

DOI:10.3724/SP.J.1008.2009.01245

## 大鼠自体原位肝移植术中肝外胆道不同部位对缺血再灌注损伤耐受性的比较

赵宏峰, 周杰\*, 王宇, 任旋磊

南方医科大学南方医院肝胆外科, 广州 510515

**[摘要]** **目的:**观察大鼠移植肝的肝外胆道不同部位对缺血再灌注损伤的耐受性,为肝移植术中胆管吻合部位的选择奠定基础。**方法:**30只SD大鼠随机分为3组:Ⅰ组(假手术组,  $n=6$ )、Ⅱ组(胆道缺血1h再灌注1h组,  $n=12$ )、Ⅲ组(胆道缺血1h再灌注2h组,  $n=12$ )。对肝门部胆管、胆总管近端及远端的上皮细胞行凋亡(TUNEL法)检测、病理形态学评分和超微结构的定量分析,比较肝外胆道不同部位对缺血再灌注损伤的耐受性。**结果:**Ⅱ组肝移植大鼠肝门部胆总管上皮细胞凋亡率、病理形态学评分明显高于胆总管近端和胆总管远端( $P<0.05$ ),后二者间无统计学差异,提示肝门部损伤较重。肝门部线粒体平均体积( $V$ )高于胆总管远端、近端,胆总管远端高于近端( $P<0.05$ );肝门部微绒毛面积密度( $A_{MV}$ )低于胆总管远端、近端,胆总管远端低于近端( $P<0.05$ ),提示肝门部损伤最重,胆总管近端最轻。Ⅲ组肝移植大鼠肝外胆道肝门部损伤最重,胆总管远端次之,胆总管近端最轻( $P<0.05$ )。**结论:**大鼠肝移植术中肝外胆道不同部位对缺血再灌注损伤的耐受性存在差异,其中胆总管近端耐受性最好,其可能是肝移植术中胆管吻合的合适部位。

**[关键词]** 肝移植;肝外胆管;再灌注损伤

**[中图分类号]** R 657.3 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2009)11-1245-05

## Comparison of tolerance to ischemia-reperfusion injuries between different parts of extrahepatic bile duct during orthotopic autologous liver transplantation in rats

ZHAO Hong-feng, ZHOU Jie\*, WANG Yu, REN Xuan-lei

Department of Hepatobiliary Surgery, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

**[ABSTRACT]** **Objective:** To observe the tolerance to ischemia-reperfusion injuries in different parts of extrahepatic bile duct during orthotopic autologous liver transplantation in rats, so as to lay a foundation for selection of anastomosis site during liver transplantation. **Methods:** Thirty SD rats were randomly divided into 3 groups: group I, sham operated ( $n=6$ ); group II, 1 h ischemia in biliary tract followed by 1 h reperfusion ( $n=12$ ); and group III, 1 h ischemia in biliary tract followed by 2 h reperfusion ( $n=12$ ). TUNEL assay, pathomorphology score and ultrastructural quantitative analysis were used to analyze the epithelia of hilar bile duct, proximal, and distal common bile duct. **Results:** The results of TUNEL assay and pathomorphology score were not significantly different between the proximal and distal common bile ducts in group II ( $P>0.05$ ), but the injury was more serious in hilar bile duct compared with those of the proximal and distal common bile ducts ( $P<0.05$ ); the hilar bile duct had the most serious injuries as indicated by the changes of mitochondrial mean volume ( $V$ ) and area density of microvilli ( $A_{MV}$ ), and the proximal common bile duct had the slightest injury ( $P<0.05$ ). In group III, the most severe injury was found in the hilar bile duct, followed by distal common bile duct and proximal common bile duct in order ( $P<0.05$ ). **Conclusion:** The tolerance to ischemia-reperfusion is different in different parts of bile duct during liver transplantation, with the distal common duct having the best tolerance, which may be used for bile anastomosis during transplantation.

**[KEY WORDS]** liver transplantation; extrahepatic bile ducts; reperfusion injury

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2009, 30(11):1245-1249]

肝移植术后胆道并发症发生率较高,约7%~35%,其中吻合口狭窄及吻合口胆漏发生率较高<sup>[1-2]</sup>,主要与缺血再灌注损伤、供肝及受体的胆道血供破坏有关<sup>[3-4]</sup>。不同部位胆管上皮细胞具有异

质性<sup>[5]</sup>,且不同部位胆管上皮细胞行使其功能所依赖的血供也有差异<sup>[6]</sup>。这提示肝外胆道不同部位对缺血再灌注损伤的耐受性可能不同。目前临床上供肝胆管修整平面及胆管吻合部位的选择比较随意,

**[收稿日期]** 2009-03-22 **[接受日期]** 2009-05-25

**[作者简介]** 赵宏峰,博士, E-mail:zhfengyn@163.com

\* 通讯作者(Corresponding author). Tel:020-61641701, E-mail:jacky@fimmu.com

缺乏科学的选择模式。因此,本研究在大鼠自体肝移植胆道缺血再灌注损伤模型的基础上,比较肝外胆道不同部位对缺血再灌注损伤的耐受性,为肝移植术中合适胆道吻合部位的选择奠定基础。

## 1 材料和方法

1.1 动物分组及处理 健康、成年、SPF级纯系SD大鼠30只(购自南方医科大学实验动物中心),雌雄不限,体质量280~300g,术前禁食8h,不禁水。随机分为3组:I组(假手术组, $n=6$ ):大鼠仅接受麻醉、开腹和肝脏游离,未经受任何热、冷缺血和再灌注损伤,然后留取标本;II组(胆道缺血1h再灌注1h组, $n=12$ ):采用大鼠自体原位肝移植胆道缺血再灌注损伤模型<sup>[7]</sup>,冷灌注结束后,将门静脉(PV)恢复血流灌注1h后肝动脉(HA)恢复血流灌注,HA灌注1h留取标本;III组(胆道缺血1h再灌注2h组, $n=12$ ):将PV恢复血流灌注1h后再恢复HA的血流灌注,HA灌注2h后留取标本。在各时间点切取肝十二指肠韧带(PV、HA和肝外胆道),从肝门部到十二指肠上方约1cm。固定后常规脱水,将标本从肝门部向下均匀切成3段,石蜡包埋,分为肝门部胆管、胆总管近端、胆总管远端。

1.2 肝移植胆道缺血再灌注损伤模型的建立 参照文献<sup>[7]</sup>,0.3%戊巴比妥30mg/kg腹腔注射麻醉。取倒“T”形切口入腹,肝脏游离后行肝素化,用血管夹阻断肝周血管,然后以2.5ml/min速度通过输液泵分别经PV、腹主动脉穿刺处灌注4℃含肝素(12.5U/ml)的乳酸林格液20ml,肝脏逐渐变成土黄色后灌注结束。修补穿刺点及下腔静脉流出道成功后,按实验要求分别松开PV、腹主动脉、肝上上腔静脉、肝下下腔静脉、HA的血管夹使肝脏复流,并同时用38℃生理盐水20ml浇注肝脏表面以快速复温,此时可见肝脏迅速充盈,颜色变红。

1.3 TUNEL法检测肝外胆管细胞凋亡 参照凋亡检测试剂盒(美国Promega公司)进行凋亡检测,主要步骤:将石蜡包埋组织用切片机切片,4 $\mu$ m厚,每个蜡块切5张。然后行脱蜡及水化,蛋白酶K在37℃条件下消化10min,双蒸水洗3次;新鲜配制过氧化氢液浸泡20min,双蒸水洗2次 $\times$ 3min;标本片加标记缓冲液(Labeling buffer),20 $\mu$ l/片,置样品于湿盒中,37℃标记2h;滴加DAB显色液,苏木精复染,冲洗、封片。

结果判定:正常细胞核为蓝色,凋亡细胞核为棕黄色,颗粒状或固缩状改变。凋亡细胞计数:每张切片高倍光学显微镜下( $\times 400$ )随机选取10个视野,

计算细胞总数和凋亡细胞总数,以凋亡细胞总数/细胞总数计算出凋亡细胞百分率,作为凋亡指数(AI)。

1.4 肝外胆道病理形态学观察 制作切片:石蜡包埋组织用切片机切片,每片4 $\mu$ m厚,每个蜡块切3张,H-E染色,光镜下观察。结果量化分级:所有切片的观察经3位病理学教授分别独立完成。参照Hertl等<sup>[8]</sup>的方法并根据实验结果加以调整,对肝外胆管损伤程度进行分级:0级为胆管黏膜和腺上皮正常(0分);1级:损伤局限在黏膜上皮层,胆管黏膜上皮细胞有散在性固缩、坏死、脱落,其数量不足黏膜上皮细胞总数的10%,腺上皮正常(1分);2级:10%~30%的胆管黏膜上皮细胞固缩、坏死、脱落,10%以下的腺上皮变性、坏死、脱落(2分);3级:超过30%的胆管黏膜上皮细胞坏死、脱落,10%~30%的腺上皮变性、坏死、脱落(3分)。

1.5 肝外胆道胆管上皮细胞透射电镜检查 戊二醛溶液固定2h后1%四氧化锇固定,梯度乙醇脱水,Epon812环氧树脂浸泡包埋,超薄切片,醋酸铀-柠檬酸铅双重染色后用Hitachi H-7500透射电镜观察胆管上皮细胞超微结构( $\times 8000$ )的变化。结果判定:用Image-Pro图像分析软件行多视场、多参数的体视学形态定量分析,以每张照片中所有线粒体平均体积(V)代表线粒体肿胀程度,说明线粒体受损情况;以胆管上皮细胞微绒毛的面积密度( $A_{MV}$ )代表胆管上皮细胞表面微绒毛的覆盖面积。

1.6 统计学处理 采用SPSS 13.0统计软件,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组均数间比较采用完全随机设计的方差分析(one-way ANOVA),组间两两比较采用最小检验差异 $t$ 检验(LSD- $t$ ), $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 各组动物模型建立情况 I组为手术对照组,无热缺血时间、冷灌注时间以及无肝期时间。II、III组热缺血时间分别为( $2.78\pm 0.51$ )min、( $2.76\pm 0.45$ )min,热缺血时间组间比较无统计学差异( $t=0.008$ , $P=0.930$ );冷缺血时间因都采用输液泵恒速灌注,故均为8min。II、III组无肝期时间分别为( $16.05\pm 1.03$ )min、( $15.91\pm 1.31$ )min,无肝期时间比较无统计学差异( $t=0.084$ , $P=0.775$ )。共死亡2只大鼠,游离肝脏时损伤膈肌造成气胸1例(II组),在无肝期时不能耐受而死亡1例(III组),模型总手术成功率为93.3%。

2.2 肝外胆管上皮细胞凋亡情况 结果(图1、表1)表明:I组(假手术组)有少量的胆管上皮细胞凋

亡; II 组 3 个部位比较有统计学差异 ( $F=8.057, P=0.002$ ), 其中胆总管近端和胆总管远端的比较无统计学差异 ( $P=0.703$ ), 肝门部与胆总管近端 ( $P=0.003$ ) 和胆总管远端 ( $P=0.001$ ) 比较有统计学差异, 即肝门部胆管损伤最重; III 组 3 个部位比较有统

计学差异 ( $F=15.145, P=0.000$ ), 其中胆总管近端和胆总管远端比较有统计学差异 ( $P=0.015$ ), 肝门部与胆总管近端 ( $P=0.000$ ) 和胆总管远端 ( $P=0.006$ ) 比较有统计学差异, 即肝门部胆管损伤最重, 胆总管远端次之, 胆总管近端最轻。

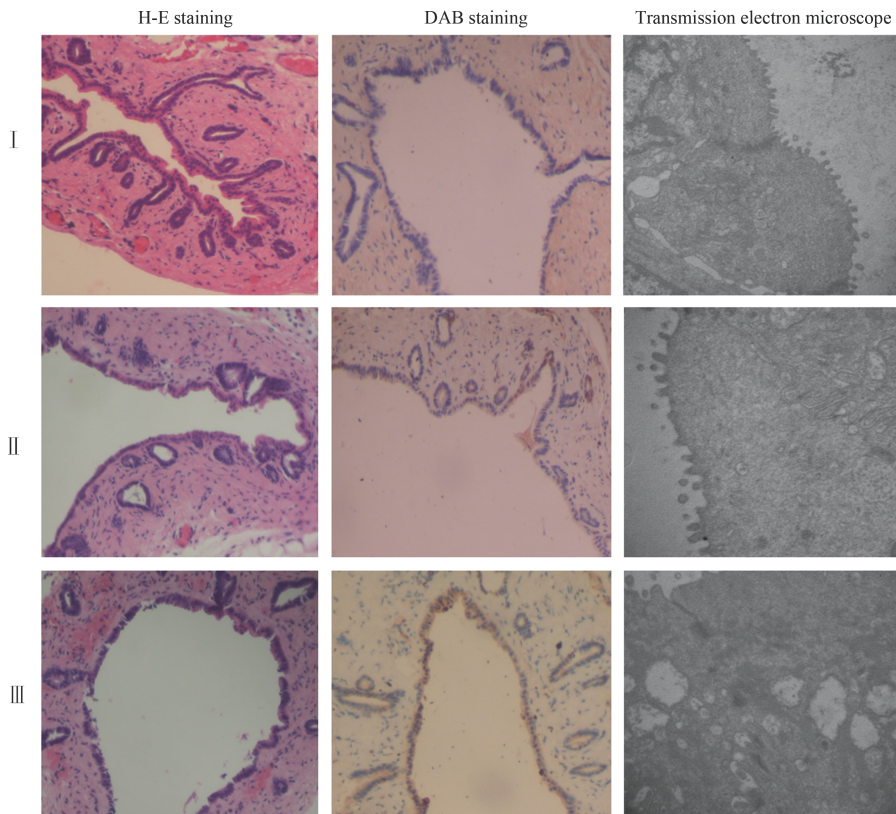


图 1 各组大鼠胆管上皮细胞 H-E 染色、凋亡情况及透射电镜观察结果

Fig 1 H-E staining, DAB staining, and transmission electron microscope results of bile duct epithelia in each group

Original magnification:  $\times 400$  (H-E, DAB staining),  $\times 8\,000$  (transmission electron microscope)

表 1 各组大鼠肝外胆道不同部位胆管上皮细胞凋亡指数、病理形态学评分、线粒体平均体积 ( $V$ ) 及细胞微绒毛面积密度 ( $A_{MV}$ ) 的比较

Tab 1 Bile duct epithelium apoptosis, pathomorphologic results, average mitochondrial volume, and microvillus area density of different parts of extrahepatic biliary tract

Group	<i>n</i>	Hilar bile duct	Proximal common bile duct	Distal common bile duct	
Apoptosis index (%)	I	6	0.41 ± 0.23	0.51 ± 0.33	0.34 ± 0.29
	II	11	15.76 ± 1.89	13.67 ± 1.20 *	13.43 ± 1.28 *
	III	11	26.69 ± 2.61	21.73 ± 1.29 *	24.05 ± 2.17 * <sup>△</sup>
Pathomorphologic score	I	6	0	0	0
	II	11	2.57 ± 0.29	2.22 ± 0.41 *	2.23 ± 0.37 *
	III	11	2.99 ± 0.18	2.56 ± 0.37 *	2.79 ± 0.15 * <sup>△</sup>
Average mitochondrial volume $V/\mu\text{m}^3$	I	6	0.050 ± 0.011	0.051 ± 0.012	0.049 ± 0.013
	II	11	0.123 ± 0.029	0.062 ± 0.019 *	0.089 ± 0.033 * <sup>△</sup>
	III	11	0.186 ± 0.040	0.117 ± 0.024 *	0.147 ± 0.030 * <sup>△</sup>
Microvillus area density	I	6	0.807 ± 0.118	0.822 ± 0.150	0.837 ± 0.086
	II	11	0.406 ± 0.131	0.716 ± 0.171 *	0.569 ± 0.144 * <sup>△</sup>
	III	11	0.322 ± 0.082	0.625 ± 0.136 *	0.514 ± 0.147 * <sup>△</sup>

\*  $P < 0.05$  vs hilar bile duct; <sup>△</sup>  $P < 0.05$  vs proximal common bile duct

2.3 肝外胆道病理形态学评分 病理形态学观察(图1、表1): I组正常; II组3个部位比较有统计学差异( $F=3.427, P=0.046$ ),其中胆总管近端和胆总管远端的比较无统计学差异( $P=0.953$ ),肝门部与胆总管近端( $P=0.029$ )和胆总管远端( $P=0.033$ )的比较有统计学差异,即肝门部胆管损伤最重; III组3个部位比较有统计学差异( $F=9.415, P=0.001$ ),其中胆总管近端和胆总管远端的比较有统计学差异( $P=0.031$ ),肝门部与胆总管近端( $P=0.000$ )和胆总管远端( $P=0.047$ )的比较有统计学差异,即肝门部胆管损伤最重,胆总管远端次之,近端最轻。

#### 2.4 肝外胆道胆管上皮细胞透射电镜观察结果

2.4.1 形态学改变 结果(图1)发现:正常胆道(I组)各部位上皮细胞微绒毛丰富,排列整齐,线粒体不肿胀,嵴清晰; II组胆管上皮绒毛排列紊乱,部分脱落,线粒体肿胀,嵴模糊、断裂; III组上述改变更加明显,可见胆管上皮细胞微绒毛大部分脱落,线粒体空泡变、嵴消失、部分膜破裂。

2.4.2 线粒体平均体积( $V$ )的定量分析 结果(表1)表明: I组正常; II组3个部位比较有统计学差异( $F=12.951, P=0.000$ ),其中胆总管近端和胆总管远端比较有统计学差异( $P=0.028$ ),肝门部与胆总管近端( $P=0.000$ )和胆总管远端( $P=0.010$ )的比较有统计学差异; III组3个部位比较有统计学意义( $F=12.603, P=0.000$ ),其中胆总管近端和胆总管远端的比较有统计学差异( $P=0.038$ ),肝门部与胆总管近端( $P=0.000$ )和胆总管远端( $P=0.000$ )的比较有统计学差异,即肝门部胆管损伤最重,胆总管远端次之,近端最轻。

2.4.3 细胞微绒毛面积密度( $A_{Mv}$ )定量分析 结果(表1)表明: I组正常; II组3个部位比较有统计学差异( $F=11.840, P=0.000$ ),其中胆总管近端和胆总管远端的比较有统计学差异( $P=0.029$ ),肝门部与胆总管近端( $P=0.000$ )和胆总管远端( $P=0.016$ )的比较有统计学差异; III组3个部位比较有统计学差异( $F=16.539, P=0.000$ ),其中胆总管近端和胆总管远端比较有统计学差异( $P=0.046$ ),肝门部与胆总管近端( $P=0.000$ )和胆总管远端( $P=0.001$ )的比较有统计学差异,即肝门部胆管损伤最重,胆总管远端次之,近端最轻。

### 3 讨论

胆道不同部位的组织结构、血供和功能并不相同,提示不同部位胆管对缺血再灌注损伤的耐受性

可能也不相同。Wagner等<sup>[9-10]</sup>研究发现,胆小管可能是人类肝脏结构中对缺血再灌注损伤最敏感的部位;而国内黄长文等<sup>[11]</sup>研究发现,在缺血30 min、再灌注60 min条件下胆囊损伤最严重,肝门部胆管次之,胆总管相对较轻。但相关研究采用的动物模型没有经历肝移植的病理生理过程,故不能完全反映肝移植术中不同部位肝外胆道对缺血再灌注损伤的耐受性。因此,本研究采用大鼠自体肝移植胆道缺血再灌注损伤模型,胆管经历短暂的热缺血、冷保存损伤、复温性损伤、门静脉开放到肝动脉开放(相对热缺血)损伤、再灌注损伤,完全模拟了临床肝移植的过程,排除了免疫排斥、感染等因素的影响,并从胆管上皮细胞凋亡、组织病理学及超微结构改变等方面来评估胆道不同部位对损伤的耐受程度。

细胞凋亡在器官移植的缺血再灌注损伤过程中发挥着重要的作用<sup>[12]</sup>。为了避免在细胞凋亡及病理形态学评分中的主观偏差,本研究应用体视学形态定量分析方法,由半定量过渡到定量,测量了胆管上皮细胞线粒体及微绒毛的改变。线粒体是细胞呼吸和产能的主要场所,缺血再灌注后,线粒体首先受损,引起结构和功能损伤甚至肿胀破裂,伴随着微绒毛的脱落,进而损伤整个细胞的功能。本研究中上述指标的观察比较客观地评价了肝外胆道各部位的损伤程度。结果发现,II组胆管上皮细胞凋亡、病理形态学两方面肝门区胆管和胆总管近端及远端比较有统计学差异,III组3个部位两两比较有统计学差异,超微结构改变在第II、III组3个部位两两比较有统计学差异。结果表明肝门区胆管损伤最重,胆总管近端最轻。

上述研究结果说明胆道不同部位对缺血再灌注损伤的耐受性确实存在差别,胆管上皮细胞在胆道的各部位并不是均一的,可分为小胆管细胞和大胆管细胞。因为肝外胆道均衬以大胆管细胞,组织结构基本相同,出现这种差别可能主要是与组织血供有关。人体肝脏的灌注标本研究<sup>[13]</sup>发现,胆总管血供较围肝门区胆管(左、右肝管及肝总管)丰富。肝外胆道血供的巨微解剖观察也显示:肝外胆道各段的血供分布不同,胆总管十二指肠上段和肝总管段是供应动脉较丰富的部位<sup>[14]</sup>。哺乳类动物(如大鼠)与人体肝外胆道的解剖结构类似但稍有差异<sup>[15-16]</sup>。本研究结果也与血供特点相一致,血供相对较差的肝门区胆管损伤最重,胆总管近端及远端血供分布基本相同,故II组两者间损伤无统计学差异,但当再灌注达到2 h时,3个部位两两比较有统计学差异,说明随着再灌注时间的延长,损伤逐渐加



重。再灌注损伤是缺血期间所聚集的细胞损伤和激活效应放大的结果,再灌注后有大量的炎性因子如 TNF- $\alpha$  等及细胞黏附因子的表达,这些因子可以介导中性粒细胞和血小板与内皮细胞相互作用,导致胆管微循环障碍,从而造成所谓的“无复流现象”(no-reflow phenomenon)<sup>[17]</sup>,使胆管上皮细胞处于持续的缺血缺氧状态,并形成恶性循环,更加重了胆管损伤。

目前的临床实践中,大多数肝移植中心供肝胆管修剪至胆囊管水平或近肝门部胆管水平,再与受体胆管行端端吻合。而本研究结果提示临床肝移植中,首先应充分重视保护肝外胆道的血供,供肝修整时应注意保护胆管周围组织,避免向肝门方向过多游离胆管而破坏胆管血供;其次在进行胆管吻合时应避免在肝门部胆管,尽量以胆总管近端作为吻合部位。

(志谢 本研究中病理学方面的内容得到南方医科大学病理学教研室陈芝娟博士及电镜室卢康荣博士的支持和帮助,在此一并表示感谢!)

#### [参考文献]

- [1] Wojcicki M, Milkiewicz P, Silva M. Biliary tract complications after liver transplantation: a review[J]. *Dig Surg*, 2008, 25: 245-257.
- [2] Buis C I, Hoekstra H, Verdonk R C, Porte R J. Causes and consequences of ischemic-type biliary lesions after liver transplantation[J]. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*, 2006, 13: 517-524.
- [3] Sharma S, Gurakar A, Jabbour N. Biliary strictures following liver transplantation: past, present and preventive strategies[J]. *Liver Transpl*, 2008, 14: 759-769.
- [4] Kobayashi T, Sato Y, Yamamoto S, Oya H, Hara Y, Watanabe T, et al. Long-term follow-up study of biliary reconstructions and complications after adult living donor liver transplantation: feasibility of duct-to-duct reconstruction with a T-tube stent[J]. *Transplant Proc*, 2009, 41: 265-267.
- [5] Alvaro D, Onori P, Metalli V D, Svegliati-Baroni G, Folli F, Franchitto A, et al. Intracellular pathways mediating estrogen-induced cholangiocyte proliferation in the rat[J]. *Hepatology*, 2002, 36: 297-304.
- [6] Pannarale L, Onori P, Borghese F, Conte D, Gaudio E. Three-dimensional organization of the hepatic artery terminal branches: a scanning electron microscopic study of vascular corrosion casts of rat liver[J]. *Ital J Anat Embryol*, 2007, 112: 1-12.
- [7] 赵宏峰, 周杰. 大鼠自体原位肝移植胆道缺血再灌注损伤模型的建立[J]. *第二军医大学学报*, 2006, 27: 429-430.
- Zhao H F, Zhou J. Establishment of an orthotopic autologous liver transplantation model with bile ducts ischemia reperfusion in jury in rats[J]. *Acad J Sec Mil Med Univ*, 2006, 27: 429-430.
- [8] Hertl M, Harvey P R, Swanson P E, West D D, Howard T K, Shenoy S, et al. Evidence of preservation injury to bile ducts by bile salts in the pig and its prevention by infusions of hydrophilic bile salts[J]. *Hepatology*, 1995, 21: 1130-1137.
- [9] Wagner M, Zollner G, Trauner M. Ischemia and cholestasis: more than (just) the bile ducts[J]! *Transplantation*, 2008, 85: 1083-1085.
- [10] Benkoel L, Dodero F, Hardwigsen J, Campan P, Botta-Fridlund D, Lombardo D, et al. Effect of ischemia-reperfusion on bile canalicular F-actin microfilaments in hepatocytes of human liver allograft: image analysis by confocal laser scanning microscopy[J]. *Dig Dis Sci*, 2001, 46: 1663-1667.
- [11] 黄长文, 熊本京, 傅华群. 豚鼠肝外胆道不同部位组织缺血-再灌注损伤的比较观察[J]. *中华实验外科杂志*, 2001, 18: 212-213.
- [12] Cursio R, Miele C, Filippa N, Van Obberghen E, Gugenheim J. Liver HIF-1 alpha induction precedes apoptosis following normothermic ischemia-reperfusion in rats[J]. *Transplant Proc*, 2008, 40: 2042-2045.
- [13] 黄志强. 胆道的解剖生理学与肝移植后胆道并发症[J]. *中华外科杂志*, 2006, 44: 289-291.
- [14] 陈卫军, 应大君, 刘正津. 肝外胆道壁内的血管配布及体视学计量研究[J]. *第三军医大学学报*, 1996, 18: 480-483.
- [15] 张俊杰, 刘丽莉, 王树哲. 肝脏微循环单位的研究——哺乳动物肝脏微血管形态学研究 II [J]. *微循环学杂志*, 1996, 6: 10-12.
- [16] Yamamoto K, Sherman I, Phillips M J, Fisher M M. Three-dimensional observations of the hepatic arterial terminations in rat, hamster and human liver by scanning electron microscopy of microvascular casts[J]. *Hepatology*, 1985, 5: 452-456.
- [17] Vollmar B, Glasz J, Leiderer R, Post S, Menger M D. Hepatic microcirculatory perfusion failure is a determinant of liver dysfunction in warm ischemia-reperfusion[J]. *Am J Pathol*, 1994, 145: 1421-1431.

[本文编辑] 贾泽军