论著

文章编号:1000-5404(2010)20-2158-05

白介素-1β对家兔内毒素休克血管钙敏感性的调节作用及与Rho激酶和PKC的关系

梁家林,李 涛,杨光明,徐 竞,贺教江,陈 垦,刘良明 (400042 重庆,第三军医大学大坪医院野战外科研究所第二研究室,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室)

【摘要】 目的 观察白介素-1β(IL-1β)对家兔内毒素休克及离体血管钙敏感性影响及与PKC、Rho激酶的关系。**方法** 健康成年家兔35只,雌雄不拘,完全随机分为正常对照组,LPS 30 min组,LPS 1 h组,LPS 2 h组,LPS 4 h组,每组7只,经耳缘静脉注射1 mg/kg LPS(O_{111}:B_4)复制家兔内毒素休克模型,在给LPS后30 min、1、2、4 h取血清及肠系膜上动脉(superior mesenteric artery, SMA),用ELISA方法检测不同时相点血清中IL-1β的浓度;用离体血管环张力测定技术,测血管环钙敏感性的变化,分析其与血清IL-1β浓度的相关关系。另取家兔70只,采用随机数字表分为正常对照组,25 ng/ml IL-1β组,50 ng/ml IL-1β组,100 ng/ml IL-1β组,150 ng/ml IL-1β组,200 ng/ml IL-1β组,200 ng/ml IL-1β + PMA组,200 ng/ml IL-1β + staurosporine组,200 ng/ml IL-1β + AngⅡ组,200 ng/ml IL-1β + Y27632组,每组7只。无菌条件下取正常家兔SMA,检测不同浓度重组人IL-1β对其钙敏感性的影响及与PKC、Rho激酶的关系。**结果** 给LPS后30 min至1 h内成功复制出内毒素休克模型,测其平均动脉压(mean artery pressure, MAP)下降30%以上,血清中IL-1β在2 h后即开始上升,至4 h时显著升高($P<0.01$);SMA钙敏感性在给LPS后30 min、1 h较正常对照组明显增高($P<0.01$),而在给LPS后2、4 h则明显降低($P<0.01$),其变化趋势与血清IL-1β水平变化呈显著负相关($r=-0.675$, $P<0.01$)。IL-1β可诱导离体SMA钙敏感性下降,其作用可被PKC和Rho激酶的激动剂拮抗。**结论** IL-1β能够降低血管钙敏感性,且该作用与PKC、Rho激酶密切相关,IL-1β对内毒素休克后血管钙失敏可能有重要介导作用。

【关键词】 内毒素休克;白介素-1β;钙失敏;血管低反应性

【中图法分类号】 R631.102;R322.12;R392.11 **【文献标志码】** A

Regulatory role of interleukin-1β in vascular calcium sensitivity and its relationship with PKC and Rho kinase in rabbits following endotoxic shock

Liang Jialin, Li Tao, Yang Guangming, Xu Jing, He Jiaojiang, Chen Ken, Liu Liangming (State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Department 2, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042, China)

【Abstract】 **Objective** To investigate the effect of interleukin-1β (IL-1β) on vascular calcium sensitivity *in vitro* and in rabbit after endotoxic shock, and to evaluate whether the effect is concerned with protein kinase C (PKC) and Rho kinase. **Methods** A total of 35 adult rabbits were divided into 5 groups: normal control, LPS 30-minute, LPS 1-hour, LPS 2-hour, and LPS 4-hour groups ($n=7$). Rabbits were given 1 mg/kg of LPS (O_{111}: B_4) *via* ear-border vein to induce endotoxic shock. Then blood serum and superior mesenteric artery (SMA) were collected to measure IL-1β concentration and calcium sensitivity respectively at corresponding time points. The vascular calcium sensitivity was measured with an isolated organ perfusion system. Then the correlation of calcium sensitivity of SMAs with IL-1β concentration in blood serum was analyzed. Effects of different concentrations of IL-1β (25, 50, 100, 150 and 200 ng/ml) on vascular calcium sensitivity of SMAs and the relationship to PKC and Rho kinase were also observed with the aid of their agonists, inhibitors and antagonists (200 ng/ml IL-1β + 10^{-7} mol/L PMA, + 10^{-7}/10^{-6}/10^{-5} mol/L staurosporine, + 10^{-5} mol/L Y27632, and + 10^{-9} mol/L AngⅡ). **Results** Endotoxic shock model was successfully produced in 30 min to 1 h after LPS injection. The IL-1β concentration of blood serum started to increase at 2 h after injection, and it was then elevated very obviously at 4 h after injection ($P<0.01$). As compared to the control group, the calci-

【基金项目】 国家杰出青年科学基金(30625037)

【通信作者】 刘良明,电话:(023)68757421,E-mail:liangmingliu@yahoo.com

um sensitivity of SMAs at early period (30 min and 1 h) after LPS injection was increased significantly ($P < 0.01$), however, in 2 h and 4 h after LPS injection, it was decreased obviously ($P < 0.01$). The changes of vascular calcium sensitivity was positively correlated with the IL-1β concentration in blood serum ($r = -0.675$, $P < 0.05$). IL-1β reduced the calcium sensitivity of SMA *in vitro*, but the effect was reversed by PKC and Rho kinase agonists. **Conclusion** Our experiments reveal that IL-1β could decrease calcium sensitivity of rabbit *in vitro*, and its effect is closely related to PKC and Rho kinase. IL-1β may play a very important role in calcium desensitization following endotoxic shock in rabbits.

[Key words] endotoxic shock; interleukin-1β; calcium desensitization; vascular reactivity

Supported by the National Science Fundation for Distinguished Young Scholars (30625037). Corresponding author: Liu liangming, Tel: 86-23-68757421, E-mail: liangmingliu@yahoo.com

内毒素休克是临床常见的感染及微循环障碍,其死亡率始终高居不下,应引起我们的足够重视[1]。现有研究表明,严重创伤、感染及各型休克晚期均存在血管低反应性[2,3],它严重影响着休克的治疗,是影响休克死亡率的重要因素。内毒素休克引起的 TNF-α、IL-1β、IL-6 等的瀑布式释放,在内毒素休克的病理生理过程中起重要作用。体内外研究实验均显示 IL-1β 能够介导血管收缩反应性下降,目前认为其主要通过 NO 和前列腺素等物质的作用及开通 K_{ATP}[4]、BK_{Ca} 通道[5]引起血管平滑肌细胞膜超极化来介导的。但是针对上述机制进行纠正这些不利因素,尚不能完全恢复血管反应性,更不能完全缓解内毒素休克的病理生理进程,提示还存在着其他机制。本室前期研究发现钙失敏在出血性休克后期血管低反应性中有重要作用,并发现 PKC、Rho 激酶在钙敏感性的调控中起重要作用[6,7]。另外,本室前期实验结果显示,内毒素休克后期血管同样存在钙失敏现象[8]。那么 IL-1β 是否通过改变血管钙敏感性来介导血管反应性,以及是否与 PKC、Rho 激酶有关目前尚不清楚。本实验采用家兔内毒素休克模型及体外实验,对此进行了研究,旨在进一步了解内毒素休克钙失敏发生的可能机制,为内毒素休克的可能防治措施提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

实验用动物按照第三军医大学动物实验伦理学会规定使用及尸体处理。普通级成年家兔 105 只,雌雄不拘,体质量 2.0~2.5 kg,由第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心提供。动物实验前 12 h 禁食,可自由饮水。

1.2 主要试剂与仪器

脂多糖(LPS,*Escherichia coli* O_{111}: B_4,Sigma 公司),兔白介素-1β ELISA 试剂盒(Rapidbio 公司),重组人白介素-1β(IL-1β,Sigma 公司),DMEM/F-12 1∶1及新西兰胎牛血清(HyClone 公司),血管紧张素Ⅱ、Y27632、PMA、staurosporine(均为 Sigma 公司),配制 Krebs-Henseleit 重碳酸盐缓冲液(K-H 液)的试剂均为国产分析纯。Power lab 八道生理记录仪及压力传感器(AD 公司),恒温离体器官灌流槽(Letica 公司),多功能读板机(Bio-TEDSynergy HT),CO_2 培养箱(SHEL/JB)。

1.3 内毒素休克家兔血管钙敏感性变化规律及与 IL-1β 的关系

家兔 35 只,应用随机数字表将动物完全随机分为正常对照组,LPS 30 min 组,LPS 1 h 组,LPS 2 h 组和 LPS 4 h 组,每组 7 只。实验前 12 h 家兔禁食、自由饮水,经耳缘静脉注射 1 mg/kg LPS(O_{111}: B_4)制作内毒素休克模型,股动脉插管监测平均动脉压(MAP)变化。对于能够成功使 MAP 下降 30% 或以上的,作为成功制备的内毒素休克模型。在动物正常及给 LPS 后 30 min、1、2、4 h 动物用 2~3 ml 3% 戊巴比妥钠麻醉后剖腹经腹主动脉插管取动脉血,不加抗凝剂,4 ℃ 冰箱中静置 5~20 min 待血液凝固后,离心(3 000×*g* 15 min,4 ℃)得上清,即为血清,分装并保存于 -70 ℃ 备用,同时取肠系膜上动脉,去除其周围脂肪结缔组织,修剪成 2~3 mm 长的血管环,用于钙敏感性的测定,分析钙敏感性变化与血清 IL-1β 水平变化的相关关系。

1.4 不同浓度 IL-1β 对家兔离体 SMA 钙敏感性的影响及与 PKC、Rho 激酶的关系

另取家兔 70 只,采用随机数字表分为正常对照组,25 ng/ml IL-1β 组,50 ng/ml IL-1β 组,100 ng/ml IL-1β 组,150 ng/ml IL-1β组,200 ng/ml IL-1β 组,200 ng/ml IL-1β + PMA 组,200 ng/ml IL-1β + staurosporine 组,200 ng/ml IL-1β + AngⅡ组,200 ng/ml IL-1β + Y27632 组,每组 7 只。用 2.5~3 ml 3% 戊巴比妥钠麻醉后,无菌条件下获取 SMA,去除其周围脂肪结缔组织,将 SMA 主干修剪成 2~3 mm 长血管环,将血管环与 1 ml 含 10% 体积胎牛血清及 IL-1β(使终浓度为上述浓度)的 DMEM 培养基混匀于 24 孔培养板中(其中正常对照组的培养基中不加入 IL-1β),然后置于 37 ℃,5% CO_2 细胞培养箱中孵育 12 h 后取出用于 SMA 钙敏感性测定。取 200 ng/ml 组血管环,分别加入终浓度为 10^{-7} mol/L 的 PKC 特异性激动剂 PMA,10^{-7}、10^{-6} mol/L 及 10^{-5} mol/L PKC 特异性抑制剂 staurosporine,10^{-5} mol/L 的 Rho 激酶特异性拮抗剂 Y27632,10^{-9} mol/L 的

Rho激酶特异性激动剂AngⅡ预处理10～15 min，然后测其钙敏感性，并与不加任何激动剂和抑制剂的IL-1β 200 ng/ml组进行比较。

1.5 指标测定

1.5.1 血管钙敏感性测定 取1.3和1.4制备和处理好的血管环，分别测定各组血管环对Ca^{2+}的敏感性。将所取血管环挂于注有K-H液[Krebs-Henseleit solution，组成(mmol/L)：NaCl 118、KCl 4.7、$NaHCO_3$ 25、KH_2PO_4 1.03、$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.45、$CaCl_2$ 2.5、Glucose 11.1、pH 7.4]的离体器官灌流槽的浴槽中，持续充入体积分数为95% O_2和5% CO_2混合气体，给予SMA预初张力3 g，25 ℃恒温孵育120 min，每30分钟换液1次，待张力曲线平稳后，换用高钾液[组成(mmol/L)：NaCl 2.7、KCl 120、$NaHCO_3$ 25、KH_2PO_4 1.03、$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.45、Glucose 11.1、pH 7.4]孵育15 min×4，待张力曲线平稳后，测定血管环对浓度梯度Ca^{2+}(3×10^{-5}、10^{-4}、3×10^{-4}、10^{-3}、2×10^{-3}、6×10^{-3} mol/L)的反应性。以收缩力/血管环质量(g/mg)为量化标准，作量-效曲线，用最大收缩力(E_{max})以及半数有效浓度的负对数(PD_2)来评价血管收缩反应性。

1.5.2 内毒素休克后不同时相点血清中IL-1β浓度的测定

将上述实验1.3所取到的各时相点的血清从－70 ℃冰箱中取出，按照IL-1β ELISA试剂盒操作步骤进行，测量各组在450 nm处光密度值[D(450)]。用Curve Expert 1.3软件进行曲线拟合，绘出标准曲线，求出各组血清的IL-1β浓度。

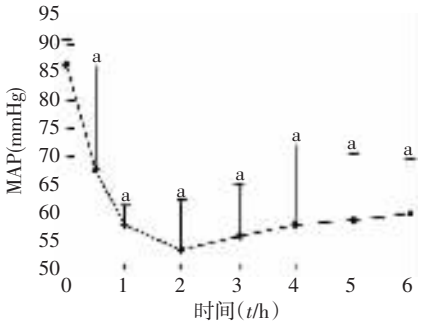
1.6 统计学处理

所有结果以$\bar{x} \pm s$表示，利用SPSS 18.0统计软件，多组间数据采用单因素和或双因素方差分析，对于组间有显著性差异的，用LSD方法进行组间的两两比较。利用Curve Expert 1.3软件对ELISA计量数据进行处理，采用Pearson进行相关分析。

2 结果

2.1 给LPS后家兔MAP的变化

由图1可见家兔在给LPS后MAP即开始迅速下降，1 h后MAP约为60 mmHg，降幅有30%，约于2 h达到最低点，在5 h和6 h MAP稍有上升，但是仍然低于1 h时水平，在1～6 h内MAP变化不大，维持在50～60 mmHg，与给LPS即刻相比，30 min起MAP显著降低($P<0.05$)。

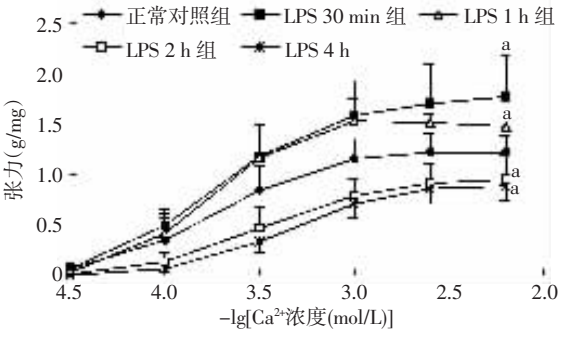


a $P<0.05$，与给LPS即刻时(0 min)比较

图1 家兔经耳缘静脉给1 mg/kg LPS后不同时间点MAP平均变化趋势

2.2 给LPS后不同时相点SMA钙敏感性的变化

与正常对照组相比，给LPS后30 min、1 h时，SMA的钙敏感性呈升高趋势，其对Ca^{2+}的量-效曲线左移，最大收缩力(E_{max})显著升高($P<0.01$)。随着时间的延长，血管环的钙敏感性逐步下降，在2 h和4 h时，SMA的钙敏感性明显下降，其量-效曲线右移，E_{max}明显降低($P<0.01$)。PD_2除在2 h和4 h时较正常对照组明显降低外($P<0.01$)，其余组均无明显变化(图2，表1)。



a $P<0.01$，与正常对照组比较

图2 给LPS后不同时相点SMA钙敏感性化的变化

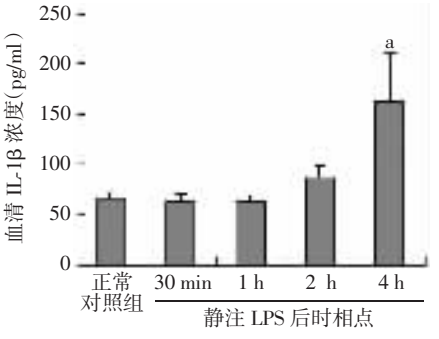
表1 给LPS后不同时相点SMA对(3×10^{-5}～6×10^{-3} mol/L)钙反应性的E_{max}和PD_2的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	n	E_{max}(g/mg)	PD_2[－lg(mol/L)]
正常对照组	7	1.221±0.160	3.753±0.159
给LPS后30 min组	7	1.775±0.421[a]	3.728±0.131
给LPS后1 h组	7	1.475±0.035[a]	3.746±0.111
给LPS后2 h组	7	0.960±0.230[a]	3.560±0.147[a]
给LPS后4 h组	7	0.886±0.146[a]	3.369±0.071[a]

a $P<0.01$，与正常对照组比较

2.3 给LPS后不同时间血清中IL-1β浓度的变化

以标准品的吸光度作曲线得出其相关系数为0.999 9。在给LPS后30 min、1 h，血清中IL-1β浓度较正常对照组无明显变化，从2 h开始升高，至4 h IL-1β浓度升高明显($P<0.01$，图3)。



a $P<0.01$，与正常对照组比较

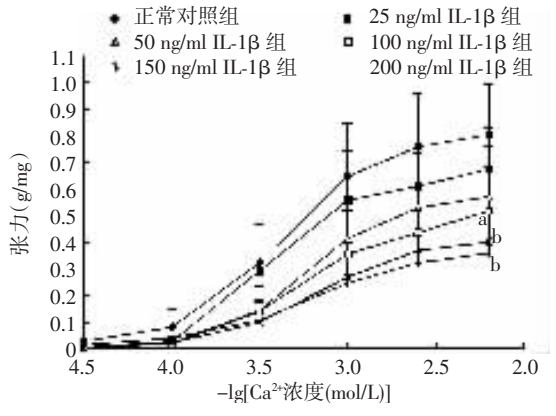
图3 给LPS后不同时间血清中IL-1β表达量的变化

2.4 给 LPS 后 SMA 钙敏感性的 E_{max} 与血清中 IL-1β 浓度的相关性分析

运用 SPSS 18.0 软件对 E_{max} 和 IL-1β 浓度做相关性分析，结果显示 SMA 钙敏感性的变化与血清 IL-1β 浓度的变化呈显著负相关（$r = -0.675$，$P < 0.01$）。

2.5 不同浓度 IL-1β 对家兔的离体 SMA 血管环的钙敏感性的影响

在与 25、50 ng/ml IL-1β 孵育 12 h 后血管环对钙敏感性的量效曲线即开始右移，E_{max} 开始下降，但无统计学差异（$P > 0.05$），在 100 ng/ml 时 E_{max} 明显下降（$P < 0.05$），在 150 ng/ml 和 200 ng/ml 时下降更明显（$P < 0.01$）。但各组的 PD_2 值均无统计学差异（$P > 0.05$，图 4，表 2）。



a $P < 0.05$，b $P < 0.01$，与正常对照组比较

图 4　不同浓度 IL-1β 对家兔的离体 SMA 血管环的钙敏感性的影响

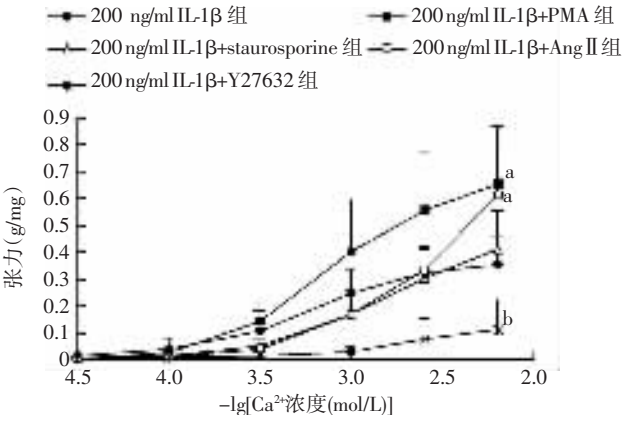
表 2　不同浓度 IL-1β 对正常家兔的离体 SMA 血管环钙敏感性 E_{max}、PD_2 值的影响（$\bar{x} \pm s$）

组别	n	E_{max}(g/mg)	PD_2[−lg(mol/L)]
正常对照组	7	0.803 ± 0.254	3.394 ± 0.128
25 ng/ml IL-1β 组	7	0.674 ± 0.258	3.451 ± 0.265
50 ng/ml IL-1β 组	7	0.572 ± 0.187	3.217 ± 0.158
100 ng/ml IL-1β 组	7	0.515 ± 0.227[a]	3.142 ± 0.196
150 ng/ml IL-1β 组	7	0.400 ± 0.174[b]	3.212 ± 0.265
200 ng/ml IL-1β 组	7	0.357 ± 0.107[b]	3.251 ± 0.166

a $P < 0.05$，b $P < 0.01$，与正常对照组比较

2.6 PKC、Rho 激酶激动剂及拮抗剂对 200 ng/ml IL-1β 组 SMA 钙敏感性的影响

与 200 ng/ml IL-1β 组 SMA 钙敏感性相比，终浓度为 10^{-7} mol/L 的 PKC 特异性激动剂 PMA 和 10^{-9} mol/L 的 Rho 激酶激动剂 AngⅡ预处理 200 ng/ml IL-1β 组血管环 15 min 均能使量效曲线左移，E_{max} 明显升高（$P < 0.05$），终浓度为 10^{-5} mol/L 的 Rho 激酶特异性拮抗剂 Y27632 预处理能使量效曲线右移，E_{max} 明显降低（$P < 0.05$），但是终浓度为 $10^{-7} \sim 10^{-5}$ mol/L PKC 特异性抑制剂 staurosporine 却不能改变其钙敏感性，E_{max} 无明显差异（$P < 0.05$）。各处理组的 PD_2 值无明显差异（$P > 0.05$，图 5）。



a $P < 0.05$，与 200 ng/ml IL-1β 组比较

图 5　PKC、Rho 激酶特异性激动剂、拮抗剂对 IL-1β 处理的家兔血管环钙敏感性的影响

3 讨论

作为内毒素休克机体产生和释放的主要细胞因子之一，其在内毒素休克的病理生理过程中起重要作用。研究发现 IL-1β 体内应用能诱导出休克样状态[9]，而体外实验提示低浓度的重组人 IL-1β 如 20 ng/ml 甚至更低就可抑制血管收缩。6 h 内 IL-1β 抑制血管环对去氧肾上腺素（PE）反应性的作用机制主要是 NO 依赖性的，即依赖于 NO 的产生发挥抑制血管收缩作用的，而随着孵育时间的延长，在 12 ~ 24 h 时，该抑制效应存在 NO 非依赖性机制。目前已知的是 K_{ATP} 通道、BKca 通道开放可能参与介导了这一机制，但是纠正目前已知的这两方面机制，依然无法完全纠正孵育长时间（12 ~ 24 h）时的血管对 PE 的低反应性[9,10]，提示还存在着其他的机制。为此本实验目的是探索 IL-1β 介导血管低反应性的 NO 非依赖性机制中是否还存在血管钙失敏机制，且 IL-1β 介导血管钙失敏作用与 PKC、Rho 激酶是否有关系。

我们用 1 mg/ml LPS 经家兔耳缘静脉注入成功复制出内毒素休克模型。本研究发现内毒素休克早期（给 LPS 后 1 h 内）由于代偿作用，钙敏感性出现增强。而在后期（给 LPS 后 2、4 h）则出现钙失敏现象，且随着时间延长，钙失敏越严重。而此时血清中IL-1β的水平出现相反的变化趋势，早期（给 LPS 后 1 h 内）无明显变化，在 2 h 后即开始上升，到 4 h 时增高明显（$P < 0.01$），进一步对血管钙敏感性的 E_{max} 值与血清中 IL-1β浓度进行相关性分析，发现两者存在显著的负相关关系。为排除内毒素休克机体其他细胞因子和产物的影响，我们在体外用 IL-1β 单因素作用于血管组织，看其对血管钙敏感性是否存在作用。发现与正常对照

组钙敏感性相比,25 ng/ml 和50 ng/ml IL-1β组无明显变化($P>0.05$),但是 100 ng/ml IL-1β 组则出现显著下降($P<0.05$),而 150 ng/ml 和200 ng/ml IL-1β组下降更明显($P<0.01$),可见 IL-1β 降低血管钙敏感性的作用是浓度依赖性的。用 PKC、Rho 激酶激动剂预处理15 min 均能显著提高200 ng/ml IL-1β 组 SMA 的钙敏感性($P<0.05$),运用 Rho 激酶特异性抑制剂 Y27632 预处理15 min 能够显著抑制200 ng/ml IL-1β 组 SMA 的钙敏感性($P<0.05$),但 PKC 特异性抑制剂 staurosporine 预处理15 min 却不能显著抑制200 ng/ml IL-1β 组 SMA 的钙敏感性($P>0.05$)。据此推测 IL-1β 能够介导血管钙失敏作用,且该作用与 PKC、Rho 激酶有关系。

我们的整体动物实验结果提示 IL-1β 对内毒素休克血管钙敏感性改变有显著的负相关性,而现有离体动物实验研究发现20 ng/ml IL-1β 与大鼠主动脉孵育24 h 并不能改变其钙敏感性[9]。分析原因,我们推测可能是浓度的问题,为此我们增加 IL-1β 的浓度看其是否能改变血管钙敏感性。果然提高 IL-1β 浓度为100 ng/ml 时,与正常对照组 SMA 相比其钙敏感性即出现显著下降($P<0.05$),且呈浓度依赖性降低,这一结果在验证国外前期实验的同时获得了新的结论,即 IL-1β 对血管钙敏感性有降低作用。且发现 PKC、Rho 激酶对 IL-1β 介导的血管钙敏感性改变存在密切的相关性。

但是值得注意的是本实验体外所用 IL-1β 发生效应的浓度远高于内毒素休克后家兔血清中 IL-1β 的浓度。分析原因主要有:①体内外环境差异明显:在体内 IL-1β 的作用并不是孤立存在的,它与其他细胞因子存在协同、叠加、拮抗的作用,能够促进其他细胞因子的表达,出现级联放大效应,且与机体神经、血液、免疫、内分泌等系统均存在相互效应,而在体外只存在 IL-1β 单因素的作用,导致离体组织不能精确反应整体的情况,自然可能出现差异;②IL-1β 发挥效应强弱往往取决于靶细胞本身的类型和局部的浓度,血管平滑肌细胞和内皮细胞在内毒素休克中均能产生 IL-1β,以自分泌的方式作用于自身,另外它们还能接受旁分泌而来的其他可产生 IL-1β 的细胞的作用,而血清反应的是整体的 IL-1β 水平并不能反应局部浓度。并且在脓毒症中 IL-1β 的浓度变化可从 pg/ml 到 ng/ml 甚至到 μg/ml 水平发生变化[11],故可能血清中 IL-1β 的浓度并不是其真正作用浓度。另有研究发现体外实验用20 ng/ml 甚至60 ng/ml IL-1β 处理血管1 h 不能改变血管管径和对 PE 的反应性,但是在体内仅用0.01 ng/ml 处理1 h 即能引起管径增加[12],体内外效应浓度相差居然有上千倍,故我们的实验可能提示 IL-1β能够介导内毒素休克后血管钙失敏作用。

本研究提示 IL-1β 能够调节家兔离体血管的钙敏感性,导致其敏感性降低,且该调节作用的初步机制与 Rho 激酶、PKC 有关,但它是如何调节 Rho 激酶、PKC 的目前尚不清楚。另外,IL-1β 可能对内毒素休克血管钙失敏有重要介导作用,但还需进一步实验验证。

参考文献:

[1] Christaki E, Opal S M. Is the mortality rate for septic shock really decreasing? [J]. Curr Opin Crit Care, 2008, 14(5): 580-586.

[2] Liu L M, Ward J A, Dubick M A. Hemorrhage-induced vascular hyporeactivity to norepinephrine in select vasculatures of rats and the roles of nitric oxide and endothelin[J]. Shock, 2003, 19(3): 208-214.

[3] Fernandes D, Assreuy J. Nitric oxide and vascular reactivity in sepsis [J]. Shock, 2008, 30 (Suppl 1): 10-13.

[4] Takizawa S, Ozaki H, Karaki H. Possible involvement of K^+ channel opening to the interleukin-1 beta-induced inhibition of vascular smooth muscle contraction[J]. J Vet Med Sci, 1999, 61(4): 357-360.

[5] Gao Y, Yang Y, Guan Q, *et al*. IL-1beta modulate the Ca^{2+}-activated big-conductance K channels (BK) *via* reactive oxygen species in cultured rat aorta smooth muscle cells[J]. Mol Cell Biochem, 2010, 338(1/2): 59-68.

[6] Xu J, Yang G, Li T, *et al*. Involvement of Cpi-17 and zipper-interacting protein kinase in the regulation of protein kinase C-alpha, protein kinase C-epsilon on vascular calcium sensitivity after hemorrhagic shock [J]. Shock, 2010, 33(1): 49-55.

[7] Li T, Liu L, Liu J, *et al*. Mechanisms of Rho kinase regulation of vascular reactivity following hemorrhagic shock in rats[J]. Shock, 2008, 29(1): 65-70.

[8] 贺教江, 李涛, 杨光明, 等. TNF-α 对家兔内毒素休克钙敏感性的影响及其与 Rho 激酶和蛋白激酶 C 的关系[J]. 第三军医大学学报, 2010, 32(9): 865-868.

[9] Vila E, Salaices M. Cytokines and vascular reactivity in resistance arteries[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2005, 288(3): H1016-H1021.

[10] De-Salvatore G, De-Salvia M A, Piepoli A L, *et al*. Effects of *in vivo* treatment with interleukins 1beta and 6 on rat mesenteric vascular bed reactivity[J]. Auton Autacoid Pharmacol, 2003, 23(2): 125-131.

[11] de-Jong H K, van-der-Poll T, Wiersinga W J. The systemic pro-inflammatory response in sepsis[J]. J Innate Immun, 2010, 2(5): 422-430.

[12] Minghini A, Britt L D, Hill M A. Interleukin-1 and interleukin-6 mediated skeletal muscle arteriolar vasodilation: *in vitro* versus *in vivo* studies[J]. Shock, 1998, 9(3): 210-215.

(收稿:2010-05-25 修回:2010-08-22)

(编辑 张 维)