文章编号:1000-5404(2010)08-0805-05

论著

连续性血液滤过对多脏器功能衰竭患者血清诱导的血管内皮细胞凋亡及内质网应激的影响

周洪文,甘 华,杜晓刚,李正荣 (400016 重庆,重庆医科大学附属第一医院肾内科)

[摘要] 目的 探讨连续性静脉-静脉血液滤过(continuous veno-venous hemofiltration,CVVH)对多脏器功能衰竭(multiple organ dysfunction syndrome,MODS)患者血清体外诱导的脐静脉内皮细胞凋亡及内质网应激的影响及其机制。**方法** 分别用10例健康志愿者的血清及10例MODS患者CVVH治疗前、治疗6 h、治疗20 h的血清体外诱导人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVEC)24 h,TUNEL法检测HUVEC细胞凋亡率,免疫荧光观察细胞GRP78蛋白表达,RT-PCR检测细胞GRP78、CHOP、TNF-α、IL-6 mRNA表达,比色法检测健康志愿者及CVVH治疗不同时间组血清中SOD活性、MDA含量。ELISA法检测健康志愿者及CVVH治疗不同时间组血清中TNF-α、IL-6含量。**结果** 与健康对照组相比,CVVH治疗前组细胞凋亡率明显升高($P<0.01$),GRP78、CHOP、IL-6、TNF-α mRNA表达量也显著增高($P<0.01$)。与CVVH治疗前比较,CVVH治疗6、20 h组细胞凋亡率明显下降($P<0.01$),GRP78、CHOP、IL-6、TNF-α mRNA表达量明显减少($P<0.01$),治疗20 h组较治疗6 h组进一步减少($P<0.05$)。免疫荧光显示健康对照组GRP78蛋白表达量很少,CVVH治疗前组GRP78蛋白表达量明显高于健康对照组,治疗6 h组较治疗前组明显减少,治疗20 h组较治疗6 h组进一步减少。与健康对照组比较,CVVH治疗前组血清SOD活性明显下降($P<0.01$),MDA含量明显增高($P<0.01$),血清中TNF-α、IL-6含量也明显增高($P<0.01$)。经过CVVH治疗,SOD活性明显升高($P<0.01$),MDA含量明显下降($P<0.01$),TNF-α、IL-6含量也明显下降($P<0.01$)。**结论** MODS患者血清体外诱导的HUVEC细胞凋亡与内质网应激有关,CVVH治疗能减轻氧化应激,清除炎症介质,减轻内质网应激程度,从而减少内质网相关的凋亡。

[关键词] 内质网应激;血液滤过;多脏器功能衰竭;内皮细胞
[中图法分类号] R459.5;R590.5;R363 **[文献标志码]** A

Impact of continuous veno-venous hemofiltration on endoplasmic reticulum stress and apoptosis of HUVEC cells induced by serum of patients with multiple organ dysfunction syndrome

Zhou Hongwen, Gan Hua, Du Xiaogang, Li Zhengrong (Department of Nephrology, First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China)

[Abstract] Objective To investigate the effect and implying mechanism of continuous veno-venous hemofiltration (CVVH) on endoplasmic reticulum stress (ERS) and apoptosis of HUVEC cells which induced by serum of patients with multiple organ dysfunction syndrome (MODS). **Methods** Ten patients with MODS who received CVVH and 10 healthy volunteers were involved in this study. This experiment was divided into 4 groups: healthy control, group of pre-CVVH, group of 6-hour-CVVH and group of 20-hour-CVVH. Serum of healthy volunteers and the sera of patients with MODS at pre-CVVH, 6-hour-CVVH and 20-hour-CVVH were used to induced HUVEC cells respectively *in vitro* for 24 h. The cell apoptosis was examined by TUNEL assay, the intracellular GRP78 protein was observed by immunocytochemistry, and the mRNA expressions of GRP78, CHOP, TNF-α, and IL-6 in the cells were measured by RT-PCR. The levels of serum SOD and MDA were detected by colorimetric method, and those of of TNF-α and IL-6 of by ELISA. **Results** Compared with healthy control, the group of pre-CVVH showed higher cellular apoptosis rate ($P<0.01$), the mRNA expressions of GRP78, CHOP, TNF-α, and IL-6 in this group of cells were increased significantly ($P<0.01$), so was the protein expression of GRP78 ($P<0.01$). Compared with group of pre-CVVH, cellular apoptosis rate was decreased significantly ($P<0.01$) and the mRNA expressions of GRP78, CHOP, TNF-α, and IL-6 were decreased significantly ($P<0.01$) either in the group of 6-hour-CVVH or group of 20-hour-CVVH. The mRNA

[通信作者] 甘 华, E-mail:zsg0233@sina.com

expression of GRP78, CHOP, TNF-α and IL-6 of cells in group of 20-hour-CVVH were significantly lower than those in group of 6-hour-CVVH ($P < 0.05$). Immunocytochemistry showed protein expression of GRP78 in group of 6-hour-CVVH was significantly lower than that in group of pre-CVVH, and in group of 20-hour-CVVH significantly lower than that in group of 6-hour-CVVH. Compared with healthy control, the serum level of SOD was decreased significantly and the level of MDA was increased significantly in the group of pre-CVVH ($P < 0.01$), and the level of TNF-α and IL-6 was also increased significantly in the group of pre-CVVH ($P < 0.01$). After CVVH, the serum level of SOD was increased significantly and that of MDA was decreased significantly ($P < 0.01$), and those of TNF-α and IL-6 were also decreased significantly ($P < 0.01$). **Conclusion** Apoptosis of HUVEC cells induced by serum of patients with MODS is associated with ERS. CVVH can relieve redox state, remove inflammatory cytokine, and relieve ERS, and this may be one of mechanisms of CVVH relieving damage of HUVEC cells induced by serum from MODS patients.

[Key words] endoplasmic reticulum stress; hemofiltration; multiple organ dysfunction syndrome; endothelial cells

Corresponding author: Gan Hua, E-mail: zsg0233@sina.com

连续性静脉-静脉血液滤过(continuous veno-venous hemofiltration, CVVH)能通过超滤、灌流、吸附等技术,在调节体液平衡的同时,清除各种代谢产物、毒物及炎性介质,在多脏器功能衰竭(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)患者的抢救中发挥重要作用。MODS患者的血管内皮细胞严重受损,CVVH治疗能改善患者的血管内皮细胞功能,但其机制尚未完全阐明[1]。研究发现,细胞凋亡参与了MODS的发生、发展[2]。内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)启动的细胞凋亡是近年发现的一种凋亡途径。ERS是否在MODS患者血管内皮细胞损伤中发挥作用,目前尚不清楚。本研究通过CVVH治疗的MODS患者血清体外诱导人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVEC),初步探讨内质网应激在MODS患者血管内皮细胞损伤中的作用及CVVH减轻患者内皮细胞损伤的可能机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 病例选择 2008年12月至2009年7月在我院行CVVH治疗的MODS患者10例,患者均为第1次行CVVH治疗。其中男性6例,女性4例,年龄29~67(54.1±13.5)岁。其原发疾病急性胰腺炎5例,重症感染4例,急性妊娠脂肪肝1例。另选取10例健康志愿者作为对照组,其中男性5例,女性5例,年龄25~60(44.4±11.1)岁。本实验经我院伦理委员会审查通过,得到上述患者及健康志愿者知情同意。

1.1.2 常规治疗 针对原发疾病分别采用应用抗生素、器官功能支持及营养支持、对症处理等综合治疗。

1.1.3 CVVH治疗 行股静脉或颈外静脉置管建立血管通路,使用德国B. Braun Diapact CRRT设备,滤器为Fresenius AV600S聚砜膜;置换液(配方为Na^+ 147 mmol/L, Cl^- 115 mmol/L, HCO_3^- 36 mmol/L, Ca^{2+} 2.4 mmol/L, Mg^{2+} 0.7 mmol/L, Glu 200 mg/L, K^+ 2.0 mmol/L)流量3 000~4 000 ml/h,以前稀释方式输入;血流量200~250 ml/min;肝素抗凝;根据患者具体情况调整超滤量;治疗时间20 h,治疗第10小时更换滤器。

1.1.4 血清制备 MODS患者于CVVH治疗前及CVVH治疗6 h、治疗20 h 3个时间点分别从滤器动脉端抽取全血5 ml,抽取健康志愿者清晨空腹静脉血5 ml,离心后(3 000 r/min×20 min)收集血清分装保存于-70 ℃冰箱备用。

1.1.5 主要试剂 HUVEC由重庆医科大学附属第一医院实验研究中心汤为学教授惠赠,DMEM培养液(Gibco)、胎牛血清(杭州四季青),超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)检测试剂盒(南京建成),兔抗人葡萄糖调节蛋白78(GRP78)多克隆抗体(北京博奥森),荧光素标记羊抗兔IgG(北京博奥森),RNA抽提试剂Trizol(Invitrogen),RT-PCR试剂盒(大连宝生物),细胞凋亡检测试剂盒(武汉博士德)、DAB显色试剂盒(武汉博士德),Triton X-100(美国Amersco),人TNF-α、人IL-6 ELISA试剂盒(武汉博士德)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 复苏后的HUVEC细胞置于含100 U/ml青霉素、100 U/ml链霉素、10%胎牛血清的DMEM培养液中培养。培养条件为37 ℃、5% CO_2、饱和湿度。

1.2.2 实验分组 按2×10^4/孔的细胞数接种于24孔培养板中的玻片上做细胞爬片,常规培养24 h,弃去原培养液,加入无血清培养液孵育24 h,使细胞生长同步化,然后将细胞分为4组:①健康对照组($n=10$),无血清培养液中加入健康志愿者血清。②CVVH治疗前组($n=10$),无血清培养液中加入MODS患者CVVH治疗前的血清。③CVVH治疗6 h组($n=10$),无血清培养液中加入CVVH治疗6 h血清。④CVVH治疗20 h组($n=10$),无血清培养液中加入CVVH治疗20 h血清。各组血清浓度均为10%,诱导培养HUVEC细胞24 h。

1.2.3 血清中MDA含量、SOD活性及TNF-α、IL-6含量检测

MDA含量用硫代巴比妥酸法(TBA法),SOD活性用黄嘌呤氧化酶法,TNF-α、IL-6含量用ELISA法,均严格按说明书操作。

1.2.4 免疫荧光检测GRP78表达 取出细胞爬片,用PBS溶液洗涤3次,甲醇-20 ℃固定10 min后,0.1% Triton X-100作用8 min,正常山羊血清室温封闭30 min,滴加兔抗人GRP78多克隆抗体(1∶100稀释),湿盒内4 ℃过夜。然后滴加荧光素标记羊抗兔IgG(1∶20稀释),闭光,37 ℃孵育30 min,用50%缓冲甘油封片,立即在荧光显微镜下观察结果并照相。同时PBS代替一抗作为阴性对照。

1.2.5 TUNEL检测细胞凋亡 取出细胞爬片,4%多聚甲醛室温固定30 min,按照凋亡检测试剂盒说明书操作。凋亡细胞判断标准:以细胞核呈棕黄色着色为阳性染色细胞,胞核无黄色着色为阴性细胞。每张爬片取5个视野(×200)计数,取平均值为该片凋亡细胞数。以凋亡细胞数/总细胞数表示凋亡率。

1.2.6 RT-PCR检测细胞GRP78、C/EBP同源蛋白(CHOP)、IL-6、TNF-α mRNA表达 取对数生长期细胞,调整细胞数为5×10^5/ml,接种于6孔板中,细胞分组及处理同1.2.2。收集各组细胞,Trizol法提取总RNA,按照RT-PCR试剂盒说明书进行逆转录,将逆转录产物用下列引物进行PCR反应,引物设计参照文献[3],引物由上海生工合成。引物序列见表1。PCR扩增条件:94 ℃预变性2 min,94 ℃30 s,56 ℃(β-actin)、60 ℃(GRP78)、60 ℃(TNF-α)、65 ℃(CHOP)、65 ℃(IL-6)30 s,72 ℃1 min,共35个循环,终末延伸72 ℃10 min。扩增产物经2.5%琼脂糖凝胶电泳后,用Bio-Rad凝胶成像分析系统进行分析并照相。以目的片段与内参的光密度之比作为目的片段mRNA的相对含量。

表1 各基因引物序列

基因	引物序列	退火温度	产物大小
GRP78	上游:5′- CGGGCAAAGATGTCAGGAAAG-3′ 下游:5′-TTCTGGACGGGCTCATAGTAGAC-3′	60 ℃	210 bp
CHOP	上游:5′-GGAGCTGGAAGCCTGGTATGAGG-3′ 下游:5′-TCCCTGGTCAGGCGCTCGATTTCC-3′	65 ℃	492 bp
IL-6	上游:5′-TTCTCCACAAGCGCCTTCGGTCCA-3′ 下游:5′-AGGGCTGAGATGCCGTCGAGGATGTA-3′	65 ℃	190 bp
TNF-α	上游:5′-TGATCCCTGACATCTGGAATCTG-3′ 下游:5′-GCTGGGCTCCGTGTCTCA-3′	65 ℃	158 bp
β-actin	上游:5′-AGCGAGCATCCCCCAAAGTT-3′ 下游:5′-GGGCACGAAGGCTCATCATT-3′	56 ℃	284 bp

1.3 统计学分析

数据以$\bar{x}\pm s$表示,采用SPSS 13.0统计软件,2组比较行t检验,CVVH治疗不同时间组比较行单因素方差分析。

2 结果

2.1 血清SOD活性、MDA含量及TNF-α、IL-6含量测定

由表2可见,MODS患者CVVH治疗前组其血清SOD活性明显低于健康对照组($P<0.01$),CVVH治疗6 h组血清SOD活性较治疗前组显著升高($P<0.01$),CVVH治疗20 h组血清SOD活性较CVVH治疗6 h组进一步升高($P<0.01$)。MODS患者CVVH治疗前组血清MDA含量及TNF-α、IL-6含量高于健康对照组($P<0.01$),CVVH治疗6 h组血清MDA、TNF-α、IL-6含量较治疗前组明显降低($P<0.05$),CVVH治疗20 h组血清MDA、TNF-α、IL-6含量较CVVH治疗6 h组进一步降低($P<0.01$)。

表2 各组血清SOD活性、MDA、TNF-α、IL-6含量变化($n=10$, $\bar{x}\pm s$)

组别	SOD(U/ml)	MDA(nmol/ml)	TNF-α(ng/L)	IL-6(ng/L)
健康对照组	129.14±5.84	3.57±0.35	24.45±4.36	34.51±4.46
CVVH治疗前组	66.99±8.49[a]	6.81±0.52[a]	124.95±9.82[a]	108.52±13.52[a]
CVVH治疗6 h组	88.15±8.90[b]	6.29±0.49[b]	114.60±9.64[b]	96.49±9.78[b]
CVVH治疗20 h组	98.83±8.49[bc]	5.68±0.45[bc]	98.76±7.77[bc]	81.67±9.00[bc]

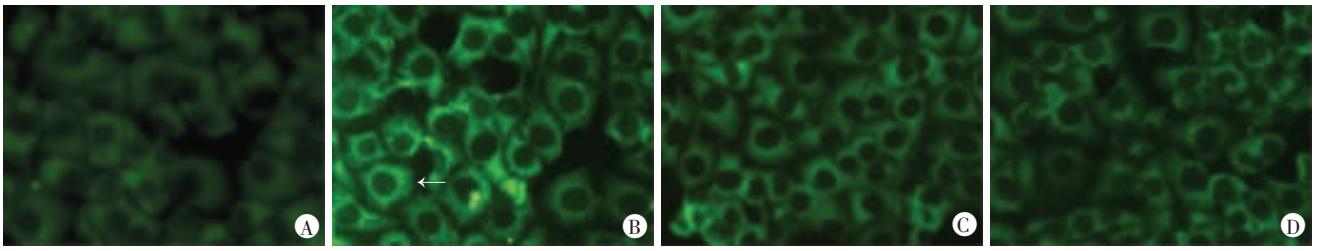
a:$P<0.01$,与健康对照组比较;b:$P<0.05$,与CVVH治疗前组比较;c:$P<0.01$,与CVVH治疗6 h组比较

2.2 免疫荧光检测HUVEC细胞GRP78蛋白表达变化

GRP78蛋白表达于细胞质中,健康对照组GRP78蛋白表达量很少,CVVH治疗前组GRP78蛋白表达量明显高于健康对照组,经过CVVH治疗,随着治疗时间的延长,CVVH治疗6 h组及CVVH治疗20 h组GRP78表达逐渐减少。见图1。

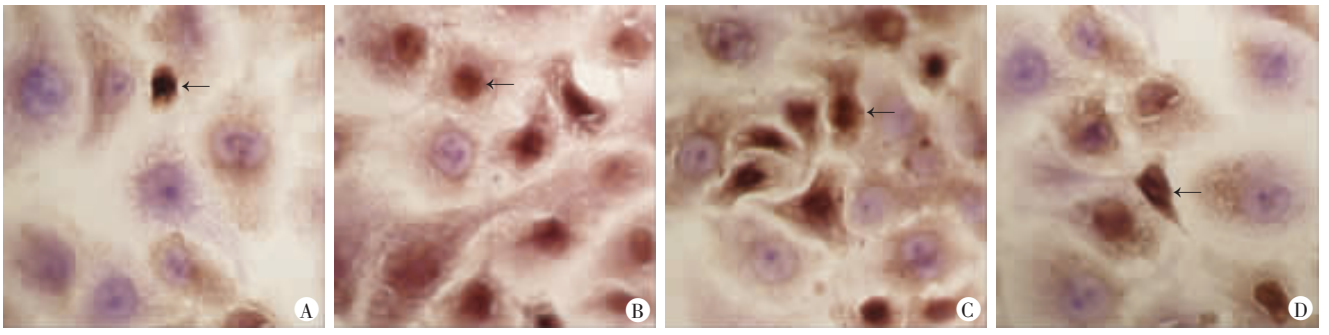
2.3 各组血清刺激时HUVEC细胞凋亡结果

光镜下TUNEL染色细胞核呈棕褐色为阳性,阳性细胞核形态不规则且固缩。见图2。健康对照组细胞凋亡率很低(9.79±1.74)%,CVVH治疗前组细胞凋亡率(66.17±3.84)%较健康对照组显著增加($P<0.01$),CVVH治疗6 h组细胞凋亡率(53.68±4.75)%明显低于治疗前组($P<0.01$),CVVH治疗20 h组细胞凋亡率进一步下降(46.37±5.39)%,低于CVVH治疗6 h组($P<0.01$)。



A:健康对照组;B:CVVH治疗前组 ↑:GRP78蛋白表达于细胞质;C:CVVH治疗6 h组;D:CVVH治疗20 h组

图1 各组血清刺激后HUVEC细胞GRP78免疫荧光染色结果 (免疫荧光 ×400)

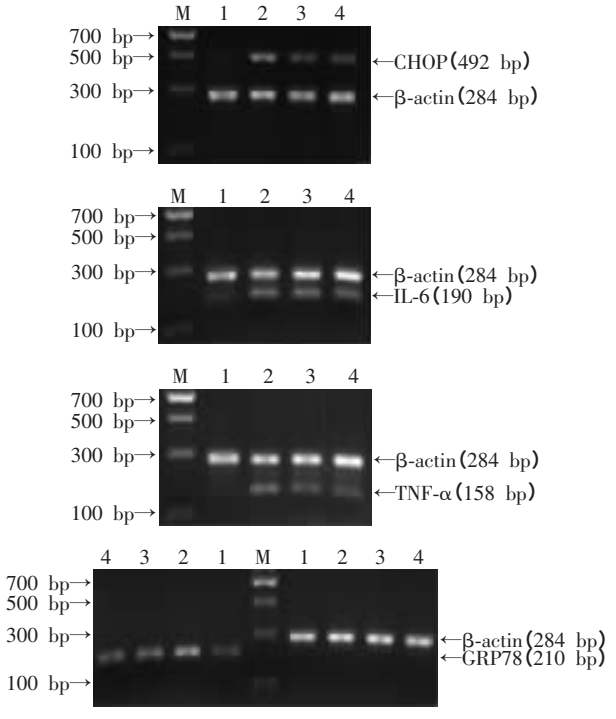


↑:凋亡细胞 A:健康对照组; B: CVVH治疗前组; C: CVVH治疗6 h组; D: CVVH治疗20 h组

图2 各组血清刺激后HUVEC细胞凋亡情况 (TUNEL ×400)

2.4 各组血清刺激时HUVEC细胞GRP78、CHOP、IL-6、TNF-α mRNA表达

健康对照组CHOP、TNF-α mRNA表达极少,GRP78、IL-6 mRNA少量表达,CVVH治疗前组GRP78、CHOP、IL-6、TNF-α mRNA表达较健康对照组显著增加($P<0.01$)。CVVH治疗6 h组GRP78、CHOP、IL-6、TNF-α mRNA表达明显减少,与治疗前组比较,差异有统计学意义($P<0.01$)。CVVH治疗20 h组上述指标表达较治疗6 h组进一步减少,2组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。见图3。



A、B、C、D:RT-PCR检测结果 M:DNA标准; 1:健康对照组; 2:CVVH治疗前组;3:CVVH治疗6 h组;4:CVVH治疗20 h组

图3 各组血清诱导的HUVEC细胞CHOP、GRP78、IL-6、TNF-α mRNA的表达

3 讨论

血管内皮细胞在血管形成、创伤愈合、凝血和抗凝血以及炎症反应等方面发挥多种生理功能,在维持机体内稳定状态中起重要作用[4]。研究表明,血管内皮细胞的功能状态在炎症反应综合征患者的转归中起重要作用[5],内皮细胞受损是MODS的病理基础[6]。Matsuda等[7]发现在盲肠结扎穿孔法(CLP)诱导的败血症休克大鼠模型中,血管内皮细胞凋亡增加。本实验发现,与健康对照组相比,MODS患者血清诱导的脐静脉内皮细胞凋亡率明显增加。

内质网是真核细胞中重要细胞器,在缺氧、氧化应激或各种理化条件的刺激下,内质网发生未折叠蛋白反应(UPR)和Ca^{2+}平衡失调,称为内质网应激(endoplasmic reticulum stress,ERS)。ERS是细胞的一种自我保护性机制,适度的应激反应有利于细胞在各种外界因素的刺激下恢复细胞稳定,而应激过强或时间过长则对机体细胞产生损伤作用,诱发细胞凋亡[8]。GRP78是内质网的重要分子伴侣,是反映ERS的特异指标[9]。适度的刺激可使GRP78表达增多,并与内质网中错误折叠和未折叠蛋白结合,恢复蛋白质的正确构象,维持内环境的稳定。Hayashi等[10]报道大鼠脑缺血预处理可诱导GRP78蛋白表达,对神经细胞延迟性缺血损伤产生保护作用。但GRP78过量表达则诱发细胞凋亡。CHOP又称生长停滞及DNA损伤基因(growth arrestand DNA damage inducible gene 153,GADD 153),是ERS的特异转录因子,在非应激状态下,它的表达水平很低,而在ERS时其表达量大大增加。研究表明,CHOP过度表达可导致细胞凋亡,而CHOP基因敲除小鼠则对内质网相关的凋亡产生显著的抵抗[11]。CHOP存在于细胞质内,在ERS时被活化转位至细胞核,主要是通过下调Bcl-2表达而促进细胞凋亡[12]。本实验采用健康对照组血清诱导HUVEC细胞,GRP78少量表达,CHOP极少表达,细胞凋亡率也很低,而用MODS患者血清诱导HUVEC细胞,GRP78、CHOP表达显著升高,表明ERS被启动,同时HUVEC凋亡率明显增加;同时发现CHOP、GRP78的

表达与HUVEC的细胞凋亡率变化趋势一致,经CVVH治疗,随着治疗时间的延长,GRP78、CHOP表达逐渐降低,表明ERS程度减轻,而细胞凋亡率也明显降低,说明细胞凋亡与ERS相关。

自1977年Kramer率先提出并应用连续性肾脏替代治疗(CRRT)方法以来,随着设备的不断改进及技术的提高,其应用范围已远超出肾脏病领域,成为救治危重病特别是MODS的重要手段之一。MODS主要是因机体炎症反应失控所导致的器官损伤,多种炎症介质参与是发病的关键。TNF-α和IL-6被认为是炎症反应中两种最主要的细胞因子[13,14]。CVVH清除炎症介质主要依靠膜吸附和对流两种方式,CVVH使用高分子合成膜,可持续滤过和吸附各种中大分子的炎症介质和抗炎因子,减轻体内炎症反应。研究证实,CRRT后患者血清中的TNF-α、IL-1β、IL-6、IL-8水平均有下降[15,16]。本实验结果显示,经过CVVH治疗后,MODS患者血清TNF-α、IL-6水平明显下降;同时,MODS患者血清所诱导的HUVEC细胞IL-6、TNF-α mRNA表达较健康对照组显著增加,经过CVVH治疗,在治疗6、20 h时,IL-6、TNF-α mRNA表达量逐渐下降。这表明CVVH治疗能有效清除炎症介质,减轻炎症反应。Gargalovic等[17]报道炎症介质的表达水平与内质网应激程度呈显著正相关,本实验也发现GRP78、CHOP的表达与细胞IL-6、TNF-α mRNA变化趋势相一致。与健康对照组相比,MODS患者血清SOD活性显著下降,MDA含量明显升高,提示MODS患者体内存在氧化应激,与文献[18]报道相符。MODS患者经过CVVH治疗,随着治疗时间的延长,血清SOD活性逐渐升高,MDA含量逐渐降低,表明CVVH治疗可有效减轻MODS患者氧化应激。氧化应激被认为是启动ERS的重要因素[10],CVVH治疗可以减轻氧化应激程度,清除炎症介质,我们认为这是CVVH减轻ERS的重要原因。

综上所述,MODS患者血清体外诱导血管内皮细胞,启动了ERS。CVVH治疗能减轻氧化应激,清除炎症介质,减轻ERS程度,从而减少血管内皮细胞凋亡。这可能是CVVH减轻MODS患者血管内皮细胞损伤的作用机制之一。

参考文献:

[1] 魏芳, 姜埃利, 王立华, 等. 连续性肾替代治疗对多脏器功能不全综合征患者炎性介质清除及内皮细胞功能的影响[J]. 中华肾脏病杂志, 2009, 25(1): 9-13.

[2] Matsuda N, Hattori Y. Vascular biology in sepsis: pathophysiological and therapeutic significance of vascular dysfunction[J]. J Smooth Muscle Res, 2007, 43(4): 117-137.

[3] Haberzettl P, Vladykovskaya E, Srivastava S, *et al*. Role of endoplasmic reticulum stress in acrolein-induced endothelial activation[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2009, 234(1): 14-24.

[4] Florea S M, Blatter L A. The effect of oxidative stress on Ca^{2+} release and capacitative Ca^{2+} entry in vascular endothelial cells[J]. Cell Calcium, 2008, 43(4) 405-415.

[5] Hu H, Li X, Li Y, *et al*. Calpain-1 induces apoptosis in pulmonary microvascular endothelial cells under septic conditions[J]. Microvasc Res, 2009, 78(1): 33-39.

[6] Boudjeltia K Z, Ollieuz S, Piagnerelli M, *et al*. Plasma fibrinolysis is related to the degree of organ dysfunction but not to the concentration of von Willebrand Factor in critically ill patients[J]. Thromb J, 2009, 7: 10.

[7] Matsuda N, Takano Y, Kageyama S, *et al*. Silencing of caspase-8 and caspase-3 by RNA interference prevents vascular endothelial cell injury in mice with endotoxic shock[J]. Cardiovasc Res, 2007, 76(1): 132-140.

[8] Inagi R. Endoplasmic reticulum stress in the kidney as a novel mediator of kidney injury[J]. Nephron Exp Nephrol, 2009, 112(1): e1-e9.

[9] 吴小玮, 何娅妮, 丁涵露, 等. 慢性肾病患者肾小管上皮细胞内质网应激与细胞凋亡的关系[J]. 第三军医大学学报, 2008, 30(11): 1010-1013.

[10] Hayashi T, Saito A, Okuno S, *et al*. Induction of GRP78 by ischemic preconditioning reduces endoplasmic reticulum stress and prevents delayed neuronal cell death[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2003, 23(8): 949-961.

[11] Oyadomari S, Mori M. Roles of CHOP/GADD153 in endoplasmic reticulum stress[J]. Cell Death Differ, 2004, 11(4): 381-389.

[12] Szegezdi E, Logue S E, Gorman A M, *et al*. Mediators of endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis[J]. EMBO Rep, 2006, 7(9): 880-885.

[13] Burdon D, Tiedje T, Pfeffer K, *et al*. The role of tumor necrosis factor in development of multiple organ failure in a murine model[J]. Crit Care Med, 2000, 28(6): 1962-1967.

[14] Panichi V, Maggiore U, Taccola D, *et al*. Interleukin-6 is a stronger predictor of total and cardiovascular mortality than C-reactive protein in haemodialysis patients[J]. Nephrol Dial Transplant, 2004, 19(5): 1154-1160.

[15] Nakamura M, Oda S, Sadahiro T, *et al*. The role of hypercytokinemia in the pathophysiology of tumor lysis syndrome (TLS) and the treatment with continuous hemodiafiltration using a polymethylmethacrylate membrane hemofilter (PMMA-CHDF)[J]. Transfus Apher Sci, 2009, 40(1): 41-47.

[16] Peng Y, Yuan Z, Li H. Removal of inflammatory cytokines and endotoxin by veno-venous continuous renal replacement therapy for burned patients with sepsis[J]. Burns, 2005, 31(5): 623-628.

[17] Gargalovic P S, Gharavi N M, Clark M J, *et al*. The unfolded protein response is an important regulator of inflammatory genes in endothelial cells[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2006, 26(11): 2490-2496.

[18] Nepomniashchikh V A, Lomivorotov V V, Deryagin M N, *et al*. Oxidative stress and monooxygenase liver function in patients with coronary heart disease and multiple organ dysfunction syndrome[J]. Eur J Anaesthesiol, 2009, 26(2): 140-146.

(**收稿**:2009-10-15;**修回**:2009-12-06)

(编辑 汪勤俭)