

# ATP 敏感性钾通道在一氧化氮调节失血性休克大鼠离体淋巴管收缩性中的作用

张立民 牛春雨 赵自刚 司永华 张玉平

**【摘要】 目的** 探讨 ATP 敏感性钾通道( $K_{ATP}$ )在一氧化氮(NO)调节失血性休克(HS)大鼠离体淋巴管收缩性中的作用机制。**方法** 84 只雄性 Wistar 大鼠按随机数字表法分为对照组( $n=6$ )、HS 0.5 h 组( $n=36$ )、HS 2 h 组( $n=42$ );制备离体淋巴管条,分别或联合与  $K_{ATP}$  阻断剂格列本脲(Gli)及其开放剂吡那地尔(Pin)、NO 供体 L-精氨酸(L-Arg)、蛋白激酶 A(PKA)抑制剂 H-89 及其供体 8-溴-环磷酸腺苷(8-Br-cAMP)、一氧化氮合酶(NOS)抑制剂 L-硝基-精氨酸甲酯(L-NAME)、可溶性鸟苷酸环化酶抑制剂 1 h-[1,2,4]噁二唑[4,3-a]喹啉-1-酮(ODQ)、蛋白激酶 G(PKG)抑制剂 KT-5823 共同孵育(分别为 HS 0.5 h、HS 0.5 h + L-Arg、HS 0.5 h + L-Arg + H-89、HS 0.5 h + L-Arg + Gli、HS 0.5 h + 8-Br-cAMP、HS 0.5 h + 8-Br-cAMP + Gli 组及 HS 2 h、HS 2 h + L-NAME、HS 2 h + L-NAME + Pin、HS 2 h + ODQ、HS 2 h + ODQ + Pin、HS 2 h + KT-5823、HS 2 h + KT-5823 + Pin 组, $n=6$ )。采用离体淋巴管灌注技术,记录淋巴管收缩频率(CF),计算收缩幅度(CA)、紧张指数(TI)和泵流分数(FPF)。**结果** HS 0.5 h 淋巴管的 CF、TI、FPF 显著高于对照组;L-Arg 能显著降低 HS 0.5 h 淋巴管的 CF、TI、FPF,H-89、Gli 分别与 L-Arg 共孵育后,H-89 能够逆转 L-Arg 降低 CF、FPF 的作用,Gli 能够逆转 L-Arg 降低 FPF 的作用;8-Br-cAMP 能降低 HS 0.5 h 淋巴管的 CF、FPF,Gli 与 8-Br-cAMP 共孵育后,CF 显著高于 HS 0.5 h + 8-Br-cAMP 组,且 TI、FPF 显著低于 HS 0.5 h 组。HS 2 h 淋巴管的 CF、FPF、TI 较对照组显著降低;L-NAME 可提高 HS 2 h 淋巴管的 CF、TI、FPF,ODQ 可提高 HS 2 h 淋巴管的 CF、TI,KT-5823 可提高 HS 2 h 淋巴管的 CF、FPF;而 L-NAME、ODQ、KT-5823 分别与 Pin 共孵育后,分别能显著降低 HS 2 h 淋巴管单独与 L-NAME 孵育时的 CF、FPF,降低与单独 ODQ 孵育时的 CF、TI、FPF,并恢复 CA 至对照组水平,降低单独与 KT-5823 孵育时的 CF、FPF。**结论**  $K_{ATP}$  参与了 NO 对 HS 大鼠离体淋巴管泵功能的调节作用,其作用与 NO-cAMP-PKA、NO-cGMP-PKG 信号通路有关。

**【关键词】** 失血性休克; 离体实验; 淋巴管; 收缩性; 一氧化氮; ATP 敏感性钾通道

**ATP-sensitive potassium channel involved in modulation of nitride oxide regulating contractile activity of isolated lymphatics from hemorrhagic shock rats** ZHANG Li-min, NIU Chun-yu, ZHAO Zi-gang, SI Yong-hua, ZHANG Yu-ping. Institute of Microcirculation, Hebei North University, Zhangjiakou 075000, Hebei, China  
Corresponding author: NIU Chun-yu, Email: ncyxf@126.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the mechanism of ATP-sensitive potassium channel ( $K_{ATP}$ ) on nitride oxide (NO) regulating contractile activity of isolated lymphatics from hemorrhagic shock (HS) rats. **Methods** Eighty-four Wistar rats were randomly divided into control group ( $n=6$ ), HS 0.5-hour group ( $n=36$ ), HS 2-hour group ( $n=42$ ). A segment of thoracic duct of rats was adopted for isolated lymphatics after HS, then the HS 0.5-hour and 2-hour lymphatics were incubated combinedly or respectively with  $K_{ATP}$  inhibitor glibenclamide (Gli), opener of  $K_{ATP}$  pinacidil (Pin), NO donor L-arginine (L-Arg), protein kinase A (PKA) inhibitor H-89, PKA donor 8-bromine-cyclic adenosine monophosphate (8-Br-cAMP), nitric oxide synthase (NOS) inhibitor N-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME), soluble guanylyl cyclase (sGC) inhibitor 1 h-[1,2,4]-oxadiazole-[4,3-a]-quinoxalin-1-one (ODQ), protein kinase G (PKG) inhibitor KT-5823 (named as HS 0.5 h, HS 0.5 h + L-Arg, HS 0.5 h + L-Arg + H-89, HS 0.5 h + L-Arg + Gli, HS 0.5 h + 8-Br-cAMP, HS 0.5 h + 8-Br-cAMP + Gli and HS 2 h, HS 2 h + L-NAME, HS 2 h + L-NAME + Pin, HS 2 h + ODQ, HS 2 h + ODQ + Pin, HS 2 h + KT-5823, HS 2 h + KT-5823 + Pin,  $n=6$ ). By lymphatic perfusion in vitro, contractile frequency (CF) was recorded, and contractile amplitude (CA), tonic index (TI) and fractional pump flow (FPF) were calculated. **Results** The results suggested that the CF, TI, FPF of HS 0.5-hour lymphatics were significantly increased compared with control group, and the CF, TI, FPF decreased significantly when incubated with L-Arg. H-89 could deteriorate the decreased effect of L-Arg on CF and FPF, and Gli could deteriorate the decreased effect of L-Arg on FPF. When the HS 0.5-hour lymphatics incubated with 8-Br-cAMP, the CF and FPF were all decreased significantly, and when the HS 0.5-hour lymphatics incubated with 8-Br-cAMP and Gli, the CF was significantly higher than HS 0.5 h + 8-Br-cAMP group, and the TI and FPF decreased significantly compared with HS 0.5-hour group. The CF, FPF, TI of HS 2-hour lymphatics were significantly decreased compared with control group. L-NAME could increase the CF, TI, FPF; ODQ could increase the CF, TI; KT-5823 could increase the CF and FPF; when incubated with Pin respectively, the CF and FPF when

incubated with L-NAME were decreased, the CF, TI and FPF when incubated with ODQ were decreased, in addition, the CA was recovered as level of control group, the CF and FPF when incubated with KT-5823 were decreased.

**Conclusion**  $K_{ATP}$  involved in NO modulating pumping function of isolated lymphatics of HS rats, and the effect may be relative to the signal pathway of NO-cAMP-PKA and NO-cGMP-PKG.

**【Key words】** Hemorrhagic shock; In vitro; Lymphatics; Contractility; Nitric oxide; ATP-sensitive potassium channel

研究表明,淋巴微循环障碍影响着失血性休克(HS)的转归<sup>[1]</sup>。淋巴管收缩功能是淋巴管泵功能以及淋巴循环的动力学基础,HS 2 h 后,在体和离体淋巴管收缩显著下降<sup>[2]</sup>,研究淋巴管收缩性的调控机制对于探讨淋巴微循环在休克发病学中的作用有重要意义。本课题组前期建立了离体淋巴管灌注技术,发现一氧化氮(NO)参与了 HS 后淋巴管收缩性双相变化(早期增高、后期降低)的调节<sup>[3]</sup>。ATP 敏感性钾通道( $K_{ATP}$ )对于维持细胞膜电位、调节血管张力起重要作用,参与了 HS 后血管低反应性的发生<sup>[4]</sup>;同时淋巴管平滑肌细胞(LSMC)膜及线粒体膜也存在  $K_{ATP}$ ,可维持生理状态下 LSMC 膜电位,调节淋巴管舒缩<sup>[5]</sup>。那么, $K_{ATP}$ 在 HS 后 NO 调节淋巴管泵功能过程中是否发挥作用值得研究。为此,本研究中观察了  $K_{ATP}$  以及 NO/一氧化氮合酶(NOS)、环磷酸腺苷/蛋白激酶 A(cAMP/PKA)、环磷酸鸟苷/蛋白激酶 G(cGMP/PKG)工具药对 HS 淋巴管收缩性的影响,探讨  $K_{ATP}$  在 NO 通过 cAMP/PKA 和 cGMP/PKG 通路调节淋巴管收缩性中的作用。

## 1 材料与方法

**1.1 动物分组及 HS 模型复制:**SPF 级雄性 Wistar 大鼠 84 只,体重 280~330 g,购自军事医学科学院实验动物中心[许可证号 SCXK(军)2007-004]。实验前大鼠禁食 12 h,自由饮水,按随机数字表法分为对照组( $n=6$ )、HS 0.5 h 组( $n=36$ )、HS 2 h 组( $n=42$ )。按本室常规方法复制 HS 模型<sup>[1,6]</sup>。实验过程中动物处置方法符合动物伦理学标准。

**1.2 离体淋巴管条制备及孵育:**对照组在完成手术稳定 30 min 后、HS 各组在相应时间点腹腔注射 1%戊巴比妥 120 mg/kg 后,按本室常规方法制备淋巴管条<sup>[3,7-8]</sup>。将淋巴管条固定于微血管灌注系统(美国 LSI 公司)的毛细玻璃管上,控制管腔内压力

为 3 cm  $H_2O$ (1 cm  $H_2O=0.098$  kPa),升温、孵育,至淋巴管出现自发性收缩后进行淋巴管收缩性观察。

**1.3 淋巴管收缩性观察:**待淋巴管出现稳定的自发性收缩后,记录淋巴管的收缩频率(CF)、舒张及收缩末期口径,然后加入无钙液测量淋巴管的最大被动舒张口径<sup>[8]</sup>,计算紧张指数(TI)、收缩幅度(CA)、泵流分数(FPF),评价淋巴管收缩性<sup>[3]</sup>。除直接观察对照组、HS 0.5 h 组、HS 2 h 组上述指标( $n=6$ )外,将 HS 0.5 h 组和 HS 2 h 组的其余淋巴管分别或联合与  $K_{ATP}$  阻断剂格列本脲(Gli)及其开放剂吡那地尔(Pin)、NO 供体 L-精氨酸(L-Arg)、PKA 抑制剂 H-89 及其供体 8-溴-环磷酸腺苷(8-Br-cAMP)、NOS 抑制剂 L-硝基-精氨酸甲脂(L-NAME)、可溶性鸟苷酸环化酶(sGC)抑制剂 1 h-[1,2,4]噁二唑[4,3-a]喹啉-1-酮(ODQ)、PKG 抑制剂 KT-5823 共同孵育(分别为 HS 0.5 h + L-Arg、HS 0.5 h + L-Arg + H-89、HS 0.5 h + L-Arg + Gli、HS 0.5 h + 8-Br-cAMP、HS 0.5 h + 8-Br-cAMP + Gli 组,HS 2 h + L-NAME、HS 2 h + L-NAME + Pin、HS 2 h + ODQ、HS 2 h + ODQ + Pin、HS 2 h + KT-5823、HS 2 h + KT-5823 + Pin 组, $n=6$ )后观察。其中,L-Arg 浓度为  $1 \times 10^{-3}$  mol/L,8-Br-cAMP、L-NAME、ODQ、Pin 浓度均为  $1 \times 10^{-5}$  mol/L,H-89、Gli、KT-5823 浓度均为  $1 \times 10^{-6}$  mol/L。L-Arg、Gli、L-NAME、Pin、ODQ 购自美国 Sigma 公司,H-89、8-Br-cAMP、KT-5823 购自瑞士 Alexis 公司。

**1.4 统计学处理:**应用 SPSS 16.0 统计软件处理数据,计量资料以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,行方差齐性检验,方差齐( $P>0.10$ )时多组间比较用单因素方差分析,方差不齐( $P \leq 0.10$ )采用 Kruskal-Wallis 检验, $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1  $K_{ATP}$  在 NO-cAMP-PKA 调节 HS 大鼠离体淋巴管收缩中的作用(表 1):**HS 0.5 h 淋巴管 CF、TI、FPF 均显著高于对照组( $P<0.05$  或  $P<0.01$ ),说明 HS 0.5 h 淋巴管的收缩性增高。将 L-Arg 与 HS 淋巴管孵育 0.5 h 后,CF、TI、FPF 降低(均  $P<0.01$ ),说明 L-Arg 可降低休克淋巴管的收缩性;加入 H-89 后,

DOI: 10.3760/ema.j.issn.1003-0603.2012.08.004

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30770845);河北省自然科学基金资助项目(C2008000503);河北省教育厅科学研究重点项目(ZH2007101,ZD20100201)

作者单位:075000 张家口,河北北方学院微循环研究所

通信作者:牛春雨,Email:ncylxf@126.com

CF、FPF 升高 ( $P < 0.01$  和  $P < 0.05$ ), 对 TI 作用不明显, 说明 H-89 可抑制 L-Arg 对 HS 淋巴管收缩性的降低作用; 加入 Gli 后, FPF 升高 ( $P < 0.05$ ), 对 CF、TI 作用不明显, 且 CF、FPF、TI 仍低于 HS 0.5 h 组 (均  $P < 0.01$ ), 说明 Gli 可部分抑制 L-Arg 对 HS 淋巴管收缩性的降低作用。8-Br-cAMP 与 HS 淋巴管孵育 0.5 h 后, CF、FPF 降低 (均  $P < 0.01$ ), 对 TI 作用不明显, 说明 8-Br-cAMP 可部分降低 HS 淋巴管的收缩性; 加入 Gli 后, CF 明显提高 ( $P < 0.01$ ), 对 TI、FPF 无明显影响, 且 TI、FPF 低于 HS 0.5 h 组 (均  $P < 0.01$ ), 说明 Gli 部分抑制了 8-Br-cAMP 的作用。此外, 各组间 CA 差异均无统计学意义。

**2.2 K<sub>ATP</sub> 在 NO-cGMP-PKG 调节 HS 大鼠离体淋巴管收缩中的作用 (表 2):** HS 2 h 淋巴管 CF、TI、FPF 显著低于对照组 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 说明 HS 2 h 淋巴管的收缩性低于对照组。L-NAME 与 HS 淋巴管孵育 2 h 后 CF、TI、FPF 升高 (均  $P < 0.01$ ), 并恢复至对照组水平, 说明 L-NAME 可增强 HS 2 h 淋巴管的收缩性; 加入 Pin 后 CF、FPF 降低 (均  $P < 0.01$ ), 对 TI 作用无统计学差异, 且 CF、TI、FPF 与 HS 2 h 组无差异, 说明 Pin 抑制了 L-NAME 对 HS 2 h 淋巴管收缩性的增高作用。ODQ 与 HS 淋巴管孵育 2 h 后, CF、TI 升高 (均  $P < 0.01$ ), 但对 FPF 作用不明显, 提示 ODQ 可能增强了 HS 2 h 淋巴管的收缩性; 加入 Pin 后, 可降低 ODQ 对 HS 2 h 淋巴管 CF、TI 的提高作用 (均  $P < 0.01$ ), 同时降低了 FPF ( $P < 0.05$ ), 说明 Pin 抑制了 ODQ 的作用。KT-5823 与 HS 淋巴管孵育 2 h 后, CF、FPF 升高 (均  $P < 0.01$ ), 但对 TI 的作用不明显, 提示 KT-5823 具有增强 HS 2 h 淋巴管收缩性的作用; 加入 Pin 后, 降低了 KT-5823 对 HS 2 h 淋巴管 CF、FPF 的提高作用 (均  $P < 0.01$ ), 对 TI 无明显影响, 说明 Pin 部分抑制了 KT-5823 的作用。除 HS 2 h + ODQ 组淋巴管的 CA 低于对照组和 HS 2 h 组、

表 1 K<sub>ATP</sub> 在 NO-cAMP-PKA 调节 HS 大鼠离体淋巴管收缩中的作用 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数	CF (次/min)	TI	CA	FPF
对照组	6	9.00 ± 1.15	11.36 ± 1.47	33.49 ± 4.35	5.43 ± 0.39
HS 0.5 h 组	6	11.97 ± 1.10 <sup>a</sup>	13.35 ± 1.36 <sup>a</sup>	28.95 ± 4.87	6.57 ± 0.67 <sup>b</sup>
HS 0.5 h+L-Arg 组	6	7.67 ± 1.03 <sup>d</sup>	9.24 ± 1.42 <sup>ad</sup>	28.22 ± 5.67	3.95 ± 0.60 <sup>bd</sup>
HS 0.5 h+L-Arg+H-89 组	6	9.67 ± 1.37 <sup>d</sup>	9.68 ± 2.51 <sup>d</sup>	28.69 ± 6.03	5.06 ± 0.56 <sup>de</sup>
HS 0.5 h+L-Arg+Gli 组	6	8.17 ± 1.47 <sup>d</sup>	8.27 ± 3.65 <sup>bd</sup>	33.23 ± 2.57	4.84 ± 0.93 <sup>de</sup>
HS 0.5 h+8-Br-cAMP 组	6	9.67 ± 1.63 <sup>d</sup>	12.65 ± 2.90	30.15 ± 4.80	5.43 ± 0.71 <sup>d</sup>
HS 0.5 h+8-Br-cAMP+Gli 组	6	11.80 ± 0.75 <sup>bs</sup>	10.92 ± 1.73 <sup>d</sup>	26.37 ± 7.59	5.82 ± 1.17 <sup>d</sup>

注: K<sub>ATP</sub>: ATP 敏感性钾通道, NO-cAMP-PKA: 一氧化氮-环磷酸腺苷-蛋白激酶 A, HS: 失血性休克, L-Arg: L-精氨酸, H-89: PKA 抑制剂, Gli: 格列本脲, 8-Br-cAMP: 8-溴-环磷酸腺苷, CF: 收缩频率, TI: 紧张指数, CA: 收缩幅度, FPF: 泵流分数; 与对照组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$ ; 与 HS 0.5 h 组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$ , <sup>d</sup> $P < 0.01$ ; 与 HS 0.5 h + L-Arg 组比较, <sup>e</sup> $P < 0.05$ , <sup>f</sup> $P < 0.01$ ; 与 HS 0.5 h + 8-Br-cAMP 组比较, <sup>s</sup> $P < 0.01$

表 2 K<sub>ATP</sub> 在 NO-cGMP-PKG 调节 HS 大鼠离体淋巴管收缩中的作用 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数	CF (次/min)	TI	CA	FPF
对照组	6	9.00 ± 1.15	11.36 ± 1.47	33.49 ± 4.35	5.43 ± 0.39
HS 2 h 组	6	6.83 ± 1.79 <sup>b</sup>	8.07 ± 2.98 <sup>a</sup>	35.12 ± 6.35	4.37 ± 1.31 <sup>a</sup>
HS 2 h+L-NAME 组	6	10.71 ± 2.17 <sup>d</sup>	12.30 ± 3.89 <sup>d</sup>	32.50 ± 3.41	6.06 ± 1.35 <sup>d</sup>
HS 2 h+L-NAME+Pin 组	6	7.00 ± 1.79 <sup>e</sup>	10.59 ± 3.18	32.65 ± 3.46	4.17 ± 1.08 <sup>e</sup>
HS 2 h+ODQ 组	6	10.83 ± 1.94 <sup>d</sup>	20.74 ± 5.61 <sup>bd</sup>	22.93 ± 5.11 <sup>bd</sup>	5.24 ± 0.88
HS 2 h+ODQ+Pin 组	6	7.33 ± 1.97 <sup>e</sup>	11.31 ± 3.23 <sup>se</sup>	28.82 ± 3.72 <sup>c</sup>	3.95 ± 1.00 <sup>f</sup>
HS 2 h+KT-5823 组	6	9.67 ± 2.58 <sup>d</sup>	6.05 ± 2.47 <sup>b</sup>	35.08 ± 7.73	6.27 ± 1.66 <sup>d</sup>
HS 2 h+KT-5823+Pin 组	6	6.67 ± 1.51 <sup>ah</sup>	5.38 ± 3.37 <sup>b</sup>	33.61 ± 9.30	4.38 ± 1.12 <sup>ah</sup>

注: K<sub>ATP</sub>: ATP 敏感性钾通道, NO-cGMP-PKG: 一氧化氮-环磷酸鸟苷-蛋白激酶 G, HS: 失血性休克, L-NAME: L-硝基-精氨酸甲酯, Pin: 吡那地尔, ODQ: 1 h-[1,2,4] 噁二唑 [4,3-a] 啉啉-1-酮, KT-5823: PKG 抑制剂, CF: 收缩频率, TI: 紧张指数, CA: 收缩幅度, FPF: 泵流分数; 与对照组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$ ; 与 HS 2 h 组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$ , <sup>d</sup> $P < 0.01$ ; 与 HS 2 h + L-NAME 组比较, <sup>e</sup> $P < 0.01$ ; 与 HS 2 h + ODQ 组比较, <sup>f</sup> $P < 0.05$ , <sup>s</sup> $P < 0.01$ ; 与 HS 2 h + KT-5823 组比较, <sup>h</sup> $P < 0.01$

HS 2 h + ODQ + Pin 组 CA 低于 HS 2 h 组外, 其他各组间 CA 差异无统计学意义。

### 3 讨论

生理条件下, K<sub>ATP</sub> 处于关闭状态, 维持静息电位; NO 增加 cGMP 通过 PKG 激活 K<sub>ATP</sub><sup>[9]</sup>; NO 亦可增加 cAMP 通过 PKA 活化开放 K<sub>ATP</sub><sup>[10]</sup>; 二者也可通过交叉激活的形式介导 cGMP 增加, 激活 PKA、开放 K<sub>ATP</sub><sup>[11]</sup>, 增加 K<sup>+</sup> 外流, 降低 Ca<sup>2+</sup> 浓度, 导致 LSMC 超极化, 引起淋巴管舒张。在本研究中, 重点探讨 K<sub>ATP</sub> 在休克淋巴管收缩性双相变化中的作用。

CF 是单位时间淋巴管收缩次数, TI 反映淋巴管紧张性收缩状态, FPF 反映淋巴管每分钟输送淋巴液的能力, L-Arg 为 NO 的供体, 可降低 HS 0.5 h 淋巴管收缩性指标 CF、TI、FPF, 提示 NO 降低了 HS 0.5 h 淋巴管的收缩性; H-89 可抑制 PKA 活性<sup>[10]</sup>, 本研究中 H-89 抑制了 L-Arg 降低 HS 0.5 h 淋巴管 CF、FPF 的作用, 提示抑制 PKA 活性部分阻断了 NO 的作用, 说明 NO 降低淋巴管收缩性的作用是部

分通过 PKA 实现的;Gli 作为  $K_{ATP}$  的抑制剂<sup>[12]</sup>,抑制了 L-Arg 对 HS 0.5 h 淋巴管 FPF 的降低作用,表明关闭  $K_{ATP}$  同样也部分阻断了 NO 的作用,说明休克时  $K_{ATP}$  参与了 NO 对淋巴管收缩性的调节。进一步研究发现,8-Br-cAMP 作为 cAMP 的供体,可提高 PKA 活性<sup>[13]</sup>,8-Br-cAMP 抑制了 HS 0.5 h 淋巴管的 CF 和 FPF,表明 PKA 参与了 HS 淋巴管收缩性的调节;Gli 对 8-Br-cAMP 有抑制作用,表明 NO 通过 cAMP/PKA 调节 HS 大鼠淋巴管收缩性的作用与  $K_{ATP}$  有关。结合文献报道<sup>[14-15]</sup>,推测休克时  $K_{ATP}$  对淋巴管收缩性的调节机制为:L-Arg 诱导后 NO 增加了淋巴管 cAMP 含量,cAMP 提高了 PKA 活性,PKA 激活了  $K_{ATP}$ , $K_{ATP}$  开放增加了 LSMC 的  $K^+$  外流,引起了 LSMC 膜电位超极化,抑制了电压门控钙通道引起  $Ca^{2+}$  内流减少,最终降低了 LSMC 内  $Ca^{2+}$  浓度,降低了淋巴管收缩性。

L-NAME 作为 NOS 抑制剂,可减少 NO 生成<sup>[16]</sup>,L-NAME 对 HS 2 h 淋巴管 CF、TI、FPF 有提升作用,说明减少 NO 可提高淋巴管的收缩性;ODQ 可抑制 sGC 活性,从而降低 cGMP 生成<sup>[11]</sup>,ODQ 可提高 HS 2 h 淋巴管 CF、TI,说明降低 cGMP 提高了 HS 2 h 淋巴管收缩性,也提示休克淋巴管收缩性的调节与 cGMP 有关;KT-5823 作为 PKG 抑制剂<sup>[11]</sup>,可提高 HS 2 h 淋巴管 CF、FPF,说明抑制 PKG 活性可提高 HS 2 h 淋巴管的收缩性,结果表明,NO、cGMP、PKG 均参与了淋巴管收缩性的调节。进一步将三者分别与  $K_{ATP}$  开放剂 Pin 共孵育,结果发现 Pin 显著降低了 L-NAME、ODQ、KT-5823 分别单独孵育时对淋巴管收缩性的提升作用,表明  $K_{ATP}$  的开放参与了 NO、cGMP、PKG 对淋巴管的收缩性调节作用。其机制可能为:L-NAME 通过抑制 NOS 活性减少了 NO 生成,sGC 活性下降,NO 生成减少引起 cGMP 含量减少(ODQ 抑制 sGC 活性,也使 cGMP 生成减少),导致 PKG 活性降低(KT-5823 也可抑制 PKG 的活性),减少了  $K_{ATP}$  活化,使淋巴管收缩性增高。应指出,CA 反映单次淋巴管舒缩的强度,HS 0.5 h 与 HS 2 h 淋巴管 CA 与对照组无明显差异,HS 0.5 h 淋巴管与各工具药孵育后未出现明显差异,HS 2 h 淋巴管仅在 ODQ 的作用下出现了统计学差异,这可能与淋巴管类似于心肌的收缩特性有关<sup>[17]</sup>。

综上,本研究发现在 HS 的发展进程中,NO 通过 cGMP/cAMP 及其依赖的蛋白激酶途径调节休克淋巴管泵功能,部分是通过开放  $K_{ATP}$  发挥作用的;

$K_{ATP}$  可作为调控淋巴管收缩性的药物靶点。

## 参考文献

- [1] 牛春雨,赵自刚,刘艳凯,等.高渗盐水对低血容量性休克大鼠淋巴循环的影响.中国危重病急救医学,1999,11:596-598.
- [2] Niu CY,Zhao ZG,Zhang YP,et al. Lymphatic hyporeactivity and calcium desensitization following hemorrhagic shock. Shock, 2012,37:415-423.
- [3] 秦立鹏,牛春雨,赵自刚,等.一氧化氮对失血性休克大鼠淋巴管收缩性双相变化的调节作用.生理学报,2011,63:367-376.
- [4] Zhao KS,Huang X,Liu J,et al. New approach to treatment of shock—restitution of vasoreactivity. Shock,2002,18:189-192.
- [5] 张立民,牛春雨,赵自刚.ATP 敏感性钾通道对淋巴管功能的调节作用.中国危重病急救医学,2012,24:254-256.
- [6] 韩瑞,李志鹏,鲁蓓,等.休克肠淋巴液对大鼠红细胞膜泵活性及氧自由基的影响.中国危重病急救医学,2011,23:454-457.
- [7] Zhang R,Gashev AA,Zawieja DC,et al. Length-dependence of lymphatic phasic contractile activity under isometric and isobaric conditions. Microcirculation,2007,14:613-625.
- [8] Davis MJ, Davis AM, Ku CW, et al. Myogenic constriction and dilation of isolated lymphatic vessels. Am J Physiol Heart Circ Physiol,2009,296:H293-302.
- [9] Bridenbaugh EA, Gashev AA, Zawieja DC. Lymphatic muscle: a review of contractile function. Lymphat Res Biol,2003,1:147-158.
- [10] von der Weid PY. ATP-sensitive  $K^+$  channels in smooth muscle cells of guinea-pig mesenteric lymphatics: role in nitric oxide and beta-adrenoceptor agonist-induced hyperpolarizations. Br J Pharmacol,1998,125:17-22.
- [11] von der Weid PY,Zhao J, Van Helden DF. Nitric oxide decreases pacemaker activity in lymphatic vessels of guinea pig mesentery. Am J Physiol Heart Circ Physiol,2001,280:H2707-2716.
- [12] Mizuno R, Ono N, Ohhashi T. Parathyroid hormone-related protein- (1-34) inhibits intrinsic pump activity of isolated murine lymph vessels. Am J Physiol Heart Circ Physiol,2001,281:H60-66.
- [13] Han J, Kim N, Kim E, et al. Modulation of ATP-sensitive potassium channels by cGMP-dependent protein kinase in rabbit ventricular myocytes. J Biol Chem,2001,276:22140-22147.
- [14] Matsumoto T,Kobayashi T,Kamata K. Phosphodiesterases in the vascular system. J Smooth Muscle Res,2003,39:67-86.
- [15] Jackson WF. Potassium channels in the peripheral microcirculation. Microcirculation,2005,12:113-127.
- [16] Lobov GI,Pan'kova MN. NO-dependent:modulation of contractile function in capsule of lymph nodes. Ross Fiziol Zh Im I M Sechenova,2010,96:489-497.
- [17] von der Weid PY, Muthuchamy M. Regulatory mechanisms in lymphatic vessel contraction under normal and inflammatory conditions. Pathophysiology,2010,17:263-276.

(收稿日期:2012-04-25)

(本文编辑:李银平)