

15-KETE 对慢性缺氧大鼠肺动脉平滑肌细胞钾离子通道的作用

张一飞¹, 郭守利², 刘 晔³, 朱大岭³

- (1. 哈尔滨医科大学第二临床医学院药学部, 哈尔滨 150086;
2. 哈尔滨医科大学第二临床医学院实验动物中心, 哈尔滨 150086;
3. 哈尔滨医科大学药学院, 哈尔滨 150086)

摘要】 目的 观察 15-酮基二十碳四烯酸 (15-ketoeicosatetraenoic acid, 15-KETE) 对缺氧大鼠肺动脉平滑肌细胞 (pulmonary arterial smooth cells, PASCs) 膜电压门控钾离子通道的活性的影响。方法 将 12 只雄性 SD 大鼠随机分成对照组和缺氧组, 每组 6 只。采用急性酶分离法 (胶原酶 I 型和弹性酶) 获得 SD 大鼠单个 PASCs, 应用全细胞膜片钳记录方法, 研究 15-KETE 对两组大鼠膜电位 (E_m)、膜电容 (C_m)、电压门控钾电流 (I_{Kv}) 的影响。结果 (1) 慢性缺氧使大鼠 PASCs 的 E_m 显著去极化 ($P < 0.05$, $n = 6$), 明显地抑制了大鼠 PASCs 的 I_{Kv} ($P < 0.01$, $n = 6$), 对大鼠 PASCs 的 C_m 无影响; (2) 较高浓度的 15-KETE (1×10^{-7} mol/L, 1×10^{-6} mol/L) 可使慢性缺氧大鼠 PASCs 去极化; (3) 15-KETE (1×10^{-8} mol/L $\sim 1 \times 10^{-6}$ mol/L) 可浓度依赖性地抑制慢性缺氧大鼠 PASCs 的 I_{Kv} ; (4) 较高浓度 15-KETE (1×10^{-7} mol/L, 1×10^{-6} mol/L) 对缺氧 PASCs I_{Kv} 的平均阻抑率显著高于常氧 PASCs。结论 缺氧未改变 15-KETE 引大鼠 PASCs 去极化及浓度依赖抑止 I_{Kv} 的特性, 且缺氧可能改变了 PASCs 对 15-KETE 的敏感性。

【关键词】 钾通道; 缺氧; 花生四烯酸类; 膜片钳术; 肌细胞; 平滑肌

【中图分类号】 R338; R965; R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2011)01-0027-06

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2011.01.006

Effect of 15-KETE on Voltage-gated K^+ Current in the Intrapulmonary Arterial Smooth Muscle Cells of Chronic Hypoxic Rats

ZHANG Yi-fei¹, GUO Shou-li², LIU Ye³, ZHU Da-ling³

- (1. The Second Affiliated Hospital, The Department of Pharmacy, Harbin Medical University, Harbin 150086, China;
2. Animal Experiment Center of the Second Affiliated Hospital, Harbin Medical University, Harbin 150086, China;
3. College of Pharmacy, Harbin Medical University, Harbin 150086, China)

【Abstract】 Objective To observe the effect of 15-KETE on voltage-gated K^+ (I_{Kv}) current in the intrapulmonary arterial smooth muscle cells (PASCs) of chronic hypoxic rats. **Methods** Twelve male SD rats matched with age and body weight were randomly divided into control and hypoxic groups. Single PASCs were obtained with acute enzyme (collagen I plus elastase) dispersing method. Using whole cell patch-clamp technique in freshly isolated rat PASCs from normoxic and hypoxic rats, the effect of 15-KETE on I_{Kv} current was recorded. **Results** (1) The resting membrane potential (E_m) in PASCs from chronic hypoxic rats was significantly depolarized to compared with that from normoxic control rats ($P < 0.05$, $n = 6$). The chronic hypoxia significantly inhibited the I_{Kv} of PASCs from rats ($P < 0.01$, $n =$

基金项目】 黑龙江省科技攻关项目 (PC09S03)。

作者简介】 张一飞 (1972 -), 女, 副主任药师, 研究方向: 中药药理学。E-mail: gsljkjy@126.com。

6), but did not alter the membrane capacitance (C_m) of PSMCs from rats. (2) The higher concentration of 15-KETE (1×10^{-7} mol/L, 1×10^{-6} mol/L) depolarized PSMCs from chronic hypoxic rats. (3) 15-KETE (1×10^{-8} mol/L $\sim 1 \times 10^{-6}$ mol/L) caused concentration-dependent inhibition of I_{Kv} in PSMCs from chronic hypoxic rats. (4) The percent inhibition that the higher concentration of 15-KETE (1×10^{-7} mol/L, 1×10^{-6} mol/L) caused from chronic hypoxic rats was greater than that from normoxic control rats. **Conclusions** Hypoxia did not change the effect of 15-KETE on the passive electrical properties of PSMCs. In both normoxic and hypoxic PSMCs, exogenous 15-KETE could cause concentration-dependent inhibition I_{Kv} current, and the inhibition of I_{Kv} current from hypoxic rats were greater than that from normoxic rats in higher concentration (1×10^{-7} mol/L $\sim 1 \times 10^{-6}$ mol/L). Hypoxia might alter the sensitivity of PSMCs to 15-KETE.

[Key words] Postassium channel; Hypoxia; Arachidonic acid; Patch-clamp technique; Myocytes; Smooth muscle

肺血管收缩反应增强和结构重建是低氧性肺动脉高压(hypoxic pulmonary hypertension, HPH)的重要特征,其主要表现形式是肺血管收缩和中膜平滑肌细胞的增殖和迁移,但其机制尚未明确。近来关于花生四烯酸(arachidonic acid, AA)及其一系列代谢产物在肺动脉收缩节律的调节作用越来越受到人们的关注。15-酮基二十碳四烯酸(15-KETE)是 AA 的 15-脂氧化酶(15-LO)一种代谢终产物,同时也是 AA 的 15-LO 另一种代谢产物 15-HETE 脱氢氧化产物^[1,2]。有研究表明缺氧可上调肺动脉平滑肌细胞 15-LO 的表达^[3],因此缺氧时 AA 的代谢产物有其相应的细胞分布及相应的作用位点。

电压门控钾通道(K_v)作为肺动脉平滑肌细胞的氧感受器,在缺氧性肺动脉高压发病中的重要性越来越受到重视。有研究报道 15-HETE 通过抑制 K_v 通道引起肺动脉收缩^[4],15-KETE 对大鼠肺动脉环的收缩作用比 15-HETE 更强烈^[5],其收缩作用依赖于 K_v 通道、细胞外液钙离子和 L-型钙离子通道^[6],外源性 15-KETE 能浓度依赖性地抑制常氧大鼠 PSMCs I_{K_v} ^[6]。本实验观察了 15-KETE 对缺氧大鼠 PSMCs I_{K_v} 的影响,并与其对常氧大鼠 PSMCs I_{K_v} 的作用加以比较,为进一步阐明 15-KETE 收缩肺动脉离子通道机制提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物:12 只健康雄性 SD 大鼠,体重 200 ± 20 g,由哈尔滨医科大学实验动物学部提供[SCXK(黑)2006-033]。

1.1.2 药品与试剂:胶原酶 I 型,弹性酶,BSA,TEA, Na_2ATP , Na_2GTP , HEPES 和 BAPTA (Sigma, 美国); DTT (Roche, 美国), 15-KETE (Biomol, 美

国),其余试剂均为国产分析纯产品。

1.1.3 主要仪器:体视解剖显微镜(SMZ-468, Motic),膜片钳仪,Axopatch 200B, USA;数模转换器,DigiData 1322A, USA;Olympus IX-70 倒置显微镜, Japan;三维液压推进仪, Narishige Co LTD, Japan;微电极拉制仪, Narishige Co LTD, Japan。

1.1.4 液体配制:(1)生理盐溶液(physiological salt solution, PSS):成分(mmol/L):NaCl 130、KCl 5、 $MgCl_2$ 1.2、 $CaCl_2$ 1.5、HEPES 10 和 glucose 10;分离细胞用无钙 PSS 液, $CaCl_2$ 由等摩尔的 $MgCl_2$ 取代,用 NaOH 调 pH7.4。(2)灌流液:同 PSS 液,记录 K_v 时含 1 mmol/L TEA 灌流液,灌流速度为 1 mL/min。(3)电极内液(Pipette solution, mmol/L):KCl 125, Na_2ATP 5, Na_2GTP 0.5, $MgCl_2$ 4, $CaCl_2$ 2, HEPES 10, BAPTA 10, 5 mol/L KOH 调至 pH 7.2, GTP 提供信号转导通路的底物, ATP 一方面提供能量代谢所需底物,一方面抑制 I_{KATP} 。

1.2 方法

1.2.1 动物模型的制作:参见文献[7],将 12 只健康雄性 SD 大鼠,随机分为两组($n=6$),一组置于正常的培养箱中,其吸入氧(FiO_2)浓度为 21%,作为正常组;一组置于缺氧的培养箱中,其吸入氧浓度为 10%,连续饲养 9 d,培养箱内大鼠呼出的 CO_2 、水蒸气分别用氧化钙和无水氯化钙吸收,排出的氨气由硼酸吸收,大鼠自由采食和饮水。

1.2.2 大鼠肺动脉压力和右心室肥厚的检测:饲养 9 d 后,大鼠经 1.5% 戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔注射麻醉后,固定于手术台上,分离出右外颈静脉并剪一小切口,插入聚乙烯导管经右心室至肺动脉,另一端接压力感受器,以 RM-6000 型多导生理仪测定肺动脉平均压(mPAP)。然后剖胸取出大鼠心脏,剪去心房组织,沿室间隔边缘分离右心室(RV)和左心室+室间隔(LV+S),将残血冲净后,

用滤纸将水吸干,自然干燥片刻后,称量 RV 和 LV + S,以 $RV/(LV + S)$ 比值反映右心室肥厚程度。

1.2.3 大鼠单个肺动脉平滑肌细胞的急性分离^[1]:SD 大鼠经 1.5% 戊巴比妥钠 (40 mg/kg) 麻醉后,迅速开胸取出心和肺,放入盛有 4℃ 的生理盐溶液的烧杯中洗去血液,剪下肺叶移入冰浴盛有生理盐溶液硅胶板的培养皿中,用大头钉把肺叶固定在硅胶板上,体视显微镜下分离肺内小动脉 (内径 300 ~ 700 μm),放入含 1.5 mg/mL 胶原酶的生理盐溶液中孵育 20 min,用显微外科剪刀细心的剥离掉肺动脉外的一薄层结蒂组织及外膜,沿长轴剪开,用湿棉球轻擦去除内皮,以上过程均通以 95% O_2 和 5% CO_2 ,剩下的平滑肌剪成 1 mm $\times$ 1 mm 的组织块,然后用含 2.0 mg/mL 胶原酶和 0.5 mg/mL 弹性酶的生理盐溶液 37℃ 消化 45 min,用吸管轻轻吹打,使之分散成单个细胞。分离好的细胞悬液置于 4℃ 冰箱保存,6 h 内可用于膜片钳实验。

1.2.4 全细胞膜片钳实验^[1]:取几滴细胞悬液于细胞池,静置 20 ~ 30 min,使细胞充分贴壁,然后平放在倒置显微镜上,选取胞膜光滑,胞核清晰,胞浆均匀的细胞进行膜片钳实验。记录电极用玻璃毛细管,经电极拉制仪两步法拉制成微电极,阻抗为 3 ~ 5 M Ω 。采用全细胞膜片钳记录方法,在电流钳下记录细胞膜电位 (E_m),在电压钳下记录 K_v 电流。记录电流时,钳制电压为 -60 mV,给予从 -60 mV 至 +50 mV,阶跃电压为 10 mV,脉冲时间为 400 ms 的去极化刺激 12 次,频率为 0.2 Hz;信号采集频率:10 kHz,滤波频率:2 kHz。采样后数据由 pClamp7.0 软件自动记录,存储于计算机硬盘内供测量分析。细胞外给药采用排管给药法,即通过三维操纵器移动快速换药装置的排管进行,排管每管直径为 0.2 mm,管口距所记录的细胞约 100 μm 。所有的实验均在室温 (22℃ ~ 24℃) 进行。

1.2.5 数据处理:抑制率的计算:抑制率 = (用药前的峰电流值 - 用药后的峰电流值) / 用药前的峰电流值 $\times 100\%$ 。所有结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SAS 软件进行统计学分析,自身对照用配对 t 检验,组间资料的比较用非配对 t 检验,用 Origin7.5 软件包作图。

2 结果

2.1 慢性缺氧大鼠模型的建立

检测结果表明,经过 9 d 饲养后,缺氧组大鼠

mPAP、RV、 $RV/(LV + S)$ 均显著高于对照组,显示慢性缺氧大鼠模型复制成功 (表 1)。

表 1 慢性缺氧大鼠的肺动脉平均压和右心室 / (左心室 + 室间隔) 的变化 ($n = 6$)

Tab. 1 The change of mPAP and $RV/(LV + S)$ of rats exposed to chronic hypoxia ($n = 6$)

组别 Group	肺动脉 平均压 mPAP/mmHg	右心室/ 体重 RV/g	右心室/(左心室 + 室间隔) $RV/(LV + S)$
正常对照组 Control group	16.5 $\pm$ 0.9	0.14 $\pm$ 0.01	0.23 $\pm$ 0.01
慢性缺氧组 Chronic hypoxia group	27.8 $\pm$ 4.6 **	0.28 $\pm$ 0.02 **	0.34 $\pm$ 0.01 **

注:与正常对照组相比: ** $P < 0.01$

Note: ** $P < 0.01$ compared with control group

2.2 慢性缺氧对大鼠 PSMCs 影响

2.2.1 慢性缺氧对大鼠 PSMCs E_m 、 C_m 影响:分别在电流钳制模式、斜坡刺激模式记录正常组和缺氧组大鼠 PSMCs 静息膜电位 (E_m)、膜电容 (C_m) 的变化,结果发现慢性低氧可明显引起 PSMCs 去极化,但对 PSMCs 的 C_m 并没有显著的影响 (表 2)。

表 2 慢性缺氧对大鼠 PSMCs E_m 、 C_m 的影响 ($n = 6$)

Tab. 2 Effect of chronic hypoxia on E_m , C_m in rat PSMCs ($n = 6$)

组别 (Group)	膜电位/毫伏 (E_m/mV)	膜电容/皮法 (C_m/pF)
正常对照组 (Control group)	-41.28 $\pm$ 2.8	18.6 $\pm$ 1.5
缺氧组 (Hypoxia group)	-32.6 $\pm$ 1.3 *	20.4 $\pm$ 2.4

注:与正常组相比 * $P < 0.05$

Note: * $P < 0.05$ compared with control

2.2.2 慢性缺氧对 PSMCs IK_v 的影响:在电压钳模式下记录正常组和缺氧组大鼠 PSMCs 全细胞电压门控钾电流 (IK_v) 的变化,结果发现低氧明显抑制 IK_v , -20 mV 时电流从 (26 $\pm$ 6) pA/pF 降至 (21 $\pm$ 3) pA /pF, +50 mV 时从 (136 $\pm$ 24) pA/pF 降至 (98 $\pm$ 12) pA/pF, ($P < 0.01$, $n = 6$),抑制率分别为 (20.1 $\pm$ 1.2) % 和 (28.4 $\pm$ 2.4) % (图 1)。从全细胞电流图及 I-V 曲线可以看出,低氧并没有改变 IK_v 的活化阈值及基本电流特征。

2.3 15-KETE、4-AP、TEA 对慢性低氧大鼠 PSMCs 的影响

2.3.1 15-KETE、4-AP、TEA 对慢性低氧大鼠 PSMCs E_m 和 C_m 的影响:分别在电流钳制模式和斜坡刺激模式下记录大鼠 PSMCs 静息膜电位 (E_m) 和膜电容 (C_m)。分别在用药前 1 min,用药时 2 min 和用药后 3 min 记录 15-KETE (1×10^{-8}

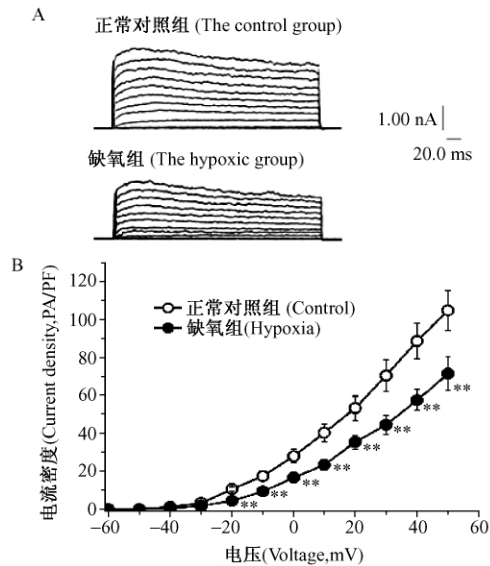


图 1 慢性缺氧对 PSMCs K_V 的影响

Fig. 1 Effect of chronic hypoxia on K_V current in PSMCs
注:A:正常和慢性缺氧大鼠的 PSMCs 的全细胞外向 K_V 电流的记录;B:正常和慢性缺氧大鼠的 PSMCs 的 I-V 曲线 ($n=8$ 个细胞,来自 6 只 SD 大鼠)。与正常组相比* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。所有的测量是在加入 TEA 的情况下进行的。

Note: A: Whole cell outward K_V current recorded in PSMCs from normoxic and chronic hypoxic rats; B: Mean current-voltage (I-V) relationship s for peak K_V -current densities were compared in cells from normoxic and chronic hypoxic animals ($n=8$ cells cells from 6 SD rats). ** $P < 0.01$ vs control. All measurements were done in the presence of TEA.

表 3 15-KETE、4-AP、TEA 对慢性低氧大鼠 PSMCs E_m 和 C_m 的影响 ($n=6$)

Tab.3 Effect of 15-KETE、4-AP、TEA on E_m , C_m in chronic hypoxic rat PSMCs ($n=6$)

组别 (Group)	膜电位/毫伏 (E_m /mV)	膜电容/皮法 (C_m /pF)
缺氧对照组 (Chronic control group)	-32.6 ± 1.3	18.9 ± 2.7
15-KETE 组 (15-KETE group)		
1×10^{-8} mol/L	-30.9 ± 1.1	19.3 ± 1.4
1×10^{-7} mol/L	$-23.5 \pm 1.2^*$	20.5 ± 1.2
1×10^{-6} mol/L	$-17.9 \pm 0.7^{**}$	20.3 ± 2.1
4-AP (1×10^{-5} mol/L) 组 (4-AP group)	$-18.6 \pm 0.8^{**}$	19.5 ± 1.2
TEA (1×10^{-3} mol/L) 组 (TEA group)	-33.7 ± 1.2	18.7 ± 1.6

注:与缺氧对照组相比:* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

Note: $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ compared with the chronic control group

mol/L、 1×10^{-7} mol/L、 1×10^{-6} mol/L)、TEA (1×10^{-3} mol/L) 对慢性低氧大鼠 PSMCs E_m 和 C_m 的

影响。结果发现 15-KETE、4-AP、TEA 对慢性低氧大鼠 PSMCs C_m 无影响(表 3);15-KETE、4-AP 均可引慢性低氧大鼠 PSMCs 起 PSMCs 去极化, TEA 对慢性低氧大鼠 PSMCs E_m 无影响(表 2)。
2.3.2 15-KETE 对慢性缺氧 PSMCs IK_V 的影响: 采用排管给药法观察各浓度 ($1 \times 10^{-8} \sim 1 \times 10^{-6}$ mol/L) 15-KETE 对 IK_V 的影响。结果表明,15-KETE 于 3 min 内作用稳定,每间隔 3 min 给一个药物浓度,结果发现 15-KETE 对 IK_V 的影响呈浓度依赖性抑制,随着浓度的增加,15-KETE 使其 I-V 曲线明显下移(图 2)。

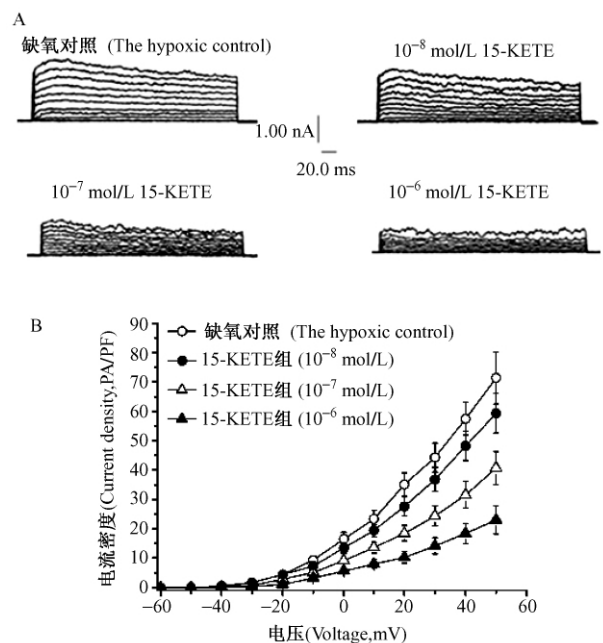


图 2 不同浓度的 15-KETE 对慢性缺氧大鼠 SMCs 的 IK_V 影响

Fig. 2 Effect of varying concentration of 15-KETE on IK_V of PSMCs

注:A:15-KETE 对空白组和 15-KETE ($1 \times 10^{-8} \sim 1 \times 10^{-6}$ mol/L) 组慢性缺氧大鼠的 PSMCs K_V 全细胞电流的影响(所有的结果均为加入 1 mmol/L TEA 后测定);B: 不同浓度 15-KETE ($1 \times 10^{-8} \sim 1 \times 10^{-6}$ mol/L) 的 I-V 曲线 ($n=12$ 个细胞,来自 6 只 SD 大鼠)。 1×10^{-7} mol/L、 1×10^{-6} mol/L 15-KETE 组与对照组相比有显著性差异 ($P < 0.01$)。

Note: A: Effect of 15-KETE on whole cell K_V current, representative traces from PSMCs depolarized from -60 mV to $+50$ mV under control and 15-KETE ($1 \times 10^{-8} \sim 1 \times 10^{-6}$ mol/L). Measurements were made in presence of 1 mmol/L TEA. B: Mean current-voltage relationship at varying concentration of 15-KETE ($1 \times 10^{-8} \sim 1 \times 10^{-6}$ mol/L) ($n=12$ cells from 6 SD rats). The values from 15-KETE groups (1×10^{-7} mol/L, 1×10^{-6} mol/L) are significantly different from that of control group ($P < 0.01$).

2.3.3 15-KETE 对正常和慢性缺氧大鼠 PSMCs 的 IK_v 抑制率的比较:在急性分离的正常和缺氧的大鼠肺动脉平滑肌上,封接破膜形成全细胞记录方式,将膜电位钳制在 -60 mV,给予 -60 mV 至 $+50$ mV (步幅为 10 mV) 去极化方波刺激,于封接破膜形成全细胞记录后第 1 min 在浴槽内采用排管给药法观察各浓度下 ($1 \times 10^{-8} \sim 1 \times 10^{-6}$ mol/L) 15-KETE 对常氧、慢性缺氧 PSMCs IK_v 的影响。15-KETE 约于 3 min 内作用稳定,每间隔 3 min 给一个药物浓度,结果发现在两种情况下 15-KETE 对 IK_v 的影响呈浓度依赖性抑制。低浓度 15-KETE (1×10^{-8} mol/L) 对常氧、慢性缺氧 PSMCs IK_v 的平均阻抑率无显著差异。较高浓度 15-KETE (1×10^{-7} 、 1×10^{-6} mol/L) 对缺氧 PSMCs IK_v 的平均阻抑率显著高于常氧 PSMCs (图 3)。

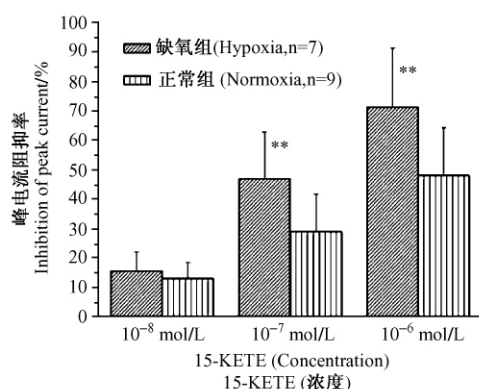


图 3 15-KETE 对正常和慢性缺氧大鼠 PSMCs 的 IK_v 抑制率的比较

Fig. 3 Comparison of IK_v inhibition induced by 15-KETE on rat PSMCs from normoxia and chronic hypoxia

注:与常氧组相比, ** $P < 0.01$

Note: ** $P < 0.01$ compared with the normoxic group

3 讨论

已知大鼠 PSMCs 至少上存在 3 种钾通道,分别是延迟整流钾通道 (K_v)、钙激活的钾通道 (K_{Ca}) 和 ATP 敏感的钾通道 (K_{ATP}),目前的研究表明, K_v 在控制静息膜电位及氧感受方面起着重要的作用 [10]。

本研究表明,在常氧和低氧两种情况下, K_v 阻断剂 4-AP 均可引起 PSMCs 去极化,即 E_m 负值升高,且这种变化在常氧和低氧时无差异,这说明低氧并没有改变 K_v 在控制 E_m 方面的基础作用。而特异性的 K_{Ca} 阻断剂 TEA 无论在常氧还是低氧情况

下对 E_m 均无影响,说明 K_{Ca} 对调节 E_m 不起作用,这可能是因为 K_{Ca} 的激活电位高于 E_m 所致 [11]。

本研究结果表明,慢性低氧大鼠 PSMCs K_v 通道电流密度明显减少,但单位细胞的电容即表面积无明显变化,提示单位细胞的 K_v 通道电流幅度降低是电流密度变化的主要原因。但也有报道低氧对 IK_v 无影响 [12],这可能是因为培养的细胞与新鲜急性酶分离的细胞离子通道的特性发生了变化,抑或是因为动物的种属、体内或体外缺氧的不同,以及后者的 PSMCs 来源于主肺动脉所致。本研究中 PSMCs 来源于肺内动脉 4~6 级分支,而这些动脉中 K_v 细胞占优势 [11]。低氧抑制 PSMCs IK_v 的机制目前尚未阐明,这可能是因为低氧引起 PSMCs 表型转化、PKC 上调、抑制了低氧敏感性钾通道的表达 [13],或是通过其他影响 PSMCs 增殖的转录因子,间接抑制 IK_v ,如 c-jun 的过度表达不仅可以抑制 PSMCs K_v 活性,并可抑制 K_v 基因的表达 [14]。

15-KETE 是 AA 的 15-脂质氧化酶 (15-LO) 一种代谢终产物。由于缺氧可上调肺动脉平滑肌细胞 15-LO 的表达 [1],因此 15-KETE 在 PSMCs 有其相应的细胞分布及相应的作用位点。我们先前研究表明,15-KETE 以浓度依赖性方式强烈收缩离体肺动脉环 [1],并且收缩作用依赖于 K_v 通道、细胞外液钙离子和 L-型钙离子通道 [1]。另有研究表明,缺氧抑制 PSMCs 上的 K^+ 通道,主要是 K_v 通道 [15]。因此,15-KETE 可能是联系缺氧与 K_v 通道之间的重要介质。

本研究发现,15-KETE 在常氧和慢性低氧时均可引起 E_m 的升高,但升高的程度并无差异,不同的是慢性低氧时,较高浓度 15-KETE 对 IK_v 的抑制作用明显强于常氧时,这说明低氧可能改变了 PSMCs 对一些内源性因子的敏感性。

先前的研究已经证明,在有钙的环境中,15-KETE 对常氧 PSMCs IK_v 的抑制作用明显增强 [1]。因此,本研究中慢性低氧时 15-KETE 对 IK_v 的抑制作用加强,可能与慢性低氧时 PSMCs 细胞内钙水平增高有关 [16]。

另外,本实验发现慢性低氧及 15-KETE 对肺动脉平滑肌细胞的 C_m 没有影响,说明两者均不能改变肺动脉平滑肌细胞的大小。

参考文献:

- [1] Bergholte JM, Soberman RJ, Hayes R, et al. Oxidation of 15-

- hydroxyeicosatetraenoic acid and other hydroxy fatty acids by lung prostaglandin dehydrogenase [J]. Arch Biochem Biophys, 1987, 257:444 - 450.
- [2] Landino LM, Marnett LJ. Mechanism of hydroperoxide reduction by mangano-prostaglandin endoperoxide synthase [J]. J Biol Chem, 1996, 35:2637 - 2743.
- [3] Daling Z, Medhora M, Campbell WB, et al. Chronic hypoxia activates lung 15-lipoxygenase, which catalyzes production of 15-HETE and enhances constriction in neonatal rabbit pulmonary arteries [J]. Circ Res, 2003, 92: 992 - 1000.
- [4] 郭守利, 张嘉保, 刘晔, 等. 15-HETE 及其代谢产物对大鼠离体肺动脉环作用的比较 [J]. 中国比较医学杂志, 2006, 16 (12): 716 - 719.
- [5] 郭守利, 张一飞, 刘晔, 等. 15-酮基二十碳四烯酸对大鼠离体肺动脉环的作用 [J]. 中国药理学通报, 2006, 22 (11): 1339 - 1343.
- [6] 郭守利, 张一飞, 刘晔, 等. 15-KETE 对大鼠肺动脉平滑肌细胞钾离子通道的作用 [J]. 中国实验动物学报, 2007, 15 (4): 275 - 279.
- [7] Baker EJ, Boerboom LE, Olinger GN, et al. Tolerance of the developing heart to ischemia: impact of hypoxemia from birth [J]. Am J Physiol, 1995, 268:H1165 - 1173.
- [8] Platoshyn O, Yu Y, Golovina VA, et al. Chronic hypoxia decreases KV channel expression and function in pulmonary artery myocytes [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2001, 280:L801 - L812.
- [9] 骆红艳, 唐明, 杜以梅, 等. 大鼠肺动脉平滑肌细胞的分离及电压门控性钾电流的记录方法 [J]. 微循环学杂志, 2005, 15:9 - 11.
- [10] Gurney AM, Osipenko ON, MacMillan D, et al. Potassium channels underlying the resting potential of pulmonary artery smooth muscle cells [J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2002, 29:330 - 333.
- [11] Archer SL, Huang JM, Reeve HL, et al. Differential distribution of electrophysiologically distinct myocytes in conduit and resistance arteries determines their response to nitric oxide and hypoxia [J]. Circ Res, 1996, 78:431 - 442.
- [12] Peng W, Hoidal JR, Karwande SV, et al. Effect of chronic hypoxia on K^+ channels: regulation in human pulmonary vascular smooth muscle cells [J]. Am J Physiol, 1997, 272: C1271 - 1278.
- [13] Platoshyn O, Yu Y, Golovina VA, et al. Chronic hypoxia decreases KV channel expression and function in pulmonary artery myocytes [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2001, 280:L801 - L812.
- [14] Yu Y, Platoshyn O, Zhang J, et al. c-Jun decreases voltage-gated K^+ channel activity in pulmonary artery smooth muscle cells [J]. Circulation, 2001, 104:1557 - 1563.
- [15] Takahashi T, Soma S, Muramatsu M, et al. Discrepant distribution of big endothelin (ET)-A and ET receptors in the pulmonary artery [J]. Eur Respir J, 2001, 18:5 - 14.
- [16] 樊再雯, 张珍祥, 徐永健. 钾通道对大鼠肺动脉平滑肌细胞 $[Ca^{2+}]_i$ 的调节 [J]. 中国病理生理杂志, 2004, 20: 150 - 153.

修回日期) 2010-05-31