

El inhibidor de la fosfolipasa-A₂, el ácido aristolóquico, inhibe la secreción de cloro sin alterar la función de barrera

Y. Adame, M. Encinas, P. Alarma, J.A. Fernández-Represa y J.A. Mayol

Servicio de Cirugía I. Hospital Clínico San Carlos. Madrid.

RESUMEN

OBJETIVO: Estudiar el efecto del ácido araquidónico (AA) y la implicación de la fosfolipasa-A₂ (PLA₂) sobre la función de barrera y la secreción electrogénica de cloro en el epitelio intestinal.

MATERIAL Y MÉTODOS: Se llevaron a cabo estudios electrofisiológicos en la línea T₈₄ y en el colon distal de rata. Se determinaron la secreción iónica (Isc) y la resistencia transepitelial (RT).

RESULTADOS: El AA exógeno potenció la secreción estimulada por calcio en la línea T₈₄. La incubación del colon distal de rata en presencia de ácido aristolóquico, un inhibidor de la PLA₂, disminuyó la Isc basal sin alterar la RT e inhibió la Isc estimulada por un agonista del AMPc, la forskolina. En células T₈₄, el ácido aristolóquico inhibió la secreción estimulada tanto por carbacol como por forskolina.

CONCLUSIÓN: La PLA₂ modula la secreción electrogénica de cloro, sin ejercer ningún efecto sobre la función de barrera en células de la línea T₈₄ y en colon distal de rata.

THE PHOSPHOLIPASE A₂ INHIBITOR, ARISTOLOCHIC ACID, INHIBITS CHLORIDE SECRETION WITHOUT ALTERING BARRIER FUNCTION

AIM: To study the effect of aristolochic acid (AA) and the effect of phospholipase A₂ (PLA₂) on barrier function and electrogenic chloride secretion in intestinal epithelium.

MATERIAL AND METHODS: Electrophysiological studies were performed in the T₈₄ cell line and rat distal colon. Ionic secretion and transepithelial resistance were determined.

RESULTS: Exogenous AA increased calcium-stimulated secretion in the T₈₄ cell line. Incubation of rat distal colon in

the presence of AA, a PLA₂ inhibitor, reduced basal ionic secretion without affecting transepithelial resistance and inhibited ionic secretion stimulated by a cyclic adenosine monophosphate (AMPc) agonist, forskolin. In T₈₄ cells, AA inhibited both carbachol- and forskolin-stimulated secretion.

CONCLUSION: PLA₂ modulates electrogenic chloride secretion but has no effect on barrier function in the T₈₄ cell line or in rat distal colon.

INTRODUCCIÓN

El epitelio que conforma la mucosa intestinal representa un ejemplo único de la adaptación celular. Su organización polarizada y la segregación de ciertas proteínas de la membrana citoplasmática permite a estas células ejercer dos funciones esenciales para la supervivencia de los organismos superiores: por un lado supone una barrera física e inmunológica¹, particularmente resistente y, por otro, ejerce funciones de transporte activo de nutrientes, agua y electrólitos².

La mucosa intestinal es constantemente hidratada a través de la secreción de cloro (Cl⁻) por vía transcelular, seguida del movimiento pasivo de sodio (Na⁺) y agua por vía paracelular³. En el intestino se produce aumento de la secreción en respuesta a estímulos mecánicos, neurohormonales y bacterianos, con el fin de conseguir la correcta lubricación de la superficie epitelial y, con ello, la protección de la mucosa frente a un posible daño.

El transporte de Cl⁻ parece restringido en gran parte a ciertas células especializadas de las criptas intestinales, que se activan en respuesta a agentes que actúan a través de la vía de los nucleótidos cíclicos (AMPc y GMPc) y del calcio (Ca²⁺)³. Estas células se sirven de la separación selectiva de un compartimiento apical y otro basal, aislados mediante uniones intercelulares específicas denominadas *tight junctions* (TJ), para organizar el movimiento aniónico desde el líquido extracelular hasta la luz intestinal⁴.

El modelo de secreción de Cl⁻ en el epitelio intestinal³ requiere la participación de diferentes transportadores localizados en la membrana apical y basolateral de las células secretoras. La bomba Na/K/ATP-asa genera un gradiente

Este trabajo ha sido realizado gracias a las becas del Ministerio de Sanidad, Fondo de Investigación Sanitaria (FIS 98/0141 y 99/0121, concedidas al Dr. Julio Mayol Martínez). Yolanda Adame Navarrete tiene una beca de formación del Fondo de Investigación Sanitaria (FIS 00/9056).

Correspondencia: Dr. J.A. Mayol.
Servicio de Cirugía I (3ª N). Hospital Clínico San Carlos. 28040 Madrid.
Correo electrónico: jmayol@hscs.insalud.es

Recibido el 24-5-2001; aceptado para su publicación el 3-10-2001.

electroquímico que activa al cotransportador situado en la membrana basolateral, el Na-K-2Cl, que permite la entrada de Cl⁻ al interior celular. A través de los canales de K⁺ localizados en la membrana basolateral se produce el recambio de K⁺ que entra en la célula. Los canales de Cl⁻ (sensibles a Ca²⁺ y sensibles a AMPc) se abren, permitiendo la liberación de Cl⁻ hacia la luz del intestino. Diversas afecciones, como la enfermedad inflamatoria intestinal (EII), se caracterizan por la acumulación de neutrófilos y eosinófilos en la zona lesionada, que liberan potentes agentes estimulantes de la secreción de Cl⁻ (adenosina, monocloramina, etc.). Por ejemplo, la adenosina produce un incremento del ácido araquidónico (AA) en la línea celular T₈₄ y sus efectos secretores pueden ser bloqueados mediante la exposición a inhibidores de la fosfolipasa-A₂ (PLA₂) y diacilglicerol (DAG) lipasa^{5,6}, siendo éstas las enzimas implicadas en la síntesis de AA. Devor et al^{7,8} demostraron la importancia del AA como segundo mensajero en la modulación de la secreción de Cl⁻. Por ello, este trabajo tiene como objetivo estudiar el efecto de la inhibición de la PLA₂ sobre la secreción activa de Cl⁻.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales

Todos los estudios se realizaron en ratas Sprague-Dawley con un peso de entre 250 y 300 g. Los animales fueron mantenidos en la Unidad de Investigación y Medicina y Cirugía Experimental. Los animales permanecieron en jaulas con condiciones adecuadas de luz y humedad y con acceso libre al alimento y al agua. Todos los experimentos se llevaron a cabo de acuerdo con la normativa legal vigente (Directiva Comunitaria 86/609 y Real Decreto 223/1988 de 14 de marzo sobre la protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos, BOE 18 de marzo de 1988).

Obtención de piezas

Se sacrificaron las ratas mediante pentobarbital sódico intraperitoneal (6 mg por 100 mg de peso) y se abrió la cavidad abdominal para extirpar los 5 cm distales de colon, que se sumergió inmediatamente en una solución de Ringer gaseada con una mezcla de O₂/CO₂ al 95/5%. En algunos casos se procedió a disecar la capa mucosa de la muscular y la serosa y montar las láminas mucosas de manera pareada en cámaras de Ussing. Las vertientes luminal y serosa de las láminas de mucosa en las cámaras se bañaron en una solución tamponada a 37 °C.

Cultivos celulares

Las células se obtuvieron de la American Type Culture Collection (Rockville, MD) y se mantuvieron en cultivo. Para los estudios de electrofisiología, las células se hicieron crecer en soportes permeables de 0,33 cm² de superficie (Costar Corp., Cambridge MA) y se alimentaron cada 3 días mediante una solución 1:1 de medio de Dulbecco-Vogt modificado de Eagle y de medio F-12 de Ham, más suero de ternera al 5%, con pH de 7,4 suplementado con HEPES 15 mmol/l, 1,2 g de bicarbonato sódico, 40 mg/l de penicilina, 8 mg/l de ampicilina y 90 mg/l de estreptomina.

Soluciones tampón

Los experimentos de las monocapas celulares se llevaron a cabo en solución de Ringer-HE-PES-fosfato con pH de 7,4 (135 mmol/l de cloruro sódico, 5 mmol/l de cloruro potásico, 3,3 mmol/l de fosfato monosódico, 0,83 mmol/l de fosfato bisódico, 1 mmol/l de cloruro cálcico, 10 mmol/l de glucosa y 5 mmol/l de HEPES) y a temperatura ambiente. La composición de la solución tampón estándar para el colon distal de la rata fue: 118,4 mmol/l de NaCl, 3,2 mmol/l de KCl, 1,0 mmol/l de CaCl₂, 0,4 mmol/l de NaH₂PO₄, 2,4 mmol/l de Na₂HPO₄, 20,0 mmol/l

de NaHCO₃ y 10 mmol/l de glucosa, aireada con O₂ al 95% y CO₂ al 5% con un pH de 7,4. Todos los compuestos químicos utilizados fueron proporcionados por Sigma-Aldrich Química S.A. (Madrid, España).

Electrofisiología

Mediante electrodos de Ag-AgCl se conectan las soluciones luminal y serosa a un clamp de voltaje (EVC-4000, Voltage-current clamp World Precision Instruments Inc. New Haven, Conn., EE.UU.), y de esta manera se obtiene la resistencia transepitelial (RT) a partir de la diferencia de potencial en circuito abierto (E) y de la corriente de cortocircuito (Isc) aplicando la ley de Ohm, tal como sigue: se mide la diferencia de potencial basal y tras la aplicación de una corriente a través de la monocapa de 50 μA, de manera que:

$$\Delta E = \Delta I \cdot R/\text{Área} \Rightarrow (E_0 - E_{50}) = (I_0 - I_{50}) \cdot R/\text{Área}. RT = (E_0 - E_{50}) \cdot \text{Área}/(I_0 - I_{50}) \rightarrow RT = (E_0 - E_{50}) \cdot \text{Área}/(0 - 0,050) \text{ o } RT = (E_{50} - E_0) \cdot \text{Área}/0,050.$$

La corriente de cortocircuito (Isc) se obtuvo según se describe en la ley de Ohm:

$$Isc = E_0/RT.$$

Estadística

Los resultados son presentados como media ± error estándar de la media. Las comparaciones estadísticas fueron llevadas a cabo mediante la realización del test de la t de Student y el test de ANOVA para muestras repetidas. Las diferencias son consideradas significativas cuando p < 0,05.

RESULTADOS

Con el fin de conocer cuál es la implicación del AA en la respuesta secretora en monocapas de células T₈₄, incubamos las muestras con AA (5 μmol/l) durante 20 min, lo que ocasionó un ligero aumento de la Isc basal con respecto al control (Isc basal = 7,2 ± 0,4 μA*cm⁻² para las muestras problema frente a 3,0 ± 0,3 μA*cm⁻² para las muestras control; n = 6 para cada grupo; NS). Posteriormente añadimos carbacol (100 μmol/l) basolateral. La respuesta secretora generada por el carbacol fue potenciada significativamente (fig. 1) en las muestras previamente tratadas con el AA con respecto a las muestras control (pico Isc = 44,3 ± 1,2 μA*cm⁻² para las muestras problema frente a 26,8 ± 1,9 μA*cm⁻² para las muestras control; n = 6 para cada grupo; p < 0,001).

La PLA₂ es la enzima encargada de la generación de AA intracelular. Por ello, estudiamos el efecto que produce el ácido aristolóquico, inhibidor de la PLA₂, sobre la secreción estimulada por carbacol en la línea celular T₈₄. La incubación con ácido aristolóquico inhibió de manera significativa la secreción activada por el agonista de la vía del Ca²⁺, carbacol (fig. 2). El pico máximo de Isc generado por el carbacol (100 μmol/l) correspondió a un valor de 9,6 ± 1,1 μA*cm⁻² para los controles frente a un 4,6 ± 0,3 μA*cm⁻² para las muestras con ácido aristolóquico 200 μmol/l (n = 6 para cada grupo; p < 0,05).

Además del Ca²⁺, el AMPc es capaz de aumentar la secreción. Por tanto, investigamos la respuesta secretora de las monocapas celulares, cuando la estimulación se realiza con un agonista de la vía del AMPc (forskolina). Tras incubar las muestras con ácido aristolóquico (200 μmol/l) durante 15 min se procedió a la adición de forskolina (10 μmol/l). El efecto que se produjo fue una inhibición del pico máximo de secreción con respecto al control (fig. 3). Los datos obtenidos fueron Isc máxima = 108,7 ± 3,1

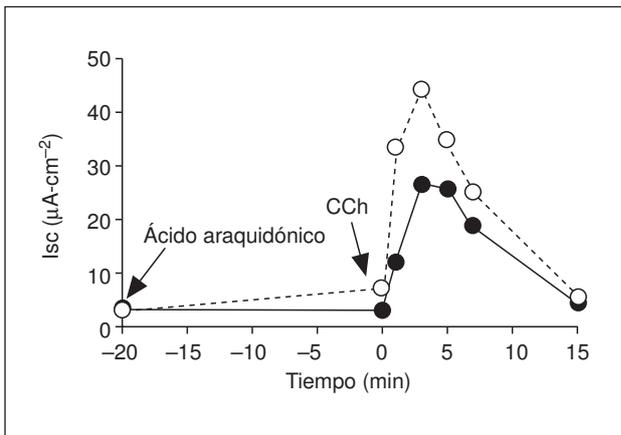


Fig. 1. El ácido araquidónico potencia la acción secretora estimulada por carbacol en la línea celular T₈₄. Durante 20 min se mantuvieron las monocapas celulares incubadas con AA, 5 mmol/l, y posteriormente se añadió carbacol, 100 mmol/l. La respuesta secretora generada por el carbacol se ve potenciada significativamente en las muestras previamente tratadas (puntos blancos; n = 6) con respecto a las muestras control (puntos negros; n = 6; p < 0,001).

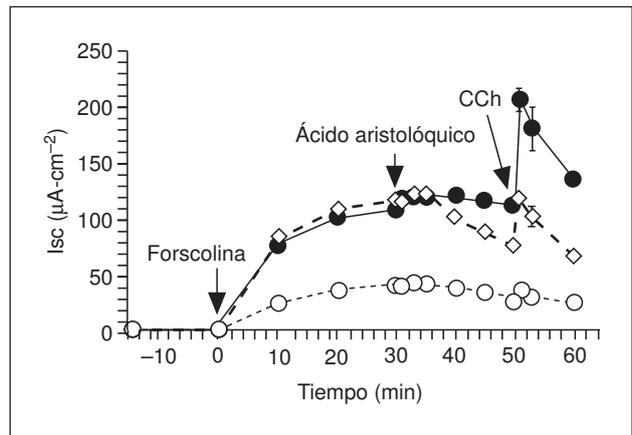


Fig. 3. El ácido aristolóquico bloquea la respuesta secretora activada tanto por forscolina como por carbacol en las células T₈₄. La incubación durante 15 min con ácido aristolóquico supone un bloqueo de la Isc estimulada por forscolina, 10 mmol/l, (puntos blancos; n = 4) con respecto al control (puntos negros; n = 4). La adición de ácido aristolóquico, 200 mmol/l, después de transcurrir 30 min de la adición de forscolina (rombos blancos; n = 4), produjo la disminución de la Isc basal con respecto al control. La adición de carbacol, 100 mmol, a las muestras pre y postratadas con ácido aristolóquico (puntos blancos y rombos blancos, respectivamente) no produjo la misma respuesta que las muestras control (puntos negros).

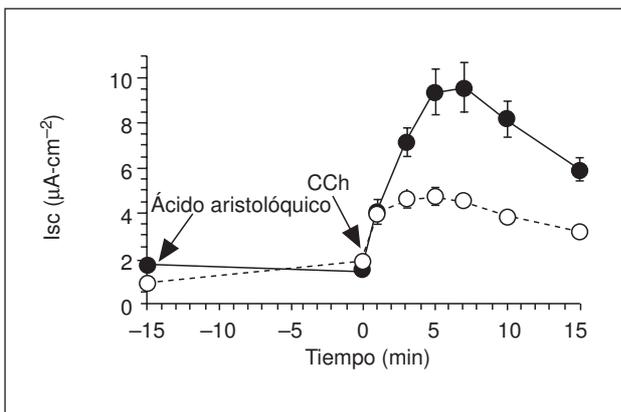


Fig. 2. El inhibidor de la PLA₂, ácido aristolóquico, bloquea la secreción estimulada por carbacol en monocapas celulares T₈₄. La incubación de células de la línea T₈₄ con ácido aristolóquico, 200 mmol/l, fue llevada a cabo durante 15 min. Esto produjo la inhibición de manera significativa de la secreción a través de la vía del calcio (carbacol 100 mmol/l) (puntos blancos; n = 6) con respecto a las células control (puntos negros; n = 6; p = 0,05).

μA·cm⁻² para el control frente a 39,1 ± 1,5 μA·cm⁻² para las muestras tratadas con ácido aristolóquico (n = 4; p < 0,001). Para estudiar un posible efecto sinérgico entre ambos agonistas, añadimos carbacol (100 μmol/l) después de transcurridos 50 min de la adición de forscolina. La respuesta fue completamente inhibida debido a la presencia del ácido aristolóquico (pico Isc = 206,7 ± 9 μA·cm⁻² para el control frente a 37,2 ± 1,2 μA·cm⁻² para las muestras problema; n = 4; p = 0,001).

El bloqueo de la respuesta secretora a la forscolina se puede deber a un efecto distal o proximal a la síntesis de AMPc. Por ello, procedimos a la adición de ácido aristo-

lórico a los 30 min de haber añadido forscolina. El efecto observado fue una disminución de la Isc con respecto a las muestras control. Al cabo de 20 min, el valor de la Isc fue 75,5 ± 3 μA·cm⁻² para las células tratadas con ácido aristolóquico, 200 μmol/l, mientras que el control se mantuvo en 111,1 ± 2,9 μA·cm⁻² (n = 4 para cada grupo; p < 0,05). Estos resultados nos revelan que el ácido aristolóquico actúa de modo distal a la generación de AMPc.

Posterior al tratamiento con forscolina, tras 50 min, se añadió carbacol (100 μmol/l) a las muestras postratadas con ácido aristolóquico. El pico de la Isc se encuentra inhibido con respecto al control (fig. 3). La Isc máxima fue de 118,6 ± 1,5 μA·cm⁻² para las muestras problema, frente a 206,7 ± 9 μA·cm⁻² para el control (n = 4; p < 0,001).

Tras observar los efectos en la línea celular nos planteamos correlacionarlos con el colon nativo. Procedimos al montaje de segmentos de colon intacto en las cámaras de difusión y a incubar las muestras con el inhibidor de la PLA₂ durante 180 min. Tras este período de incubación, las muestras tratadas con el ácido aristolóquico presentaron una disminución de la E₀ con respecto al control (fig. 4), aunque no estadísticamente significativo. El valor de E₀ = 4,9 ± 1,9 mV para las muestras control frente a 1,8 ± 0,6 mV para las muestras incubadas con ácido aristolóquico 300 mmol/l (n = 4; p = 0,1). Sin embargo, la secreción (Isc) basal disminuyó considerablemente con respecto a los tejidos controles (Isc basal = 73,6 ± 20,5 μA·cm⁻² para el control frente a 20,6 ± 5,2 μA·cm⁻² para las muestras problema; n = 4 para cada grupo; p = 0,046), como se expone en la figura 5.

El motivo del descenso de la Isc se puede deber a dos efectos diferentes: a) a una disminución de la secreción

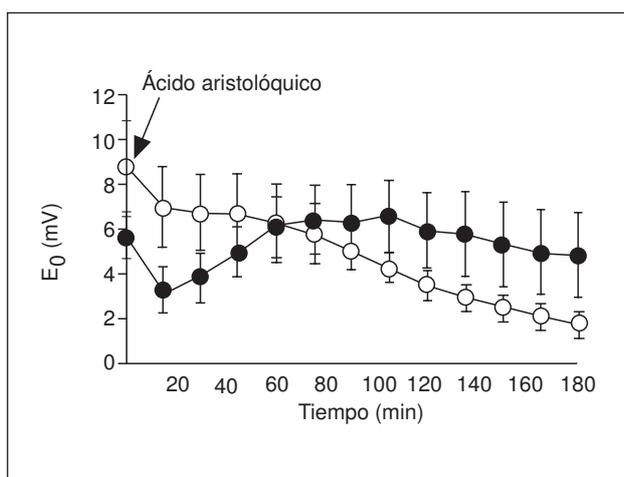


Fig. 4. La incubación del colon distal de la rata con ácido aristolóquico disminuye el potencial basal. La incubación con ácido aristolóquico (300 mmol/l) durante 180 min produce la disminución de la E₀ (puntos blancos; n = 4) con respecto al control (puntos negros; n = 4; p = 0,1).

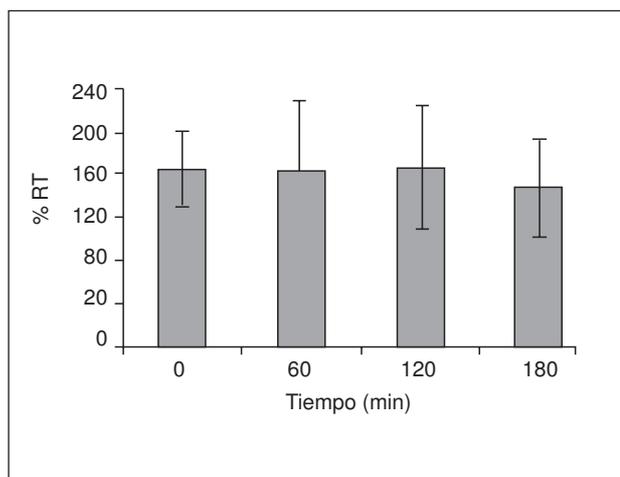


Fig. 6. El ácido aristolóquico no altera la función de barrera del epitelio intestinal de rata. La incubación durante 180 min con ácido aristolóquico a concentración de 300 mmol/l apical y basolateral (barras blancas; n = 4) no produjo un cambio en la RT con respecto al control (barras grises; n = 4; p > 0,05).

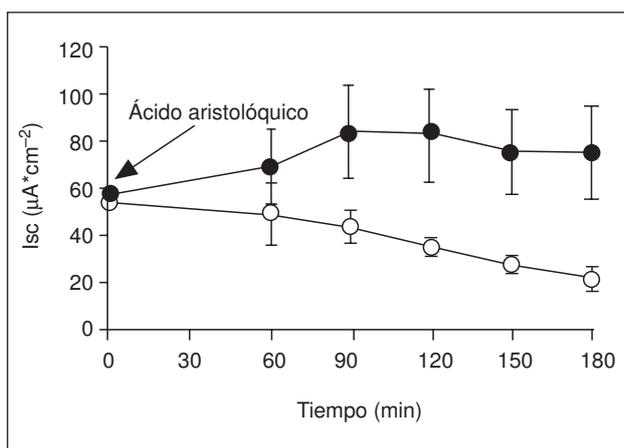


Fig. 5. La secreción basal del epitelio cólico de rata disminuye por efecto del ácido aristolóquico. La respuesta secretora del colon de rata se encuentra reducida por el inhibidor de la PLA₂ tras la incubación durante 180 min (círculos blancos; n = 4) con respecto a los tejidos control (círculos negros; n = 4; p = 0,046).

basal, y b) a un descenso de la resistencia transepitelial. Tras el período de incubación se observó que no existe una modificación de los valores de la RT con respecto al control (porcentaje de RT con respecto al control = $148,5 \pm 45,9 \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$; n = 4; p = 0,794), de lo que podemos deducir que la disminución del valor de Isc se corresponde con un descenso de la secreción basal (fig. 6). Para estudiar la respuesta secretora del epitelio intestinal utilizamos un activador de la cascada de los nucleótidos cíclicos, forskolina. Tras la incubación con ácido aristolóquico durante 3 h se añadió en la cámara apical forskolina (10 $\mu\text{mol/l}$). El valor de Isc máximo fue $28,3 \pm 7,5 \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$ para los tejidos expuestos a ácido aristolóquico 300 $\mu\text{mol/l}$ frente a $189,7 \pm 56,1 \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$ de los contro-

les (n = 4 para cada grupo; p = 0,029), lo que supone una inhibición significativa de la secreción máxima (fig. 7).

DISCUSIÓN

Los fosfolípidos, constituyentes mayoritarios de las membranas biológicas, están compuestos por ácidos grasos, entre los cuales se encuentra el AA. La liberación de AA desde la membrana epitelial es inducida por agonistas que activan la enzima citosólica cPLA₂, a través de un aumento de la concentración de Ca²⁺ intracelular⁹. La enzima activada hidroliza los fosfolípidos de membrana que contienen AA en su composición. El grupo de Devor et al^{7,8} demostró la importancia del AA como segundo mensajero en la modulación de la secreción electrogénica de Cl⁻.

En nuestro estudio hemos comprobado que la incubación durante 20 min con AA exógeno produjo cambios en la respuesta secretora de la línea celular T₈₄ a la estimulación con un agonista de la vía del Ca²⁺ como es el carbacol. El efecto generado por el carbacol sobre la secreción electrogénica fue potenciado por el AA. Los resultados obtenidos confirman los encontrados por el grupo de Barrett et al⁵, ya que el AA aumentó sinérgicamente el efecto secretor generado por el carbacol.

El ácido aristolóquico es un inhibidor dependiente de la dosis de la PLA₂. Éste tiene la capacidad de bloquear la movilización de AA y la síntesis de eicosanoides en neutrófilos humanos intactos¹⁰. El ácido aristolóquico puede actuar como agente antiinflamatorio debido al efecto que ejerce sobre células que participan en la respuesta inflamatoria¹⁰.

Conociendo la capacidad que tiene el AA de modular la respuesta secretora, nos propusimos investigar cuál es el efecto que ejerce el ácido aristolóquico sobre la secreción electrogénica de Cl⁻.

En el colon de la rata, la incubación con ácido aristolóquico causó un descenso de la Isc basal. Este efecto po-

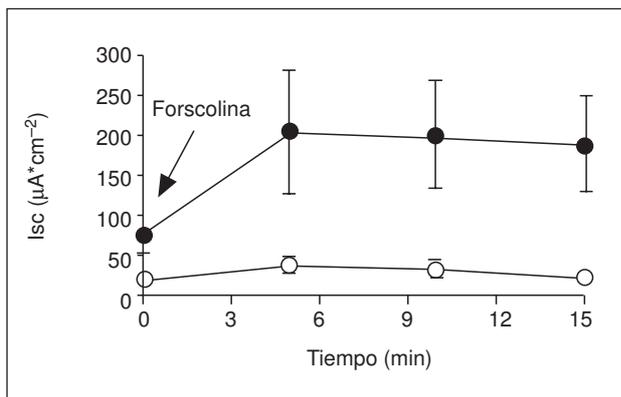


Fig. 7. El ácido aristolóquico bloquea la respuesta secretora inducida por un agonista de la vía del AMPc en la rata. Tras la incubación con ácido aristolóquico, 300 mmol/l, se estimula la secreción electrogénica con forscolina, 10 mmol/l, apical. La respuesta secretora de las muestras tratadas con el inhibidor de la PLA₂ (puntos blancos; n = 4) está inhibida con respecto a las muestras control (puntos negros; n = 4; p = 0,029).

dría deberse a una disminución de la secreción o a un aumento de la RT, pero durante el período de incubación con el ácido aristolóquico la RT no sufrió cambios significativos con respecto al control. Por ello, nuestros resultados sugieren que la PLA₂ no participa de manera fundamental en el control de las uniones intercelulares, necesarias para el mantenimiento de la barrera física que existe en el epitelio intestinal⁴. Por tanto, podemos concluir que la disminución de la Isc basal inducida por el ácido aristolóquico se correlaciona con una modificación de la secreción.

Tanto en la línea celular T₈₄ como en el colon distal de la rata, el ácido aristolóquico provocó el mismo efecto, la inhibición de la respuesta secretora tras la utilización de un agonista de la cascada del AMPc, la forscolina. La inhibición de la secreción, en monocapas celulares, sucede con posterioridad a la generación de AMPc; por ello, el efecto producido por el ácido aristolóquico no es debido a la inhibición de la adenilato ciclasa. Igualmente, las células T₈₄ incubadas con ácido aristolóquico presentaron una menor elevación de la Isc estimulada por un agonista del Ca²⁺, el carbachol. Podemos concluir que la inhibición de la PLA₂ se traduce en una falta de respuesta secretora estimulada tanto por agonistas del AMPc como del Ca²⁺.

Es sabido que la apertura de los canales de K⁺ genera una hiperpolarización de las membranas apical y basolateral, produciéndose así la liberación de Cl⁻ a través de los canales localizados en la membrana apical¹¹. Ordway et al¹² demostraron que el AA activa canales de K⁺ en células de músculo liso en ausencia de Ca²⁺ u otros nucleótidos.

Kim et al¹³ propusieron la existencia de dos tipos diferentes de canales de K⁺, en células atriales de rata, que son activados por AA o por fosfatidilcolina. Los ácidos grasos actuarían como segundos mensajeros produciendo la estimulación de los canales de K⁺. Por todo ello, podemos hipotetizar que el AA podría ejercer un efecto sobre los canales basolaterales de K⁺, implicados en la regulación de la respuesta secretora intestinal, y así producir la activación de los mismos.

En resumen, el AA modula la respuesta secretora intestinal. El ácido aristolóquico causa un bloqueo de la corriente iónica estimulada tanto por un agonista de la vía del Ca²⁺ como por un agonista de los nucleótidos cíclicos en la línea celular T₈₄ y un descenso de la secreción basal y estimulada por forscolina en el colon distal de la rata sin alterar la RT. Nuestros resultados sugieren que la PLA₂ participa en la regulación de la secreción electrogénica de Cl⁻ sin alterar la función de barrera epitelial, lo que supone una potencial diana terapéutica para el control de la hipersecreción intestinal.

BIBLIOGRAFÍA

- Lacy ER. Epithelial restitution in the gastrointestinal tract. *J Clin Gastroenterol* 1998;10(Suppl 1):72-7.
- Mayol J, Fernández-Represa JA. Chloride secretion in the intestinal epithelial: channels, ions and intracellular signaling. *Rev Esp Enferm Dig* 1998;90:714-21.
- Barret KE, Keely SJ. Chloride secretion by the intestinal epithelium: molecular basis and regulatory aspects. *Ann Rev Physiol* 2000;62:535-72.
- Bradley MD, Sanjay KN. Molecular structure and assembly of the tight junction. *Am J Physiol* 1998;274:F1-F9.
- Barret KE, Bigby TD. Involvement of arachidonic acid in the chloride secretory response of intestinal epithelial cells. *Am J Physiol* 1993;264:C446-C52.
- Barrett KE. Effect of the diglyceride lipase inhibitor, RG80267, on the epithelial chloride secretion induced by various agents. *Cell Signal* 1995;7:225-33.
- Devor DC, Frizzell RA. Modulation of K⁺ channel by arachidonic acid in T₈₄ cells. I. Inhibition of the Ca²⁺-dependent K⁺ channel. *Am J Physiol* 1998;274:C138-C48.
- Devor DC, Frizzell RA. Modulation of K⁺ channel by arachidonic acid in T₈₄ cells. II. Activation of a Ca²⁺-independent K⁺ channel. *Am J Physiol* 1998;274:C149-C60.
- Gijon MA, Leslie CC. Regulation of arachidonic acid release and cytosolic phospholipase A₂ activation. *J Leukoc Biol* 1999;65:330-6.
- Rosenthal MD, Vishwanath BS, Franson RC. Effects of aristo- lochic acid on phospholipase A₂ activity and arachidonate metabolism of human neutrophils. *Biochim Biophys Acta* 1989;1001:1-8.
- Dharmasathaforn K, Pandol SJ. Mechanism of chloride secretion induced by carbachol in a colonic epithelial cell line. *J Clin Invest* 1986;77:348-54.
- Ordway RW, Walsh JV, Singer JJ. Arachidonic acid and other fatty acids directly activate potassium channels in smooth muscle cells. *Science* 1989;244:1176-9.
- Kim D, Clapham DE. Potassium channels in cardiac cells activated by arachidonic acid and phospholipids. *Science* 1989; 244:1174-6.