt PL, Fisher CA, Singhal AK.Donation after cardiac death in the US: history and Use. *J Am Coll Surg*. 2006;203: 208-225.

- [5] Botha P, Rostron AJ, Fisher AJ, et al. Current strategies in donor selection and management. *Semin Thorac Cardiovasc Surg.* 2008;20: 143-151.
- [6] Ethics Committee, American College of Critical Care Medicine; Society of Critical Care Medicine. Recommendations for non-heart-beating organ donation. A position paper by the Ethics Committee, American College of Critical Care Medicine, Society of Critical Care Medicine. *Crit Care Med.* 2001;29(9):1826-1831.
- [7] Rudich SM, Kaplan B, Magee JC, et al. Renal transplantations performed using non-heart-beating organ donors: going back to the future? *Transplantation.* 2002;74: 1715-1720.
- [8] Weber M, Dindo D, Demartines N, et al. Kidney transplantation from donors without a heartbeat. *N Engl J Med.* 2002;347: 248-255.
- [9] Alvarez J, del Barrio R, Arias J, et al. Non-heart-beating donors from the streets: an increasing donor pool source. *Transplantation.* 2000;70: 314-317.
- [10] van den Eijnden MM, Leuvenink HG, Ottens PJ, et al. Effect of brain death and non-heart-beating kidney donation on renal function and injury: an assessment in the isolated perfused rat kidney. *Exp Clin Transplant.* 2003;1(2):85-95.
- [11] He JH. *Zhongguo Putong Waikē Zazhi.* 2005;14(7):489-491. 何建宏. 经升主动脉灌注的无心跳供体大鼠原位肝移植模型的建立[J]. *中国普通外科杂志*, 2005, 14(7):489-491.
- [12] Ma Y, Hu RD, Liang YJ, et al. *Zhonghua Putong Waikē Zazhi.* 2006;21(11):788-791. 马毅, 胡瑞德, 梁英杰, 等. 大鼠无心跳供体热缺血损伤后供肝组织学与超微结构的动态变化[J]. *中华普通外科杂志*, 2006, 21(11):788-791.
- [13] Ma Y, He XS, Chen GH, et al. *Zhonghua Shiyān Waikē Zazhi.* 2003;20(10):895-896. 马毅, 何晓顺, 陈规划, 等. 无心跳供体中供肝微循环的动态变化[J]. *中华实验外科杂志*, 2003, 20(10):895-896.
- [14] He XS, Ma Y, Chen GH, et al. *Zhonghua Yixue Zazhi.* 2003;83(14): 1236-1240. 何晓顺, 马毅, 陈规划, 等. 热缺血损伤对大鼠无心跳供体供肝质量及肝移植预后的影响[J]. *中华医学杂志*, 2003, 83(14):1236-1240.
- [15] Liao DS, Liao CX, Li ZQ. *Zhonghua Shiyān Waikē Zazhi.* 2004; 21(6):747-749. 廖东山, 廖崇先, 李增祺. 大白鼠无心跳供体肺移植模型的建立[J]. *中华实验外科杂志*, 2004, 21(6):747-749.
- [16] Xu ST, Guo WG, Tan LJ, et al. *Fudan Xuebao: Yixueban.* 2008; 35(5): 720-725. 徐松涛, 郭卫刚, 谭黎杰, 等. 无心跳供体大鼠同种异体左肺原位移植模型的热缺血时限[J]. *复旦学报: 医学版*, 2008, 35(5): 720-725.
- [17] Hu QH, Chen SX, Luo FY, et al. *Zhongnan Daxue Xuebao: Yixueban.* 2008;33(4):353-358. 胡庆华, 陈胜喜, 罗凡砚, 等. 大鼠无心跳供体肺移植尸体肺的保护方法[J]. *中南大学学报: 医学版*, 2008, 33(4):353-358.
- [18] Xu ST, Guo WG, Tan LJ, et al. *Zhongguo Linchuang Yixue.* 2010; 17(1):22-25. 徐松涛, 郭卫刚, 谭黎杰, 等. 缺血预处理对无心跳供体大鼠移植肺缺血再灌注损伤的保护作用[J]. *中国临床医学*, 2010, 17(1):22-25.
- [19] Neyrinck AP, Van De Wauwer C, Geudens N, et al. Comparative study of donor lung injury in heart-beating versus non-heart-beating donors. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2006;30: 628-636.
- [20] Yang JF, Xiao XJ, Zhang QC, et al. *Lingnan Xinxueguanbing Zazhi.* 2008;14(4):278-281. 杨军峰, 肖学钧, 章庆春, 等. 无心跳供体心脏移植热缺血时限的实验研究[J]. *岭南心血管病杂志*, 2008, 14(4):278-281.
- [21] Brook NR, White SA, Waller JR, et al. Non-Heart beating Donor kidneys with delayed graft function have a superior graft survival compared with conventional heart-beating donor kidneys that developed delayed graft function. *Am J Transplantation.* 2003;3: 614-618.
- [22] Reich DJ, Munoz SJ, Rothstein KD, et al. Controlled non-heart-beating donor liver transplantation: a successful single center experience, with topic update. *Transplantation.* 2000;70: 1159-1166.
- [23] Doshi MD, Hunsicker LG. Short- and long-term outcomes with the use of kidneys and livers donated after cardiac death. *Am J Transplant.* 2007;7(1):122-129.
- [24] Kosieradzki M, Rowinski W. Ischemia/reperfusion injury in kidney transplantation: mechanisms and prevention. *Transplant Proc.* 2008;40(10): 3279-3288.
- [25] Molitoris BA, Sandoval R, Sutton TA. Endothelial injury and dysfunction in ischemic acute renal failure. *Crit Care Med.* 2002; 30: S235-240.
- [26] Jennings R, Murry C, Steenbergen C, et al. Development of cell injury in sustained acute ischemia. *Circulation.* 1990;82(suppl3): II2-12.
- [27] Hansen TN, Haworth RA, Southard JH. Warm and cold ischemia result in different mechanisms of injury to the coronary vasculature during reperfusion of rat hearts. *Transplant Proc.* 2000;32:15.
- [28] Wu XF, Shuai XY, Jin XY, et al. *Zhonghua Miniao Waikē Zazhi.* 1991;12(3):194-197. 吴雄飞, 帅学焱, 金锡御, 等. 氧自由基清除剂防止急性缺血性肾衰的实验研究[J]. *中华泌尿外科杂志*, 1991, 12(3):194-197.
- [29] Zahmatkesh M, Kadkhodae M, Mahdavi Mazdeh M, et al. Oxidative stress status in renal transplant recipients. *Exp Clin Transplant.* 2010;8(1): 38-44.
- [30] Shi M, Li RS. *Zhonghua Qiguan Yizhi Zazhi.* 2007;28(3):178-180. 师梅, 李荣山. 肾缺血预处理对膜脂质过氧化损伤的保护作用[J]. *中华器官移植杂志*, 2007, 28(3):178-180.

来自本文课题的更多信息--

基金声明: 新疆维吾尔自治区自然科学基金 (2011211A058), 项目名称: 肾移植早期体内不同免疫状态下 T 细胞亚群、TH1/TH2 细胞因子和 MICA 抗体变化的前瞻研究。

作者贡献: 实验设计: 在刘健导师指导下, 与戴晨共同完成; 实验实施: 在动物实验老师张椿的指导下由戴晨完成; 实验评估: 由动物实验中心老师张椿及本人导师共同完成; 动物实验主要承担者为戴晨, 经过新疆医科大学动物实验中心的培训及体检, 培训期 1 个月。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其它经济组织直接或间接地经济或利益的赞助。

伦理批准: 课题由新疆医科大学第一附属医院动物伦理委员会审批通过, 审批号: A-20101020020, 审批时间为 2010-01-20, 审批意见为动物伦理审核通过, 同意开展实验。

本文创新性: 通过检索中国期刊全文数据库、中国学术期刊网络出版总库、中国博士学位论文数据库、中国优秀硕士学位论文全文数据库等数据库, 在 2002 年后可检索出关于无心跳供体的基础研究, 但是未见关于肾移植无心跳供体的基础研究——热缺血安全时限方面的实验研究。故认为本课题具有创新性。具体创新性分析: ①建模方法: 模拟临床上可控型心死亡供体(即无心跳供体)的缺血性损害的生理过程, 采用断髓法建立心脏死亡供体, 更加贴近临床。②针对心脏停搏供体在获取阶段的重要损伤环节——热缺血进行基础研究。解决此类供体应用的可行性范围, 即在什么时间段内的无心跳供肾, 活力尚可, 可以被安全使用。