

DOI:10.3724/SP.J.1008.2009.01062

• 研究快报 •

舒芬太尼对大鼠腹主动脉平滑肌细胞钙激活钾电流的影响

刘竹青¹,戎伟芳^{2*},石学银^{1*}

1. 第二军医大学长征医院麻醉科,上海 200003

2. 上海交通大学医学院生理学教研室,上海 200025

[摘要] **目的:**观察舒芬太尼对大鼠腹主动脉平滑肌细胞(AASMCs)钙激活钾电流(IK_{Ca})的影响,探讨其扩张血管的作用机制。**方法:**用酶消化法急性分离 AASMCs,采用全细胞膜片钳技术记录 IK_{Ca} ,观察不同浓度(1×10^{-8} 、 3×10^{-8} 、 1×10^{-7} mol/L)舒芬太尼对该电流的影响。**结果:**与不加药对照组相比舒芬太尼能显著增大 IK_{Ca} 幅度($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),这一作用具有可逆性,并具有浓度依赖性。**结论:**舒芬太尼能增强 AASMCs 钙激活钾通道的活动,这一作用可能与临床上观察到的舒芬太尼舒血管效应有关。

[关键词] 舒芬太尼;腹主动脉;平滑肌细胞;钙激活钾通道

[中图分类号] R 971.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2009)09-1062-03

Effect of sufentanil on calcium-activated potassium currents in rat abdominal aortic smooth muscle cells

LIU Zhu-qing¹, RONG Wei-fang^{2*}, SHI Xue-yin^{1*}

1. Department of Anesthesiology, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China

2. Department of Physiology, School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200025

[ABSTRACT] **Objective:** To investigate the influence of sufentanil on calcium-activated K^+ channels (IK_{Ca}) in rat abdominal aortic smooth muscle cells, and to investigate its role in dilation of blood vessels. **Methods:** Rat abdominal aortic smooth muscle cells (AASMCs) were freshly obtained by enzymatic digestion. Whole-cell voltage-clamp technique was used to assess the effect of sufentanil (1×10^{-8} , 3×10^{-8} , 1×10^{-7} mol/L) on IK_{Ca} . **Results:** Sufentanil significantly increased the amplitude of IK_{Ca} compared with the control group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The effect of sufentanil was reversible and in a concentration-dependent manner. **Conclusion:** Sufentanil can promote the activation of K_{Ca} channel in rat AASMCs, which might be related to the vasodilatory effect of sufentanil observed in clinical practice.

[KEY WORDS] sufentanil; abdominal aorta; smooth muscle myocytes; calcium-activated potassium channels

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2009, 30(9):1062-1064]

舒芬太尼是目前临床常用的镇痛麻醉药,效能为芬太尼的 5~10 倍^[1]。临床报道^[2] 负荷量或维持量的舒芬太尼可引起外周血管阻力下降和低血压,这种变化不单纯是中枢神经系统受抑制或由中枢介导的迷走神经兴奋引起,还可能与舒芬太尼能直接松弛血管平滑肌有关,但其血管作用的机制尚不明确。钙激活钾通道(K_{Ca})是血管平滑肌上的一种重要离子通道,细胞内钙增加时 K_{Ca} 激活,产生外向电流,使膜复极化,对血管张力具有重要的调节作用^[3]。本研究观察了舒芬太尼对大鼠腹主动脉平滑

肌细胞(AASMCs) K_{Ca} 电流(IK_{Ca})的影响,以探讨其扩张血管的可能机制。

1 材料和方法

1.1 溶液和试剂 (1)分离血管及灌流用的生理盐溶液(PSS, mmol/L): NaCl 130, KCl 5, $MgCl_2$ 1.2, $CaCl_2$ 2, HEPES 10, Glucose 10; 分离细胞用无钙 PSS; $CaCl_2$ 由等摩尔的 $MgCl_2$ 取代。2 种 PSS 均用 NaOH 调至 pH 7.4。电极内液 (mmol/L): KCl 140, $CaCl_2$ 2.65, EGTA 5, HEPES 10, MgATP 3; 用

[收稿日期] 2009-01-24 **[接受日期]** 2009-04-07

[基金项目] 国家自然科学基金(30772092)。Supported by National Natural Science Foundation of China(30772092)。

[作者简介] 刘竹青, 硕士生。E-mail: cywloveloveyou@sina.com

* 通讯作者 (Corresponding authors)。Tel: 021-63846590-776476, E-mail: weifangrong@hotmail.com; Tel: 021-81885821, E-mail: shixueyin1128@yahoo.com.cn

KOH 调至 pH 7.2。(2)主要试剂:舒芬太尼购自荷兰 EuroCept 公司, MgATP、木瓜蛋白酶和 I 型胶原酶购自美国 Sigma 公司,余为国产分析纯。

1.2 大鼠 AASMCs 的分离 SD 大鼠用 1% 戊巴比妥钠(50 mg/kg)腹腔内注射,剪开腹腔,迅速取出腹主动脉,置于 4℃ PSS 中,剥净动脉外膜及多余的脂肪,纵向剖开小动脉,冲去残存血液,轻轻刮去动脉内膜,将动脉条剪成约 3 mm×2 mm 的组织块。以上过程均通以体积分数为 95% 的 O₂ 和 5% 的 CO₂ 混合气体。将组织块置于酶液中,37℃ 消化 30 min,用无钙 PSS 轻柔洗涤 2~3 次终止消化,用管口平滑的吸管轻柔地吹打释放细胞,得到的平滑肌细胞于 4℃ 冰箱保存,6 h 内用于膜片钳实验。

1.3 全细胞膜片钳实验 取几滴细胞悬液于细胞灌注槽中,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、胞质均匀的细胞进行膜片钳实验。记录电极用玻璃毛细管(南京六合县泉水教学实验器材厂)经电极拉制仪两步拉制成微电极,阻抗为 4~6 MΩ。用 HEKA 公司的 EPC10 放大器全细胞电压钳模式下记录跨膜电流。钳制电压为 -60 mV,指令电压由 -60 mV 至 +100 mV,阶跃 10 mV,波宽 400 ms,刺激间隔 1 s。舒芬太尼、paxilline 等测试药物经靠近细胞的微灌注管给予,观察给药前后电流变化。为消除不同细胞间的差异,IK_{Ca} 幅度以电流密度值(pA/pF)表示。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 11.0 软件包进行统计学处理。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,单因素方差分析法(ANOVA)进行分析, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 IK_{Ca} 的记录和鉴定 可记录到一束外向钾电流,随指令电压增加,其电流幅值增大,且在 400 ms 时程内未失活(图 1A)。该束外向钾电流及舒芬太尼诱发的电流可被 K_{Ca} 的特异性阻断剂 paxilline 完全抑制,证明该束外向电流为 IK_{Ca}(图 1B)。

2.2 舒芬太尼对 IK_{Ca} 的作用 与给药前比较,3 种浓度(1×10⁻⁸、3×10⁻⁸、1×10⁻⁷ mol/L)的舒芬太尼都可使 IK_{Ca} 的幅度增大,各组大鼠 AASMCs 在 100 mV 时 IK_{Ca} 分别为(56.1±4.5)、(77.8±4.4)、(93.6±4.6) pA/pF,均明显高于对照组的(54.9±5.0) pA/pF($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),且这一作用具有浓度依赖性(图 1C)。停止给予舒芬太尼后,IK_{Ca} 幅度能逐步恢复至给药前水平(图 1D)。

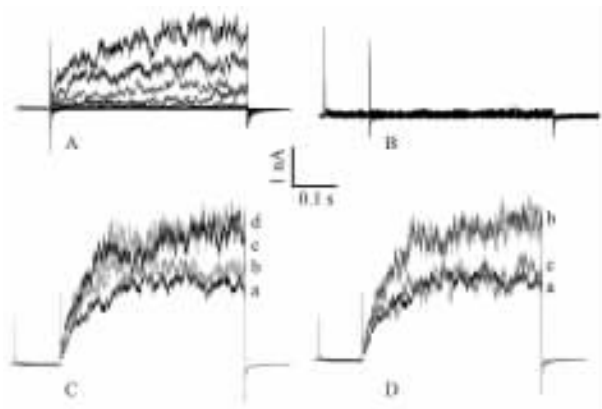


图 1 舒芬太尼对大鼠腹主动脉平滑肌细胞钙激活钾电流 (IK_{Ca}) 的影响

Fig 1 Effect of sufentanil on calcium-activated potassium currents (IK_{Ca}) in rat abdominal aortic smooth muscle cells

A: The IK_{Ca} recorded; B: Paxilline (3 μmol/L) abolished IK_{Ca}; C: Sufentanil increased the amplitude of IK_{Ca} (a: control; b: 1×10⁻⁸ mol/L sufentanil; c: 3×10⁻⁸ mol/L sufentanil; d: 1×10⁻⁷ mol/L sufentanil); D: IK_{Ca} recovered after sufentanil was washed out (a: control; b: 1×10⁻⁷ mol/L sufentanil; c: washed out)

3 讨论

K_{Ca} 携带了血管平滑肌细胞 70%~80% 的外向电流,是平滑肌细胞膜上表达密度最高的钾通道,对血管张力具有重要的调节作用^[4]。K_{Ca} 通过对细胞内钙浓度升高、细胞膜去极化和血管收缩的反馈调节来调控血管张力^[5]。在血管平滑肌,K_{Ca} 由 4 个孔型 α 亚单位和 4 个附属的 β1 亚单位组成^[6],通道活性主要由 β1 亚单位调节^[7],K_{Ca} 的激活则引起平滑肌细胞膜复极化和电压依赖型钙通道的关闭。许多内源性和外源性的血管活性物质通过作用于 K_{Ca} 来调节血管张力^[8-9]。许多麻醉药物会引起血管扩张,有研究^[10-11]表明其中瑞芬太尼和普鲁泊福的血管扩张机制就可能与 K_{Ca} 激活有关。

动物实验及临床实验均证实舒芬太尼可产生浓度依赖性的血管扩张^[2]。大鼠离体肾脏、肾动脉的研究^[12]提示,舒芬太尼降低肾脏灌注压的机制可能与 K_{Ca} 的激活有关,而无内皮依赖性机制;K_{Ca} 抑制剂 TEA 能明显减弱舒芬太尼诱发的血管扩张作用。猫肺血管床的研究^[13]提示,舒芬太尼舒张血管可能是通过组胺和阿片受体敏感通路来介导或调节的。目前舒芬太尼的血管扩张机制在不同血管及不同动物的研究中结果不同,且仅为离体血管的一般药理实验。

本研究直接观察了舒芬太尼对大鼠 AASMCs 的 IK_{Ca} 的影响,结果表明舒芬太尼能增强 AASMCs

上的 IK_{Ca} , 这提示舒芬太尼可能激活平滑肌细胞膜上的 K_{Ca} , 促进 K^+ 外流, 使细胞膜复极化, 从而降低血管平滑肌张力, 导致阻力血管舒张。

综上所述, 舒芬太尼能激活大鼠 AASMCs 的 K_{Ca} , 这一机制可能与其舒血管效应有关。

[参考文献]

[1] Thomson I R, Henderson B T, Singh K, Hudson R J. Concentration-response relationships for fentanyl and sufentanil in patients undergoing coronary artery bypass grafting[J]. *Anesthesiology*, 1998, 89: 852-861.

[2] Ebert T J, Ficke D J, Arain S R, Holtz M N, Shankar H. Vasodilation from sufentanil in humans[J]. *Anesth Analg*, 2005, 101: 1677-1680.

[3] Park W S, Son Y K, Kim N, Youm J B, Warda M, Ko J H, et al. Direct modulation of Ca^{2+} -activated K^+ current by H-89 in rabbit coronary arterial smooth muscle cells[J]. *Vascu Pharmacol*, 2007, 46: 105-113.

[4] Jackson W F. Ion channels and vascular tone[J]. *Hypertension*, 2000, 35: 173-178.

[5] Eichhorn B, Dobrev D. Vascular large conductance calcium-activated potassium channels: functional role and therapeutic potential[J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2007, 376: 145-155.

[6] Zarei M M, Zhu N, Alioua A, Eghbali M, Stefani E, Toro L. A novel MaxiK splice variant exhibits dominant-negative properties for surface expression[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276: 16232-16239.

[7] Tanaka Y, Koike K, Toro L. MaxiK channel roles in blood vessel relaxations induced by endothelium-derived relaxing factors and their molecular mechanisms[J]. *J Smooth Muscle Res*, 2004, 40: 125-153.

[8] Magnusson L, Sorensen C M, Braunstein T H, Holstein-Rathlou N H, Salomonsson M. Renovascular BK(Ca) channels are not activated *in vivo* under resting conditions and during agonist stimulation[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2007, 292: R345-R353.

[9] Kapela A, Bezerianos A, Tsoukias N M. A mathematical model of Ca^{2+} dynamics in rat mesenteric smooth muscle cell: agonist and NO stimulation[J]. *J Theor Biol*, 2008, 253: 238-260.

[10] 林鹏焱, 廖大清, 罗南富, 刘进. 瑞芬太尼对人肠系膜小动脉平滑肌细胞钙激活钾电流的影响[J]. *中华麻醉学杂志*, 2006, 26: 509-511.

[11] Klockgether-Radke A P, Schulze H, Neumann P, Hellige G. Activation of the K^+ channel BK(Ca) is involved in the relaxing effect of propofol on coronary arteries[J]. *Eur J Anaesthesiol*, 2004, 21: 226-230.

[12] Tuncer S, Barışkaner H, Yosunkaya A, Kiliç M, Doğan N, Otelcioğlu S. The effects of sufentanil and remifentanil in the isolated perfused rat kidney[J]. *Agri*, 2004, 16: 56-61.

[13] Kaye A D, Phelps J, Baluch A, Ibrahim I N, Hoover J M, Baber S R, et al. The effects of sufentanil in the feline pulmonary vascular bed[J]. *Eur J Pharmacol*, 2006, 534(1-3): 159-164.

[本文编辑] 孙岩

· 消 息 ·

第9届东方脑血管病介入治疗大会首轮通知

由第二军医大学临床神经医学中心举办的第九届东方脑血管病介入治疗大会(Oriental Conference of Interventional Neuroradiology, OCIN 2009)将于2009年10月30日至11月1日在上海举行。

“东方会”自2001年创办以来,秉承“沟通、合作、规范、创新”的大会宗旨,现已成功举办8界,会议的规模、质量及影响力逐渐扩大,现已发展成为国内乃至国际具有重大影响力的脑血管病盛会。回顾8年的成长历程,东方会以“传播最新进展,推动规范创新”为己任,已经搭建起了一个多学科共同参与、共同讨论、共同进步的学术交流平台。

今年的东方脑血管病大会将继续发扬“追求更高、更精、更细”的传统,分设脑动脉瘤、血管畸形(瘘)、脑动脉狭窄、溶栓与取栓、抗凝及抗血小板分论坛;邀请来自国内外著名的脑血管病专家,围绕神经介入新理论、新技术、新材料、临床试验以及操作规范等方面,就当前脑血管病诊断与治疗存在的争议及热点问题展开全面、深入地探讨;同时,我们还将进行介入手术直播演示及现场解说。会议内容精彩纷呈,值得我们共同期待!

联系人:黄清海 张永巍 E-mail:ocinhqh@163.com

联系地址:上海市长海路168号长海医院神经外科 邮编:200433

会议电话:021-81873453 会议传真:021-81873446

会议网站:http://www.chneuro.com