

DOI:10.3724/SP.J.1008.2009.00044

山莨菪碱对正常及自发性高血压大鼠离体血管舒张功能的影响

王 烈¹, 郭 敬¹, 黎成金^{1*}, 陈 红², 钟梅芳³

1. 南京军区福州总医院南京军区普通外科研究所, 福州 350025

2. 上海交通大学医学院药理学教研室, 上海 200025

3. 上海医药高等专科学校基础部, 上海 201318

[摘要] **目的:**观察山莨菪碱对离体正常(Wistar)大鼠及自发性高血压大鼠(spontaneously hypertensive rats, SHR)腹主动脉舒张作用的影响,并探讨其可能的作用机制。**方法:**采用大鼠离体腹主动脉环(长度为4~5 mm的血管)灌流技术,观察山莨菪碱对正常大鼠及SHR血管舒张功能的影响,并观察苯肾上腺素(phenylephrine, PE)、左旋硝基精氨酸甲酯(L-NAME)预处理对山莨菪碱作用的影响。**结果:**山莨菪碱对PE预收缩的正常大鼠内皮完整和去内皮血管的舒张作用差异显著($P < 0.05$);对PE预收缩的SHR内皮完整及去内皮血管环,山莨菪碱均具有显著舒张作用,呈剂量-效应关系,最大舒张率分别为 $(78.6 \pm 6.9)\%$ 和 $(65.76 \pm 11.39)\%$,无统计学差异。用NOS抑制剂L-NAME预处理正常大鼠内皮完整的血管环,可显著地抑制山莨菪碱诱导的舒张作用($P < 0.05$)。山莨菪碱对SHR血管的舒张作用能够被L-NAME抑制,抑制前后最大舒张率分别为61%和11.9%($P < 0.01$)。**结论:**山莨菪碱可能通过内皮和平滑肌2条途径发挥舒张大鼠离体腹主动脉的作用。

[关键词] 山莨菪碱;正常大鼠;自发性高血压大鼠;血管舒张;主动脉环

[中图分类号] R 544.1

[文献标志码] A

[文章编号] 0258-879X(2009)01-0044-04

Influence of anisodamine on *in vitro* vascular relaxation function in normal and spontaneous hypertension rats

WANG Lie¹, GUO Jing¹, LI Cheng-jin^{1*}, CHEN Hong², ZHONG Mei-fang³

1. Research Institute of General Surgery, General Hospital, PLA Fuzhou Military Area Command, Fuzhou 350025, China

2. Department of Pharmacology, College of Medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200025

3. Department of Basic Medical Sciences, Shanghai Medical College, Shanghai 201318

[ABSTRACT] **Objective:** To observe the influence of anisodamine on relaxation function of isolated Wistar and spontaneously hypertensive rat (SHR) aortic rings, and to investigate the underlying mechanism. **Methods:** The SHR aorta rings were irrigated with anisodamine and the effect of anisodamine on relaxation of isolated aortic rings was observed in normal and spontaneous hypertension rats before and after pretreatment with phenylephrine (PE) or L-nitroarginine methylester (L-NAME). **Results:** The accumulated concentration of anisodamine showed significantly different relaxing effects on PE-precontracted aortic ring with or without endothelium ($P < 0.05$) in normal rats. Anisodamine showed obvious relaxing effect on PE-precontracted aortic ring with and without endothelium, and the relaxing effect was in a dose-dependent manner, with the maximal relaxation being $(78.6 \pm 6.9)\%$ and $(65.76 \pm 11.39)\%$, respectively ($P > 0.05$). Pretreatment with non-selective NOS inhibitor L-NAME significantly inhibited the relaxing effect of anisodamine on the aortic ring with endothelium ($P < 0.05$). L-NAME partially blocked the relaxing effect of anisodamine on SHR rats, with the maximal relaxation being 61% and 11.9% ($P < 0.01$) before and after blocking, respectively. **Conclusion:** Anisodamine can enlarge isolated aorta of rats through endothelial and smooth muscle.

[KEY WORDS] anisodamine; Wistar; spontaneously hypertensive rat; vascular relaxation; aortic rings

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2009, 30(1):44-47]

山莨菪碱临床上常用于治疗感染中毒性休克, 调节微循环有关,但其确切的扩血管机制仍不清楚。内脏平滑肌绞痛等^[1-2]。这些作用与其扩张小血管、既往研究^[1]认为山莨菪碱的扩血管作用与其拮抗血

[收稿日期] 2008-07-10 **[接受日期]** 2008-10-21

[基金项目] 福建省自然科学基金(C0510032). Supported by Natural Science Foundation of Fujian Province(C0510032).

[作者简介] 王 烈, 博士, 主任医师. E-mail: fzptwk@21cn.com

* 通讯作者(Corresponding author). Tel: 0591-24937077, E-mail: licheng_jin@yahoo.com.cn

管平滑肌 M 受体或 α 受体相关; 亦有研究^[3] 发现山莨菪碱的扩血管作用与其钙拮抗作用相关。国内相关研究^[4] 发现, 山莨菪碱能够改善失血性休克时肠黏膜微循环; 相关动物实验^[5] 发现, 在猫肠系膜动脉、肾动脉和股动脉, 山莨菪碱能够浓度依赖性地抑制乙酰胆碱 (ACh) 诱导的内皮依赖性的血管舒张反应, 且这种效应具有组织特异性。王烈等^[6-7] 发现, 山莨菪碱具有内皮及平滑肌依赖性的血管舒张作用, 其慢性用药可以改善自发性高血压大鼠 (spontaneously hypertensive rats, SHR) 内皮及平滑肌功能, 使血管形态结构发生良性改变。本研究进一步观察山莨菪碱对正常大鼠及 SHR 血管舒张功能的影响, 并探讨山莨菪碱扩血管作用的可能机制, 为临床更好地应用山莨菪碱预防和治疗相关疾病提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 主要材料及试剂 正常 Wistar 大鼠及 SHR 各 30 只, 体质量 300~350 g (由中国科学院上海实验动物中心提供), 温暖通风条件下普通饲料喂养。盐酸消旋山莨菪碱注射液 (*L*-nitroarginine methyl-ester, racanisodamine hydrochloride injection, C₁₇H₂₃NO₄·HCl) 购自上海第一生化药业有限公司。苯肾上腺素 (phenylephrine, PE)、乙酰胆碱 (acetylcholine, ACh)、左旋硝基精氨酸甲酯 (*L*-NAME) 均购自美国 Sigma 公司。MAP2000 生物信号采集系统购自上海奥尔科特生物科技有限公司; 恒温水浴装置购自西班牙 DebioMed 公司; 压力换能器 (JH-2) 购自上海嘉龙教学仪器厂。

1.2 大鼠离体正常及去内皮血管的获取 大鼠腹腔注射 3% 戊巴比妥钠 50 mg·kg⁻¹ 麻醉, 剪开腹腔, 迅速游离腹主动脉, 置于 Krebs-Henseleit solution (K-H 液) 中漂洗。K-H 液组成 (mmol·L⁻¹): NaCl 118.3, KCl 4.7, KH₂PO₄ 1.2, MgSO₄ 1.2, NaHCO₃ 25.0, 葡萄糖 5.5, CaCl₂ 2.5, EDTA-Na₂ 5.0, pH 7.4。小心剪除血管周围的脂肪和结缔组织, 将主动脉剪成长度为 4~5 mm 的血管环。将血管环悬挂于预置 10 ml K-H 液的浴槽内, 通过张力换能器连接 MAP2000 生物信号采集系统。调节其基础张力至 2.0 g, 并在 37℃ 下稳定 60 min, 期间每 15 min 换营养液 1 次。在去内皮实验中, 用聚乙烯塑料管 (型号 PE50) 轻轻穿入血管, 在纱布上旋转数次使血管机械去除内皮, 然后采用上述方法将血管

环悬挂于浴槽内进行实验。

1.3 山莨菪碱对大鼠离体血管舒张作用的观察

1.3.1 单剂量山莨菪碱对血管环张力的影响 用 60 mmol/L KCl 等渗溶液刺激血管收缩, 冲洗 2~3 次; 待血管重新稳定后, 以 60 mmol/L KCl 再次刺激血管诱发血管的最大收缩, 约持续 15~20 min 后冲洗 2~3 次。待血管环重新稳定后, 用 10⁻⁶ mol/L PE 收缩内皮完整及去内皮血管环达峰值, 分别观察单剂量山莨菪碱 (10⁻⁴ mol/L) 对血管环张力的影响。

1.3.2 山莨菪碱对苯肾上腺素 (PE) 预处理血管环张力的影响 用 60 mmol/L KCl 等渗溶液刺激血管收缩, 冲洗 2~3 次; 待血管重新稳定后, 以 60 mmol/L KCl 再次刺激血管诱发血管的最大收缩, 约持续 15~20 min 后冲洗 2~3 次。待血管环重新稳定后, 用 10⁻⁶ mol/L PE 收缩血管环达峰值, 观察累积浓度的山莨菪碱对血管环的作用, 每 5 min 加入山莨菪碱, 使营养液中山莨菪碱浓度分别达 3×10⁻⁶、10⁻⁵、3×10⁻⁵、10⁻⁴、3×10⁻⁴ mol/L, 记录张力变化; 对照组以溶剂 (蒸馏水) 代替山莨菪碱等容积加入。以 10⁻⁶ mol/L PE 诱发最大收缩幅度为 100%, 以加入药物后的血管张力幅度与 PE 诱发最大收缩幅度之间的比率反映血管张力的变化。

1.3.3 山莨菪碱对 NOS 拮抗剂预处理血管环张力的影响 以非选择性 NOS 抑制剂——*L*-NAME (10⁻⁴ mol/L) 预处理血管环 30 min, 10⁻⁶ mol/L PE 预收缩血管, 观察单剂量 (10⁻⁴ mol/L) 的山莨菪碱对去内皮血管环的舒张作用。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 13.0 软件作统计学处理, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 *t* 检验和单因素方差分析, 以 *P* < 0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 单剂量山莨菪碱对血管的舒张作用 结果 (图 1A) 表明: 山莨菪碱对正常大鼠内皮完整和去内皮血管的最大舒张作用有统计学差异, 对内皮完整血管的舒张作用显著强于去内皮组 (*P* < 0.05)。

2.2 累积浓度山莨菪碱对 PE 预处理血管的舒张作用 对 PE 预收缩的内皮完整及去内皮 SHR 血管环, 山莨菪碱均具有显著舒张作用, 呈剂量-效应关系, 最大舒张率分别为 (78.6 ± 6.9)% 和 (65.76 ± 11.39)%, 无统计学差异 (图 1B)。

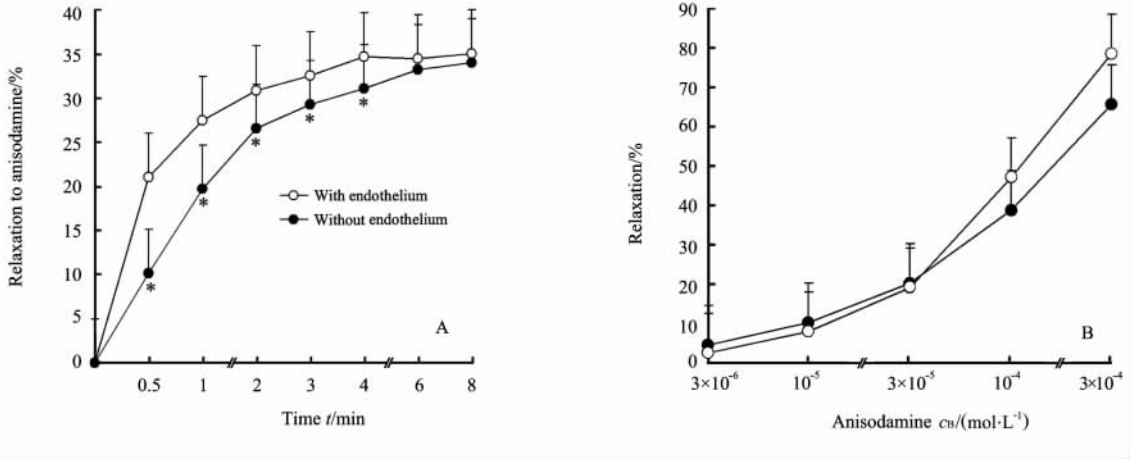


图 1 山莨菪碱对正常大鼠和 SHR 血管的作用

Fig 1 Influence of anisodamine on vascular function of Wistar and SHR rats

A: The affect of single dose anisodamin (10^{-4} mol/L) on aortic ring with or without endothelium of Wistar. * $P < 0.05$ vs with endothelium; $n = 8, \bar{x} \pm s$. B: Accumulated concentration of anisodamine (3×10^{-6} - 3×10^{-4} mol/L) on relaxing effect on PE (10^{-6} mol/L)-precontracted aortic ring with or without endothelium of SHR; $n = 4-5, \bar{x} \pm s$

2.3 单剂量山莨菪碱对 NOS 拮抗剂预处理血管的舒张作用 用 NOS 抑制剂 L-NAME 预处理正常大鼠内皮完整的血管环,可显著地抑制山莨菪碱诱导的舒张作用($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$,图 2A)。山莨菪

碱对 SHR 血管的舒张作用能够被非选择性 NOS 抑制剂 L-NAME 抑制,抑制前后的最大舒张率分别为 61% 和 11.9% ($P < 0.01$,图 2B)。

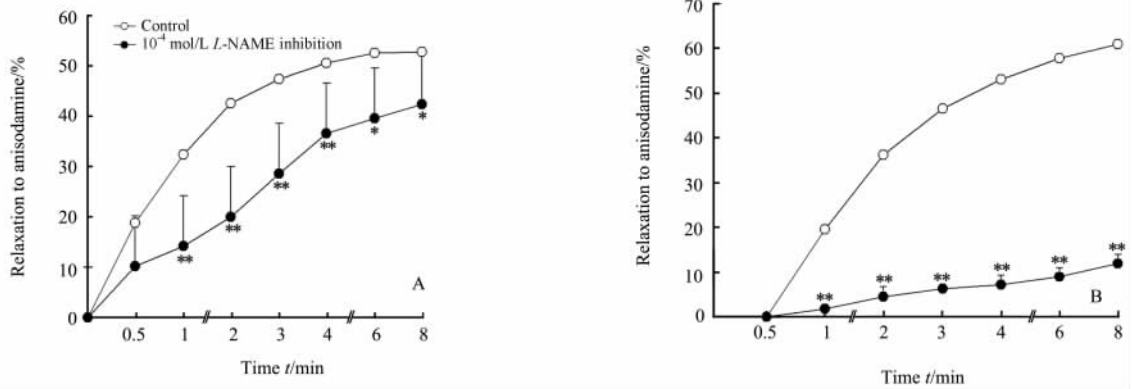


图 2 10^{-4} mol/L L-NAME 对山莨菪碱扩张血管作用的影响

Fig 2 Influence of L-NAME (10^{-4} mol/L) on vascular relaxation effect of anisodamine

A; Wistar; B; SHR. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control group. $n = 8, \bar{x} \pm s$

3 讨论

刘书勤等^[8-9]研究证实山莨菪碱能够舒张血管;进一步应用离体兔主动脉环描记法,发现山莨菪碱可抑制受体介导的家兔主动脉平滑肌收缩,其作用不依赖于内皮。刘书勤等^[9]的研究还显示,山莨菪碱预处理不改变高钾引起的兔主动脉环收缩,且其

抑制作用不受去除内皮影响。然而,去除血管内皮则使山莨菪碱抑制 NA 和 5-HT 收缩大鼠主动脉环作用明显减弱。这提示山莨菪碱扩血管作用中血管平滑肌是主要靶细胞,而血管内皮的作用可能因动物种属而异。

ACh 主要通过作用于内皮扩张血管。内皮细胞上的 ACh 靶点激活后可释放 EDRF、 PGI_2 、内皮

源性超极化因子(endothelium derived hyperpolarizing factor, EDHF)等。上述因子分别作用于血管平滑肌介导的舒张反应^[10]。

ACh可致内皮完整兔离体胸主动脉舒张,这一现象广泛存在于哺乳动物的大动脉及微动脉系统^[11]。本研究发现累积剂量山莨菪碱可显著扩张PE预收缩的正常大鼠腹主动脉环,对去除内皮后正常大鼠的血管舒张作用显著减弱,提示山莨菪碱舒张大血管可能主要依赖于平滑肌,部分依赖于内皮。NOS可催化L-精氨酸转变为NO,通过弥散或载体转运至血管平滑肌,激活胞内鸟苷酸环化酶合成cGMP升高而扩张血管。在本实验中,NOS阻断剂L-NAME可显著减弱山莨菪碱的对正常及自发性高血压大鼠血管的舒张作用,说明其舒张大血管作用与NO有关,去内皮前后差异显著,提示其舒张作用与促进内皮细胞释放NO有关,即与内皮有密切关系。

本研究发现,山莨菪碱对去内皮正常大鼠及内皮受损的SHR大鼠血管仍具有一定舒张作用,NOS阻断剂L-NAME能部分抑制山莨菪碱对正常及自发性高血压大鼠的扩血管作用,提示山莨菪碱舒张大血管可能通过内皮和平滑肌2条途径。

[参考文献]

[1] Guo H Y, Lorenz R R, Vanhoutte P M. Anisodamine at higher

concentrations in inhibiting alpha-adrenergic responses in isolated canine blood vessels[J]. Chin Med J (Engl), 1993, 106: 452-457.

- [2] Poupko J M, Baskin S I, Moore E. The pharmacological properties of anisodamine[J]. J Appl Toxicol, 2007, 27: 116-121.
- [3] 刘广余, 吴冬梅, 饶曼人. 山莨菪碱对离体血管和心房细胞内、外钙影响的研究[J]. 中国药理学通报, 1991, 7: 360-362.
- [4] 林世清, 冯霞, 杨芑, 黑子清, 黄文起. 山莨菪碱对失血性休克兔小肠循环血量及血液酸碱度的影响[J]. 中华实验外科杂志, 2007, 24: 28-30.
- [5] 王莉莉, 路新强, 汪海, 肖文彬. 山莨菪碱对乙酰胆碱诱导的猫离体动脉内皮依赖性舒张反应的影响[J]. 中国药理与毒理学杂志, 2003, 17: 369.
- [6] 王烈, 郭敬, 陈红, 钟梅芳, 黎成金. 山莨菪碱对离体大鼠腹主动脉舒缩张力的作用及其机制[J]. 中华实验外科杂志, 2008, 25: 443-445.
- [7] 王烈, 郭敬, 陈红, 黎成金. 山莨菪碱慢性给药对自发性高血压大鼠主动脉功能及形态的影响[J]. 国际外科学杂志, 2008, 35: 510-512.
- [8] 刘书勤, 臧伟进, 李增利, 孙强, 于晓江, 罗宏丽, 等. 电压激活的钾通道阻断剂抑制山莨菪碱松弛去甲肾上腺素预收缩的兔主动脉平滑肌[J]. 生理学报, 2005, 57: 21-26.
- [9] 刘书勤, 臧伟进, 李增利, 孙强, 于晓江. 阿托品和山莨菪碱抑制兔胸主动脉收缩的作用机制[J]. 西安交通大学学报: 医学版, 2005, 26: 16-18.
- [10] Félétou M, Vanhoutte P M. The alternative: EDHF[J]. J Mol Cell Cardiol, 1999, 31: 15-22.
- [11] Eglen R M, Hegde S S, Watson N. Muscarinic receptor subtypes and smooth muscle function[J]. Pharmacol Rev, 1996, 48: 531-565.

[本文编辑] 贾泽军

· 消 息 ·

我校获批5个上海市公共卫生重点学科

最近,我校获批5个上海市公共卫生重点学科,其中卫生毒理学、放射卫生与放射病防治学2个学科为我校牵头建设学科,流行病学、环境卫生学、急诊医学3个学科为我校参与建设学科。以上5个学科共获建设经费475万元。

上海市公共卫生重点学科建设项目的总体目标是在公共卫生领域,建设一批处于全国先进水平的重点学科和辐射全市的科研技术平台,形成有效应对传染病与其他公共卫生问题的规范措施和手段,为更好地保障公共安全、改善人群健康及促进经济社会发展提供有力支撑。主要建设内容包括建设一流的科研平台,为高水平的科学研究提供良好的支撑条件;开展重点课题研究,探索并形成有效应对公共卫生重点、难点问题的新技术、新方法和新流程;建设优秀的公共卫生人才队伍,包括学科带头人、学科骨干的培养;加强国内外的学术交流与合作,开展或参与国际多中心合作研究。

我校获批5个上海市公共卫生重点学科,这必将加快我校公共卫生领域的发展,加强我校的公共卫生基础设施硬件建设及学科和人才队伍建设,使我校在该领域形成一定的特色优势。