

- preferentially inhibits COX-2, and has various unique pharmacological activities [J]. Expert Opin Pharmacother, 2000, 1(2): 277-286.
- [2] ELKADY M, NIESS R, SCHAIBLE A M, et al. Modified acidic nonsteroidal anti-inflammatory drugs as dual inhibitors of mPGES-1 and 5-LOX [J]. J Med Chem 2012, 55(20): 8958-8962.
- [3] WONG E, DELUCA C, BOILY C, et al. Characterization of autocrine inducible prostaglandin H synthase-2 (PGHS-2) in human osteosarcoma cells [J]. Inflamm Res, 1997, 46(2): 51-59.
- [4] HAMER R R, TEGELER J J, KURTZ E S, et al. Dibenzoepinone hydroxylamines and hydroxamic acids: Dual inhibitors of cyclooxygenase and 5-lipoxygenase with potent topical antiinflammatory activity [J]. J Med Chem, 1996, 39(1): 246-252.
- [5] CRYER B, FELDMAN M. Cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 selectivity of widely used nonsteroidal anti-inflammatory drugs [J]. Am J Med, 1998, 104(5): 413-421.
- [6] SBEIT W, KRIVOY N, SHILLER M, et al., Nimesulide-induced acute hepatitis [J]. Ann Pharmacother, 2001, 35(9): 1049-1052.
- [7] RAINSFORD K D. Current status of the therapeutic uses and actions of the preferential cyclo-oxygenase-2 NSAID, nimesulide [J]. Inflammopharmacology, 2006, 14(3/4): 120-137.
- [8] PULKKINEN M. Nimesulide in dysmenorrhoea [J]. Drugs, 1993, 46 (1): 129-133.
- [9] OTTAVIANI A, MANTOVANI M, SCARICABAROZZI I. A multicentre clinical study of nimesulide in inflammatory diseases of the ear, nose and throat [J]. Drugs, 1993, 46(1): 96-99.
- [10] ZHANG Y E, PENG L E, PENG W. Drug prescription of nimesulide in clinic [J]. Her Med(医药导报), 2011, 30(12): 1654-1656.
- [11] WU Y H, LI W J, SHAO G Z. Nimesulide: a new non-steroidal anti-inflammatory drug [J]. Chin J Hosp Pharm(中国医药学杂志), 1999, 19(5): 300-302.
- [12] CESERANI R, CARBONI L, GERMINI M, et al. Antipyretic and platelet antiaggregating effects of nimesulide [J]. Drugs, 1993, 46(1): 48-51.
- [13] MAGNI E. The effect of nimesulide on prostanoid formation [J]. Drugs, 1993, 46(1): 10-14.
- [14] GUPTA S K, BANSAL P, BHARDWAJ R K, et al. Comparative anti-nociceptive, anti-inflammatory and toxicity profile of nimesulide vs nimesulide and piperine combination [J]. Pharmacol Res, 2000, 41(6): 657-662.
- [15] TANAKA K, SHIMOTORI T, MAKINO S, et al. Pharmacological studies of the new antiinflammatory agent 3-formylamino-7-methylsulfonylamino-6-phenoxy-4H-1-benzopyran-4-one. 1st Communication: Antiinflammatory, analgesic and other related properties [J]. Arzneimittel-Forsch, 1992, 47(2): 935-944.
- [16] MIRANDA H F, PUIG M M, PRIETO J C, et al. Synergism between paracetamol and nonsteroidal anti-inflammatory drugs in experimental acute pain [J]. Pain, 2006, 121(1/2): 22-28.
- [17] TOUTAIN P L, CESTER C C, HAAK T, et al.. A pharmacokinetic/pharmacodynamic approach vs. a dose titration for the determination of a dosage regimen: the case of nimesulide, a Cox-2 selective nonsteroidal anti-inflammatory drug in the dog [J]. J Vet Pharmacol Ther, 2001, 24(1): 43-55.

收稿日期: 2013-11-14

异硫氰酸苄酯对脑胶质瘤 U-87 MG 细胞活性氧的诱导作用及其机制研究

李文明¹, 吴琦¹, 朱戣^{2*} (1.北京红惠新医药科技有限公司, 北京 102600; 2.天津市环湖医院检验科, 天津市脑血管与神经变性重点实验室, 天津 300060)

摘要: 目的 探讨异硫氰酸苄酯(benzyl isothiocyanate, BITC)对人脑胶质瘤细胞系 U-87 MG 的活性氧(ROS)的诱导作用及其机制。方法 应用 MTS 法检测 BITC 对肿瘤细胞生长的影响, 2 和 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ BITC 作用 U-87 MG 细胞后, 应用流式细胞术检测肿瘤细胞内活性氧(ROS)含量的变化, 生化法检测 GSH 以及氧化应激相关的线粒体呼吸链复合体Ⅲ、过氧化物歧化酶(SOD)和醌还原酶(quinone reductase, QR)的活性变化, Western blotting 法和报告基因技术检测 p38-MAPK 和相关转录因子 ARE 的转录活性变化。结果 BITC 对脑胶质瘤细胞 U-87 MG 具有明显的抑制作用, 其 IC_{50} 值为 15.2 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 2 和 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ BITC 作用肿瘤细胞 24 h 后, ROS 产生分别为对照组的 376.3%和 607.5%($P<0.05$), GSH 水平分别为对照组的 71.3%和 44.9%($P<0.05$), SOD 活性分别为对照组的 63.5%和 21.8%($P<0.05$), QR 活性分别为对照组的 55.2%和 26.7%($P<0.05$), 呼吸链复合体 III 活性分别为对照组的 48.5%和 37.6%($P<0.05$), p38-MAPK 的磷酸化水平显著上升, ARE 的转录活性分别为对照组的 141.1%和 215.2%($P<0.05$)。结论 BITC 可诱导脑肿瘤细胞 U-87 MG 中 ROS 产生, 可能与调节胞内的氧化应激相关基因表达有关。

基金项目: 天津市卫生局科技基金(2013KY17)

作者简介: 李文明, 男, 博士, 主管药师 Tel: (010)61253022-866
理研究员 Tel: (0226)0367853 E-mail: zhuyutj@126.com

E-mail: hbwenming@163.com

*通信作者: 朱戣, 男, 博士, 助

关键词: 异硫氰酸苄酯; 脑胶质瘤; 氧化损伤

中图分类号: R965.2

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2014)08-0938-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.08.008

Effect and Mechanism of Benzyl Isothiocyanate on Active Oxygen Induced in Human Malignant Glioma U-87 MG Cell Line

LI Wenming¹, WU Qi¹, ZHU Yu^{2*} (1.Beijing Honghui Meditech Co., Ltd., Beijing 102600, China; 2.Department of Clinical Laboratory, Tianjin Huanhu Hospital, Tianjin Key Laboratory of Cerebral Vessels and Neural Degeneration, Tianjin 300060, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the effect and mechanism of benzyl isothiocyanate(BITC) on active oxygen induced in human malignant glioma cell line U-87 MG. **METHODS** U-87 MG was dealt with BITC, MTS assay was employed to determine the effect of BITC on the proliferation of cancer cells. After 2 and 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ U-87 MG cells was treatment with BITC, the alteration of intracellular ROS was measured by flow cytometry, the level of GSH, the activities change of complex III of the mitochondrial respiratory chain, the superoxide dismutase(SOD) and the quinone reductase(QR) was measured by biochemistry assay, the phosphorylation of p38-MAPK was measured by Western blotting assay and the transcriptional activities ARE was determined by reporter gene system. **RESULTS** BITC significantly inhibited the proliferation of U-87 MG with an IC_{50} of 15.2 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. After 2 and 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ BITC treatment for 24 h, intracellular ROS was 376.3% and 607.5% ($P<0.05$), while the level of GSH was 71.3% and 44.9% ($P<0.05$), the level of SOD was 63.5% and 21.8% ($P<0.05$), the level of QR was 55.2% and 26.7% ($P<0.05$) and level of complex III was 48.5% and 37.6% ($P<0.05$). Western blotting showed that the phosphorylation of p38-MAPK was upregulated and the transcriptional activities of ARE were 141.1% and 215.2%. **CONCLUSION** BITC can induce ROS elevation in the tumor cells and the mechanism may be the regulation of oxidative stress related gene expression.

KEY WORDS: benzyl isothiocyanate; gliomas; oxidative damage

脑肿瘤可对中枢神经系统造成严重伤害并危及生命。目前, 脑胶质瘤的主要治疗手段是以手术、放疗和化疗为主的综合治疗^[1-2]。手术具有直接、彻底的优点, 是脑肿瘤治疗的首要选择。但很多患者在发现肿瘤时已经无法进行手术, 因此, 寻找新的有效的治疗方法十分必要。

异硫氰酸酯是普遍存在于十字花科植物中的一类天然的小分子化合物^[3]。异硫氰酸苄酯(benzyl isothiocyanate, BITC)已经被证实可有效抑制脑胶质瘤, 并诱导细胞产生活性氧(ROS), 但是对其机制的研究仍然较少^[3]。因此本研究探讨 BITC 对 U-87 MG 细胞中 ROS 的诱导作用及其机制。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

人脑胶质瘤细胞系 U-87 MG(中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所); 细胞培养基(Gibco 公司); BITC(美国 Sigma 公司, 批号: 622-78-6); ROS(批号: S0033)、谷胱甘肽(GSH, 批号: S0053), 过氧化物歧化酶(SOD, 批号: S0088)和醌还原酶(quinone reductase, QR)活性检测试剂盒(批号: S0060)均购自碧云天生物技术有限公司; p38-MAPK 抗体(批号: sc7973)、

Total-p38 抗体(批号: sc81621)和 p38 抑制剂 SB203580(批号: S1863)均购自美国 SantaCruz 公司; MTS 试剂(批号: G3582)、转录因子转录活性报告基因检测试剂盒(批号: E1910)均购自美国 Promega; ECL 免疫印迹底物试剂盒(美国 Millipore 公司, 批号: AB1768); CaliburTM 流式细胞仪(美国 BD 公司); 酶标仪和 PCR 仪(美国 Thermo 公司)。

1.2 细胞培养

U-87 MG 细胞培养于 10 cm 培养皿, 37 °C、5%CO₂ 和饱和湿度的培养箱中, 培养基为 90% EMEM, 10%胎牛血清(FBS)。0.25%胰酶-EDTA 消化传代, 所有试验均采用对数生长期细胞。

1.3 MTS 法检测 BITC 对肿瘤细胞的抑制作用

取 3×10^4 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ 肿瘤细胞接种到 96 孔微孔板中, 100 $\mu\text{L}\cdot\text{孔}^{-1}$, 培养过夜使细胞贴壁。向对应试验孔加入 0, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10, 20, 50 和 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 BITC, 继续培养 72 h, 吸去培养基, 按照试剂盒说明书加入 MTS 试剂, 最后用酶标仪测定 490 nm 波长下的 OD 值, 并计算药物对细胞的抑制率。抑制率=(1-实验组 OD 值/对照组 OD 值) $\times 100\%$ 。以 BITC 浓度的对数为横坐标, 抑制率为纵坐标作图并拟合抑制曲线, 50%

抑制率所对应的化合物浓度即为 IC_{50} 值。

1.4 流式细胞术检测细胞内 ROS 产生

取对数生长期的肿瘤细胞接种于 6 孔板中, 继续培养 24 h, 为检测 BITC 对肿瘤细 ROS 的诱导作用, 分别加入 PBS 或 2 和 $5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 BITC 到试验孔中, 继续培养 24 h, 胰酶消化收集细胞, DCFH-DA 室温避光染色 30 min, 用流式细胞仪检测细胞活性氧(ROS)产生。

1.5 生化法检测细胞内 GSH 含量, 以及 SOD、QR 和线粒体呼吸链复合物 III 的活性

取对数生长期的肿瘤细胞接种于 6 孔板中, 过夜培养 24 h 后加入 2 或 $5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 BITC, 以 PBS 作为对照, 继续培养 24 h。用 Western 及 IP 细胞裂解液裂解细胞用于检测。SOD 检测采用经典的氮蓝四唑(NBT)显色法, GSH 的检测则通过与生色底物 DTNB 反应产生黄色的 TNB 和 GSSG 来实现, QR 的活性则通过 QR 反应液进行检测, 线粒体呼吸链复合物 III 通过辅酶 Q-细胞色素 C 还原酶活性定量检测试剂盒进行检测, 具体操作步骤均根据试剂盒说明书进行。

1.6 Western blotting 法检测细胞 p38-MAPK 的磷酸化表达变化

取对数生长期的肿瘤细胞接种于 6 孔板中, 过夜培养 24 h 后加入含有或不含有 $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ p38 抑制剂 SB203580 的 2 或 $5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 BITC, 以 PBS 作为对照, 继续培养 24 h, 收集细胞并裂解提取蛋白。BCA 法测定细胞裂解物的蛋白含量, 取等量蛋白质以 12% SDS-PAGE 法分离并转移至 PVDF 膜上, 以相应的单克隆抗体(p38-MAPK, 1:400, Total-p38, 1:400)室温孵育 4 h 以检测目标蛋白。洗去一抗, 以 HRP 连接的二抗室温孵育 2 h, 洗涤后以 ECL 试剂盒显示免疫反应条带。 β -actin (1:5 000)作为内参。

1.7 转录因子核转录活性检测

取对数生长期的肿瘤细胞接种于 6 孔板中, 继续培养 24 h。转染 ARE 荧光报告质粒, 继续培养 6 h, 更换新鲜培养基, 分别加入 PBS 或 2 和 $5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 BITC 到试验孔中, 继续培养 24 h, 然后根据试剂说明书的方法, 检测 ARE 的转录活性。

1.8 数据统计

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 使用 SPSS 13.0 软件进行分析。采用单因素方差分析(One-way ANOVA)进行比较, 以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 BITC 可显著抑制 U-87 MG 的体外生长

应用 MTS 法评价 BITC 作用 72 h 对 U-87MG 体外生长的抑制作用, 结果表明 BITC 对 U-87MG 体外生长具有显著的抑制作用, IC_{50} 为 $15.2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 结果见图 1。

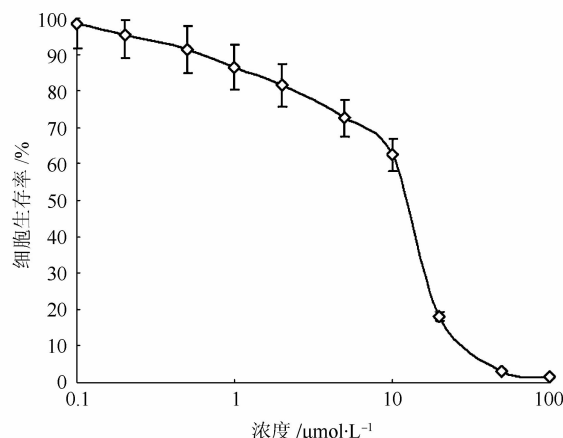


图 1 BITC 对 U87MG 细胞系增殖的抑制作用

Fig. 1 The inhibitory effect of BITC on the U87MG cell line proliferation

2.2 BITC 诱导细胞 ROS 产生

2 和 $5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ BITC 作用肿瘤细胞 24 h 后, 抑制率为 3.8%和 11.6%, 分别为无毒(抑制率 $<5\%$)和低毒(抑制率 $<15\%$)浓度, 采用上述 2 种浓度进行 BITC 对肿瘤细胞氧化损伤的研究, 以避免细胞增殖抑制对结果的影响。

笔者前期研究认为, 诱导细胞产生 ROS 是 BITC 抗肿瘤的主要机制之一, BITC 可显著地升高 U-87 MG 细胞中 ROS 的水平。2 和 $5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ BITC 作用肿瘤细胞 24 h 后, ROS 产生分别为对照组的 376.3%和 607.5%, 加入 p38 抑制剂 SB203580 后, ROS 产生分别为对照组的 359.2%和 612.5%, 与未加入 SB203580 相比无显著性差异, 结果见图 2。

2.3 BITC 下调细胞 GSH、SOD、QR 以及线粒体呼吸链复合体 III 的活性

进一步的研究显示, 细胞内用于解毒 ROS 毒性的 GSH、SOD 和 QR 均不同程度的受到抑制。2 和 $5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ BITC 作用肿瘤细胞 24 h 后, GSH 水平分别为对照组的 71.3%和 44.9%($P < 0.05$), SOD 活性分别为对照组的 63.5%和 21.8%($P < 0.05$), QR 活性分别为对照组的 55.2%和 26.7%($P < 0.05$)。氧化呼吸链复合体 III 的活性下降,

2 和 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ BITC 作用肿瘤细胞 24 h 后,呼吸链复合体 III 活性分别为对照组的 48.5% 和 37.6%($P<0.05$), 以上抑制作用可升高细胞内的 ROS 水平, 促进细胞氧化损伤。结果见表 1。

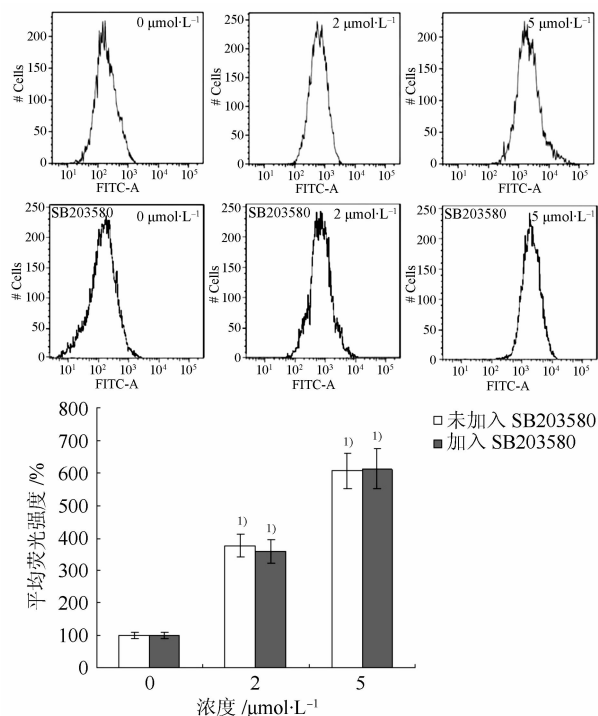


图 2 BITC 对 U87MG 细胞系 ROS 产生的作用
与 0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组比较, $^{1)}P<0.05$ 。
Fig. 2 The effect of BITC on the ROS production of U87MG cell line
Compared with 0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ group, $^{1)}P<0.05$.

表 1 BITC 对细胞 GSH、SOD、QR 以及线粒体呼吸链复合体 III 的活性的影响(%)
Tab.1 The effect of BITC on activity of GSH, SOD, QR and complex III(%)

基因	BITC 浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$		
	0	2	5
GSH	100	71.3	44.9
SOD	100	63.5	21.8
QR	100	55.2	26.7
complex III	100	48.5	37.6

2.4 BITC 可激活 p38-MAPK 的活性, 提高 ARE 的转录活性

为了进一步考察 BITC 诱导肿瘤细胞 ROS 产生的信号通路, 研究了 BITC 对其信号通路上的关键蛋白的作用。研究发现, 2 和 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ BITC 作用肿瘤细胞 24 h 后, BITC 可提高 p38-MAPK 的磷酸化水平, 而对总 p38 表达无影响, 结果见图 3。ARE 因子与氧化应激密切相关, 2 和 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$

BITC 作用肿瘤细胞 24 h 后, ARE 的转录活性分别为对照组的 141.1% 和 215.2%($P<0.05$)。

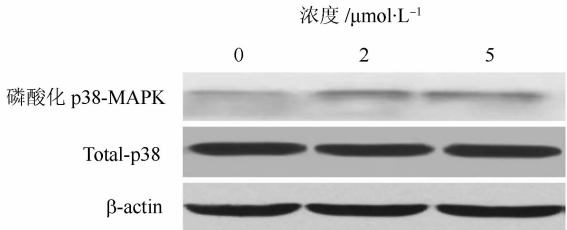


图 3 BITC 对 U87MG 细胞系 p38-MAPK 磷酸化的作用
Fig. 3 The effect of BITC on phosphorylation of p38-MAPK of U87MG cell line

3 讨论

GSH 是一种细胞中含量丰富的低分子多肽, 具有较强抗氧化活性, 在恶性肿瘤中高表达并在抗肿瘤药物代谢灭活中起重要作用, 被认为与肿瘤化疗耐药性有关; SOD 和 QR 也被认为具有类似的活性。线粒体呼吸链复合体 III 是线粒体呼吸链的组成部分, 在氧化应激防御机制中发挥重要作用^[4-6]。

本实验发现 BITC 可显著抑制 U-87 MG 细胞增殖, BITC 处理后 U-87 MG 细胞内的 ROS 水平显著上升, 而对应的可解毒 ROS 的 GSH、SOD 和 QR 的水平均下降, 这些因素均可推动 ROS 的进一步升高。因为 ROS 可能来自线粒体, 有研究显示通过抑制氧化呼吸链上的复合体 III, 引起线粒体损伤从而促发 ROS 产生和增殖抑制^[7]。本研究发现 BITC 也可在 U-87 MG 细胞中通过这一途径引发 ROS 生成。本实验加入 p38 抑制剂后, BITC 诱导 ROS 产生与未加入抑制剂没有显著性差异, 显示细胞中 ROS 主要由 BITC 诱导产生, 而不是来自于 p38 活化诱导。

最后, 对一些关键信号通路的关键蛋白以及重要转录因子的研究发现, BITC 可上调 p38-MAPK 和 ARE 的转录活性, 这二者活性的升高均可诱发细胞内的氧化应激^[8-9]。因此, BITC 诱导氧化应激和调节相关基因表达可能是 BITC 抗肿瘤活性的机制之一。

REFERENCES

- [1] Tumor Group, Neurosurgery Surgeon of Chinese Medical Association. Guide of diagnosis and treatment of China CNS glioma [J]. Nat Med J China(中华医学杂志), 2012, 92(33): 3028-3030.
- [2] TU Y, GAO X, LI G, et al. Micro RNA-218 inhibits glioma invasion, migration, proliferation, and cancer stem-like cell self-renewal by targeting the polycomb group gene Bmi1 [J].

Cancer Res, 2013, 73(19): 6046-6055.

- [3] ZHU Y, ZHUANG J X, WANG Q, et al. Inhibitory effect of benzyl isothiocyanate on proliferation *in vitro* of human glioma cells [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2013, 14(4): 2607-2610.
- [4] PANDYA N B, TIGARI P, DUPADAHALLI K, et al. Antitumor and antioxidant status of Terminalia catappa against Ehrlich ascites carcinoma in Swiss albino mice [J]. Indian J Pharmacol, 2013, 45(5): 464-469.
- [5] ZHU C L, HUANG Q, LIU C H, et al. NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1 (NQO1) C609T gene polymorphism association with digestive tract cancer: a meta-analysis [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2013, 14(4): 2349-2354.
- [6] SHAHAT A A, ALSAID M S, ALYAHYA M A, et al. NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1 inducer activity of some Saudi Arabian medicinal plants [J]. Planta Med, 2013, 79(6): 459-464.
- [7] SEIBOLD P, HALL P, SCHOOF N, et al. Polymorphisms in oxidative stress-related genes and mortality in breast cancer patients--potential differential effects by radiotherapy? [J]. Breast, 2013, 22(5): 817-823.
- [8] SATO A, OKADA M, SHIBUYA K, et al. Pivotal role for ROS activation of p38 MAPK in the control of differentiation and tumor-initiating capacity of glioma-initiating cells [J]. Stem Cell Res, 2013, 12(1): 119-131.
- [9] PRAWAN A, KEUM Y S, KHOR T O, et al. Structural influence of isothiocyanates on the antioxidant response element (ARE)-mediated heme oxygenase-1 (HO-1) expression [J]. Pharm Res, 2008, 25(4): 836-844.

收稿日期: 2013-11-08

前列腺素 E_1 预处理对缺血再灌注心肌细胞瞬时外向钾电流和内向整流钾电流的影响

角灿武¹, 韩圣娜², 付润芳², 张莉蓉² (1.濮阳市人民医院, 河南 濮阳 457000; 2.郑州大学基础医学院药理学教研室, 郑州 475001)

摘要: 目的 研究前列腺素 E_1 (PGE_1) 预处理对大鼠缺血再灌注心肌细胞瞬时外向钾电流 (I_{to}) 和内向整流钾电流 (I_{K1}) 的影响。方法 应用 Langendorff 法制备大鼠离体心肌缺血再灌注模型, 酶解法分离单个心室肌细胞, 全细胞膜片钳技术记录正常组、缺血再灌注组及不同浓度 PGE_1 预处理组心肌细胞 I_{to} 和 I_{K1} 的变化。结果 在 +60 mV 刺激电压时, 正常大鼠心室肌细胞 I_{to} 为 $(15.54 \pm 2.24) \text{ pA/pF}$ ($n=16$), 缺血再灌注时 I_{to} 减小到 $(9.99 \pm 2.03) \text{ pA/pF}$ ($n=16$), 与缺血再灌注组相比, PGE_1 (14, 42, 126 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 预处理使 I_{to} 分别增大到 $(14.24 \pm 1.97) \text{ pA/pF}$ ($n=17$, $P<0.05$)、 $(18.41 \pm 1.39) \text{ pA/pF}$ ($n=13$, $P<0.05$) 和 $(21.63 \pm 3.2) \text{ pA/pF}$ ($n=12$, $P<0.05$); I_{to} 半数失活电压 ($V_{1/2}$) 由缺血再灌注组的 $(-18.61 \pm 7.81) \text{ mV}$ ($n=10$) 分别降低到 $(-27.95 \pm 8.00) \text{ mV}$ ($n=11$, $P<0.05$)、 $(-31.34 \pm 7.59) \text{ mV}$ ($n=16$, $P<0.05$) 和 $(-39.50 \pm 7.38) \text{ mV}$ ($n=13$, $P<0.05$)。在 -120 mV 刺激电压时, PGE_1 (14, 42, 126 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 预处理使 I_{K1} 由缺血再灌注组 $(-11.68 \pm 3.82) \text{ pA/pF}$ ($n=6$, $P<0.05$) 分别增大到 $(-31.89 \pm 8.83) \text{ pA/pF}$ ($n=7$, $P<0.05$)、 $(-32.36 \pm 9.13) \text{ pA/pF}$ ($n=13$, $P<0.05$)、 $(-34.70 \pm 8.99) \text{ pA/pF}$ ($n=11$, $P<0.05$)。结论 PGE_1 预处理能增大大鼠缺血再灌注心室肌细胞 I_{to} 及 I_{K1} , 降低 I_{to} 的 $V_{1/2}$ 。

关键词: 前列腺素 E_1 ; 缺血再灌注; 心肌细胞; 全细胞膜片钳; 瞬时外向钾电流; 内向整流钾电流

中图分类号: R965.2

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2014)08-0942-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.08.009

Effects of Pretreatment with Prostaglandin E_1 on Transient Outward Potassium Current and Inward Rectifying Potassium Current in Ischemia Reperfusion Myocytes

JIAO Canwu¹, HAN Shengna², FU Runfang², ZHANG Lirong² (1. People's Hospital of Puyang, Puyang 457000, China; 2. Department of Pharmacology, School of Medicine, Zhengzhou University, Zhengzhou 475001, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the effects of prostaglandin E_1 (PGE_1) pretreatment on transient outward potassium current and inward rectifying potassium current in ischemia/reperfusion cardiomyocytes and explore its possible mechanisms against ischemia/reperfusion injury. **METHODS** Isolated ischemia/reperfusion model was established according to Langendorff method, enzymatic method was used to isolate single ventricular myocytes, whole-cell patch-clamp was used to record I_{to} and I_{K1} in cardiomyocytes of normal group, ischemia/reperfusion group and PGE_1 pretreatment group. **RESULTS** PGE_1 (14, 42, 126 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) pretreatment significantly increased I_{to} to $(14.24 \pm 1.97) \text{ pA/pF}$ ($n=17$, $P<0.05$), $(18.41 \pm 1.39) \text{ pA/pF}$ ($n=13$, $P<0.05$) and $(21.63 \pm 3.2) \text{ pA/pF}$ ($n=12$, $P<0.05$) respectively from $(9.99 \pm 2.03) \text{ pA/pF}$ ($n=16$) of ischemia/reperfusion group at the