

## 山莨菪碱舒张微血管作用与血管内皮的关系

鲍颖霞<sup>1</sup>, 李庆平<sup>1\*</sup>, 汪海<sup>2</sup>

(1. 南京医科大学药理学系, 江苏 南京 210029; 2. 军事医学科学院毒物药物研究所, 北京 100850)

**摘要:** 目的 研究山莨菪碱舒张微血管作用与内皮细胞的关系及其可能的作用机制。方法 以去甲肾上腺素预收缩大鼠肠系膜血管床后给予山莨菪碱, 观察去除血管内皮、给予 NO 合酶抑制剂左旋硝基精氨酸甲酯 (*L*-NAME)、环氧酶抑制剂吲哚美辛和 ATP 敏感性钾通道 ( $K_{ATP}$ ) 开放抑制剂格列本脲后对血管张力变化的影响。结果 山莨菪碱对肠系膜血管床的舒张作用在去除血管内皮后, 以  $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的吲哚美辛、 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 *L*-NAME 或  $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的格列本脲预处理后均显著减弱。结论 山莨菪碱的舒张微血管作用有内皮依赖性, 且与内皮源性舒张因子、前列环素和  $K_{ATP}$  开放均有关。

**关键词:** 山莨菪碱; 微血管; 内皮, 血管; 血管舒张

中图分类号: R972

文献标识码: A

文章编号: 1000-3002(2003)01-0011-04

山莨菪碱 (anisodamine) 是我国首先从茄科植物唐古特莨菪提取出的一种生物碱, 以往多用于抢救有机磷农药中毒、治疗各型休克等。近年来不断发现其新的临床应用, 如治疗消化性溃疡、急性高原肺水肿、偏头痛、冻疮、结核性渗出性胸膜炎、糖尿病、小儿头痛性癫痫、急性细菌性痢疾等。这些应用均与其扩张小血管、调节微循环有关。山莨菪碱的扩血管作用机制一直不清楚, 既往研究认为与其拮抗血管平滑肌 M 受体或  $\alpha$  受体<sup>[1]</sup> 相关; 亦有研究发现山莨菪碱有钙拮抗作用<sup>[2]</sup>。虽然论点诸多, 但山莨菪碱扩血管作用的确切机制尚未获公认, 仍有待

研究。本实验观察山莨菪碱舒张大鼠肠系膜微血管床的作用, 从血管内皮及平滑肌角度分别探讨其舒张血管的作用及与内皮源性舒张因子 (endothelium derived relaxing factor, EDRF)、前列环素 ( $\text{PGI}_2$ ) 及 ATP 敏感性钾通道 (ATP-dependent  $\text{K}^+$  channels,  $K_{ATP}$ ) 的关系。

### 1 材料和方法

#### 1.1 动物与药物

Sprague-Dawley (SD) 大鼠, 体重 200 ~ 280 g, 雌雄各半, 由南京医科大学实验动物中心提供。去甲肾上腺素 (norepinephrine, NE, 上海禾丰制药有限公司), 山莨菪碱 (国营张家港制药厂), 皂苷 (saponin, Serva 公司), 吲哚美辛 (indomethacin, Sigma 公司), 左旋硝基精氨酸甲酯 (*N*<sup>G</sup>-nitro-*L*-arginine methyl ester, *L*-NAME, Sigma 公司), 格列本脲 (glibenclamide, Sigma 公司)。

#### 1.2 实验方法

参照 Boric 等<sup>[3]</sup> 方法并略加改进。大鼠戊巴比妥钠 ( $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) ip 麻醉, 腹正中切口, 分离腹主动脉, 于肠系膜前动脉插管, 立即向肠系膜血管床恒速灌注 Krebs 液 ( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ : NaCl 118, KCl 4.8,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1.2,  $\text{MgSO}_4$  1.2,  $\text{CaCl}_2$  2.5,  $\text{NaHCO}_3$  25, 葡萄糖 11.5 及 EDTA- $\text{Na}_2$  0.107)。将肠系膜沿肠管剪下, 悬吊于 37.5℃ 恒温浴槽内, 继续以 Krebs 液恒速灌注 1.5 h, 灌注速度为  $4 \sim 5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ , 并不断通以 95%  $\text{O}_2$  和 5%  $\text{CO}_2$ 。将 T 形管连于动脉插管, 经压力换能器连于 RM-6200C 型四道生理记录仪 (成都仪器厂) 描记压力曲线。正常灌注压维持在 3.3 kPa, 在灌注速度一致的实验条件下, 所测灌注压的变化可反映肠系膜血管床的舒缩<sup>[4]</sup>。山莨菪碱对照组和其他 3 组 (分别以吲哚美辛、*L*-NAME、格列本脲孵育 1 h) 以  $3 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  NE 收缩血管床, 将达到的最大收缩计为 100%。记录  $1, 10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  山莨菪碱使血管床舒张的百分率, 以此作为内皮完整组; 再以 50 mg·

收稿日期: 2002-07-01 接受日期: 2002-10-17

基金项目: 国家 973 计划项目 (G1998051112)

作者简介: 鲍颖霞 (1975 -), 女, 江苏省泰兴人, 助教, 理学硕士, 主要从事心血管药理学研究; 李庆平 (1954 -), 女, 安徽合肥人, 副教授, 理学博士, 主要从事心血管药理学研究。

\* 联系作者 Tel: (025) 6662883,

E-mail: qpli@njmu.edu.cn

$L^{-1}$ 的皂苷灌流 10 min 去除血管内皮(以  $1 \mu\text{mol} \cdot L^{-1}$  乙酰胆碱(ACh)检验 2 次证实去内皮完全),记录山莨菪碱舒张 NE 预收缩血管床的百分率作为去内皮组。计算在正常情况下和用 *L*-NAME、吲哚美辛和格列本脲处理后山莨菪碱引起去内皮前后 NE 预收缩血管床的舒张百分率。

### 1.3 实验分组

分为 4 大组,分别为山莨菪碱对照组、山莨菪碱 + 吲哚美辛组、山莨菪碱 + *L*-NAME 组和山莨菪碱 + 格列本脲组。每组依山莨菪碱浓度(1 和  $10 \mu\text{mol} \cdot L^{-1}$ )再分为 2 小组,每组 6 只(每只动物仅测试 1 组药品)。

### 1.4 统计学分析

所有数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示,给药组与对照组及去内皮前后山莨菪碱所致舒张率的比较均采用 *t* 检验。

## 2 结果

### 2.1 山莨菪碱舒张微血管作用与内皮的关系

在内皮完整时,1 和  $10 \mu\text{mol} \cdot L^{-1}$  山莨菪碱引起的 NE 预收缩肠系膜血管床平均舒张率分别为  $(48 \pm 9)\%$  和  $(92 \pm 4)\%$ ,去内皮后分别降为  $(35 \pm 7)\%$  和  $(71 \pm 14)\%$ (图 1)。

### 2.2 吲哚美辛对山莨菪碱微血管舒张作用的影响

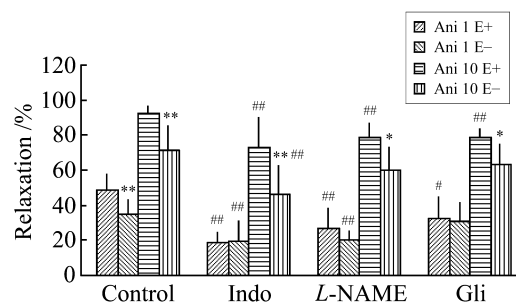
以  $1 \mu\text{mol} \cdot L^{-1}$  吲哚美辛孵育 60 min 后,1 和  $10 \mu\text{mol} \cdot L^{-1}$  山莨菪碱引起的 NE 预收缩内皮完整血管床舒张率分别为  $(19 \pm 6)\%$  和  $(73 \pm 17)\%$ ,同样条件使去内皮血管床舒张率分别为  $(19 \pm 12)\%$  和  $(46 \pm 16)\%$ 。在吲哚美辛存在条件下,1 和  $10 \mu\text{mol} \cdot L^{-1}$  山莨菪碱致内皮完整和去内皮血管床舒张率均低于对照组。去内皮后  $10 \mu\text{mol} \cdot L^{-1}$  山莨菪碱所致舒张率低于去内皮前(图 1)。

### 2.3 *L*-NAME 对山莨菪碱微血管舒张作用的影响

以  $100 \mu\text{mol} \cdot L^{-1}$  *L*-NAME 孵育 60 min 后,1 和  $10 \mu\text{mol} \cdot L^{-1}$  山莨菪碱引起的 NE 预收缩血管床舒张率分别为  $(26 \pm 12)\%$  和  $(78 \pm 9)\%$ ,去内皮后分别为  $(20 \pm 5)\%$  和  $(60 \pm 13)\%$ 。在 *L*-NAME 存在条件下,山莨菪碱致内皮完整血管床舒张率低于对照组。去内皮后  $10 \mu\text{mol} \cdot L^{-1}$  山莨菪碱所致舒张率显著低于去内皮前(图 1)。

### 2.4 格列本脲对山莨菪碱微血管舒张作用的影响

以  $1 \mu\text{mol} \cdot L^{-1}$  格列本脲孵育 60 min 后,1 和  $10$



**Fig 1. Relaxation rate of norepinephrine precontracted mesenteric microvessels induced by anisodamine.** E + : endothelium intact; E - : endothelium denuded; Ani 1, and Ani 10: anisodamine 1 and  $10 \mu\text{mol} \cdot L^{-1}$ , respectively. Indomethacin(Indo)  $1 \mu\text{mol} \cdot L^{-1}$ , *N*<sup>G</sup>-nitro-*L*-arginine methyl ester (*L*-NAME)  $100 \mu\text{mol} \cdot L^{-1}$  and glibenclamide (Gli)  $1 \mu\text{mol} \cdot L^{-1}$  were pre-incubated for 1 h, respectively. The peak contraction induced by norepinephrine ( $3 \mu\text{mol} \cdot L^{-1}$ ) was taken as 100%.  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ . \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , compared with corresponding endothelium intact; #  $P < 0.05$ , ##  $P < 0.01$ , compared with corresponding control.

$\mu\text{mol} \cdot L^{-1}$  山莨菪碱引起的 NE 预收缩血管床平均舒张率分别为  $(32 \pm 13)\%$  和  $(79 \pm 5)\%$ ,去内皮后分别为  $(31 \pm 10)\%$  和  $(63 \pm 12)\%$ 。在格列本脲存在条件下,山莨菪碱致内皮完整血管床舒张率低于对照组。去内皮后  $10 \mu\text{mol} \cdot L^{-1}$  山莨菪碱所致舒张率低于去内皮前(图 1)。

## 3 讨论

继 Furchgott 发现 ACh 可致内皮完整兔离体胸主动脉舒张后,这一现象被证实广泛存在于哺乳动物的大动脉和微动脉系统<sup>[5]</sup>。这种存在于血管内皮细胞上可被 ACh 激活的靶点有研究认为是  $M_1$  受体<sup>[6]</sup>或  $M_3$  受体<sup>[7]</sup>,或一种有别于经典 M 受体的内皮细胞 ACh 作用靶标(endothelial target for acetylcholine, ETA)<sup>[8]</sup>。内皮细胞上的 ACh 靶点激活后可释放 EDRF、 $\text{PGI}_2$ 、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舒张反应<sup>[9]</sup>。其中 EDRF 即  $\text{NO}$ <sup>[10]</sup>主要作用于大血管,EDHF 主要作用于小血管,在个别血管,如狗基底动脉、大鼠肠系膜动脉等,有前列腺素类物质释放<sup>[11]</sup>。

本实验观察到在内皮完整时山莨菪碱显著舒张 NE 预收缩大鼠肠系膜血管床,且舒张作用在去内皮

后显著减弱,提示山莨菪碱舒张微血管作用有明显的内皮依赖性,其作用的分子靶点有可能是 ETA。山莨菪碱仍能引起 NE 预处理的去内皮血管床舒张,提示其舒张作用也与血管内皮下的平滑肌细胞有关。

血管内皮细胞可摄取循环血液中的花生四烯酸(AA),在环氧酶作用下生成前列腺素  $H_2$  ( $PGH_2$ ),再经前列腺素合成酶的作用生成  $PGI_2$ ,  $PGI_2$  通过激活腺苷酸环化酶使胞内 cAMP 含量升高而舒张血管。本实验通过环氧酶抑制剂吲哚美辛排除前列腺素类血管活性物质的影响,结果发现山莨菪碱的舒张血管作用显著减弱,提示山莨菪碱舒张微血管作用与前列腺素有关。去内皮前后与对照组相比均有显著差异,提示其舒张作用与内皮细胞和平滑肌细胞释放的前列腺素均有关。有研究证实山莨菪碱可以通过抑制培养家兔肺内小动脉平滑肌细胞产生血栓素  $A_2$  ( $TXA_2$ ) 而降低  $TXA_2/PGI_2$  比值<sup>[12]</sup>,提示山莨菪碱可能通过促进扩血管类前列腺素释放或减少缩血管类前列腺素释放而扩张微血管。

一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, 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使 cGMP 升高而扩张血管<sup>[13]</sup>。本实验用 NOS 抑制剂 L-NAME 抑制 NO 的产生,发现  $1, 10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  山莨菪碱舒张微血管作用显著减弱,说明其舒张微血管作用与 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。

有报道称在大动脉, ACh 靶点激活后通过释放 EDRF, 个别血管释放前列腺素类物质舒张血管,尚未发现大动脉的 ACh 靶点与  $K_{ATP}$  有关<sup>[11]</sup>。本实验使用  $K_{ATP}$  阻断剂格列本脲排除  $K_{ATP}$  的影响,结果发现山莨菪碱的舒张血管作用显著减弱,且去内皮前后差异显著,提示其舒张作用与内皮途径介导的  $K_{ATP}$  开放有关。表明微动脉的 ACh 靶点药理学特性不同于大动脉,具有相对的组织选择性。

本研究发现,山莨菪碱舒张微血管作用可通过内皮和平滑肌两种途径,且与  $PGI_2$ , EDRF 和  $K_{ATP}$  开放均有关。

#### 4 参考文献:

- [1] Guo HY, Lorenz RR, Vanhoutte PM. Anisodamine at higher concentrations in inhibiting alpha-adrenergic responses in isolated canine blood vessels [J]. *Chin Med J (Engl)*, 1993, **106**(6):452 - 457.
- [2] Liu GY, Wu DM, Rao MR. Studies on effects of anisodamine to intra- and extracellular  $\text{Ca}^{2+}$  in isolated rabbit aorta and Guinea pig atria [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 1991, **7**(5):360 - 362.
- [3] Boric MP, Figueroa XF, Donoso MV, Paredes A, Poblete I, Huidobro-Toro JP. Rise in endothelium-derived NO after stimulation of rat perivascular sympathetic mesenteric nerves [J]. *Am J Physiol*, 1999, **277**(3 Pt 2):H1027 - H1035.
- [4] Wang Y, Xu JG, Yu YQ, Wang HY, Jiang B, Li XY. Naloxone increases vascular responsiveness in chronic morphine treated rats and facilitates intracellular signaling in cultured vascular cell [J]. *Acta Pharmacol Sin* (中国药理学报), 2001, **22**(10):881 - 886.
- [5] Eglen RM, Hegde SS, Watson N. Muscarinic receptor subtypes and smooth muscle function [J]. *Pharmacol Rev*, 1996, **48**(4):531 - 565.
- [6] Komori K, Suzuki H. Heterogeneous distribution of muscarinic receptors in the rabbit saphenous artery [J]. *Br J Pharmacol*, 1987, **92**(3):657 - 664.
- [7] Hammarstrom AK, Parkinson HC, Coleman HA. Release of endothelium-derived hyperpolarizing factor(EDHF) by  $M_3$  receptor stimulation in guinea-pig coronary artery [J]. *Br J Pharmacol*, 1995, **115**(5):717 - 722.
- [8] Shan LM, Wang H. Pharmacological characteristics of the endothelial target for acetylcholine induced vascular relaxation [J]. *Life Sci*, 2002, **70**(11):1285 - 1298.
- [9] Feletou M, Vanhoutte PM. The alternative: EDHF [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 1999, **31**(1):15 - 22.
- [10] Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology [J]. *Pharmacol Rev*, 1991, **43**(2):109 - 142.
- [11] Chataigneau T, Feletou M, Huang PL, Fishman MC, Duhault J, Vanhoutte PM. Acetylcholine-induced relaxation in blood vessels from endothelial nitric oxide synthase knockout mice [J]. *Br J Pharmacol*, 1999, **126**(1):219 - 226.
- [12] Hu DH, Liu HJ, Ma CT. Effects of hypoxia and anisodamine on products of  $TXA_2$  and  $PGI_2$  in cultured intra-pulmonary arteriolar smooth muscle cells [J]. *Acta Physiol Sin* (生理学报), 1997, **49**(6):671 - 674.
- [13] Qi YM, Yang DJ, Duan X, Yang F, Li SR, Shen JM, et al. Endomorphins inhibit contractile responses of rat thoracic aorta rings induced by phenylephrine and angiotensin II in vitro [J]. *Acta Pharmacol Sin* (中国药理学报), 2002, **23**(1):40 - 44.

[1] Guo HY, Lorenz RR, Vanhoutte PM. Anisodamine at higher concentrations in inhibiting alpha-adrenergic responses in isolated canine blood vessels [J]. *Chin Med J (Engl)*,

## Relationship between vasodilation effect of anisodamine and endothelium of microvessels

BAO Ying-Xia<sup>1</sup>, LI Qing-Ping<sup>1</sup>, WANG Hai<sup>2</sup>

(1. Department of Pharmacology, Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China; 2. Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)

**Abstract:** **AIM** To study relationship between vasodilation effects of anisodamine and endothelium of microvessels. **METHODS** Norepinephrine precontracted mesenteric microvascular beds in rats were used to determine changes in tension of vessels in response to anisodamine after removal of endothelium, coincubated with *N*<sup>G</sup>-nitro-*L*-arginine methyl ester (*L*-NAME), nitric oxide synthase inhibitor, indomethacin, cyclooxygenase inhibitor and glibenclamide, ATP-dependent K<sup>+</sup> channels (K<sub>ATP</sub>) inhibitor. **RESULTS** Anisodamine produced a vasodilation effect on mesenteric vascular beds, which was remarkably inhibited after removal of endothelium ( $P < 0.01$ ). The vasodilation effect of aniso-

damine was also significantly inhibited after preconditioning with indomethacin ( $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), *L*-NAME ( $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) and glibenclamide ( $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). **CONCLUSION** Anisodamine induced an endothelium dependent vasodilation which related to endothelium derived relaxing factor, prostacyclin and opening of K<sub>ATP</sub>.

**Key words:** anisodamine; microvessel; endothelium, vascular; vasodilation

**Foundation item:** The project supported by National 973 Project(G1998051112)

(本文编辑 董立春)