

牛磺酸对大鼠胸主动脉的舒张作用及其机制的研究

薛文鑫, 张明升*, 牛龙刚, 刘 宇, 梁月琴

(山西医科大学药理学教研室, 山西 太原 030001)

摘要: 目的 研究牛磺酸舒血管作用的可能机制。方法 记录苯肾上腺素 (PE) 和 KCl 预收缩的离体大鼠主动脉环张力变化, 观察牛磺酸的舒血管作用及不同工具药对其作用的影响。结果 牛磺酸 ($20 \sim 80 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 对 PE ($1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 或 KCl ($60 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 预收缩的大鼠主动脉环均有非内皮依赖的、浓度依赖性的舒张作用。在内皮完整的血管环, 左旋硝基精氨酸甲酯 ($0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 对牛磺酸的舒血管作用无明显影响; β -丙氨酸 ($60 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 在 PE 预收缩的血管环增强牛磺酸的舒血管作用, 而在 KCl 预收缩的血管环则降低牛磺酸的舒血管作用; 在 KCl 预收缩基础上, 钾通道阻断剂格列本脲 ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 和四乙胺 ($10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 明显抑制牛磺酸的舒血管作用, 而 4-氨基吡啶 ($1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 和 BaCl_2 ($1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 无影响。结论 牛磺酸有浓度依赖性的血管舒张作用, 此作用不依赖血管内皮, 可能与其跨细胞膜转运有关, 可能有钙依赖性钾通道和 ATP 敏感性钾通道的参与。

关键词: 牛磺酸; 主动脉, 胸; 血管舒张; 丙氨酸; 硝基精氨酸; 钾通道阻滞剂

中图分类号: R972

文献标识码: A

文章编号: 1000-3002(2007)01-0023-05

牛磺酸 (taurine) 是体内含量最丰富的含磺氨基酸 β -氨基酸, 广泛存在于人及哺乳动物的组织细胞内, 对维持人及动物正常的生理功能具有重要意义。研究发现牛磺酸具有调节细胞钙稳态、清除氧自由基、抑制脂质过氧化、维持细胞渗透压和稳定细

胞膜等多种作用。在心血管系统有抗心律失常、心肌保护、降低血压和保护血管内皮功能等作用^[1-3]。然而, 有关牛磺酸心血管系统作用机制的许多环节还不清楚。本实验旨在观察牛磺酸对离体大鼠胸主动脉环的作用, 并通过工具药对其作用的影响探讨其可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂

牛磺酸, 由南京制药厂提供 (批号 980923)。 β -丙氨酸 (β -alanine)、乙酰胆碱 (acetylcholine, ACh)、四乙胺 (tetraethylamine, TEA)、4-氨基吡啶 (4-aminopyridine, 4-AP)、格列本脲 (glibenclamide, Gli) 和左旋硝基精氨酸甲酯 (N^G -nitro-*L*-arginine methyl ester, *L*-NAME) 均购自 Sigma 公司。苯肾上腺素 (phenylephrine, PE) 为上海禾丰制药有限公司产品。其余试剂为市售分析纯。

1.2 大鼠离体主动脉环标本的制备

Wistar 大鼠, 雌性, 体重 $240 \sim 260 \text{ g}$, 由山西医科大学实验动物中心提供。用钝器击昏大鼠, 颈椎脱臼处死后, 打开胸腔, 分离胸主动脉, 将取下的胸主动脉放入 4°C 的 HEPES 液 ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$: NaCl 144, KCl 5.8, MgCl_2 1.2, CaCl_2 2.5, 葡萄糖 11.1, HEPES 5, pH 7.38) 中。去除血管周围的脂肪及结缔组织, 将动脉剪成 $2 \sim 3 \text{ mm}$ 的小段。在去内皮实验中, 用与血管内径相适的棉棒从管腔擦过, 连续 2 次。血管环用两根不锈钢微型挂钩贯穿血管管腔, 横向悬挂在 10 mL 浴管内, 下方固定, 上方以一细钢丝连于张力换能器, 其静息张力调节为 2 g , 使用 MS4000U1 计算机生物信号采集分析系统 (广州市龙飞达科技有限公司) 记录血管环张力变化。溶液为 HEPES 液, 浴槽中通以 $95\% \text{ O}_2$ 和 $5\% \text{ CO}_2$ 混合气, 37°C 平衡 1 h , 每 15 min 换液 1 次。以 KCl $60 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 收缩动脉环 3 次, 直到收缩稳定。用 PE 1

收稿日期: 2006-10-31 接受日期: 2006-11-24

作者简介: 薛文鑫 (1982 -), 女, 在读硕士; 张明升, 男, 博士, 博士生导师, 研究方向为心血管药理学。

*联系作者 E-mail: 4156589@sina.com Tel: (0351) 8104745

$\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 预收缩动脉环,待收缩稳定加入 ACh $10\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 检验血管内皮的完整性,当 ACh 不产生舒张作用或舒张幅度小于预收缩的 10% 时,认为已去除内皮。

1.3 大鼠主动脉舒张作用测定

采用内皮完整或去内皮的胸主动脉环,加入 PE ($1\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 或 KCl ($60\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$),待血管环收缩达到稳定后,累积加入牛磺酸使浴管中的终浓度依次递增为 20, 40, 60 和 $80\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,观察血管环的舒张反应,制作牛磺酸的累积浓度-血管反应曲线,并以 PE 或 KCl 诱发的血管环的最大收缩幅度为 100%,计算牛磺酸各浓度的舒张百分比。

观察不同工具药对牛磺酸舒血管作用的影响时,主动脉环用 PE ($1\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 或 KCl ($60\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 预收缩,待收缩达坪值后,实验组分别加入 *L*-NAME ($0.1\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), β -丙氨酸 ($60\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), K^+ 通道阻断剂 4-AP ($1\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), TEA ($10\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), Gli ($10\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 或 BaCl_2 ($1\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$),对照组加入等容量生理盐水,当血管环收缩再次达到坪值后,实验组和对照组均累积加入牛磺酸,浓度同上。

1.4 统计学处理

结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。应用 SPSS 13.0 作统计分析,两样本 *t* 检验进行差异显著性检验。

2 结果

2.1 牛磺酸对 PE 和 KCl 引起的主动脉环预收缩的影响

当 PE 引起大鼠胸主动脉环的收缩达最大幅度后,牛磺酸 ($20\sim 80\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 对内皮完整和去内皮的血管环均有浓度依赖性舒张作用,对内皮完整血管环的最大舒张率为 $(27.7 \pm 1.3)\%$,与去内皮血管环的舒张作用强度无明显差异 ($P > 0.05$, 图 1A)。

当 KCl 引起大鼠胸主动脉环的收缩达最大幅度后,牛磺酸 ($20\sim 60\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 对内皮完整和去内皮的血管环均有浓度依赖性舒张作用,对内皮完整血管环的最大舒张率为 $(8.5 \pm 0.7)\%$,与去内皮血管环的舒张作用强度无明显差异 ($P > 0.05$, 图 1B)。

2.2 *L*-NAME 对牛磺酸舒血管作用的影响

本实验结果显示,在 PE (图 1A) 或 KCl (图 1B) 预收缩的内皮完整血管环上,一氧化氮合酶 (eNOS) 抑制剂 *L*-NAME ($0.1\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 对牛磺酸的血管舒张作用均无明显影响 ($P > 0.05$)。

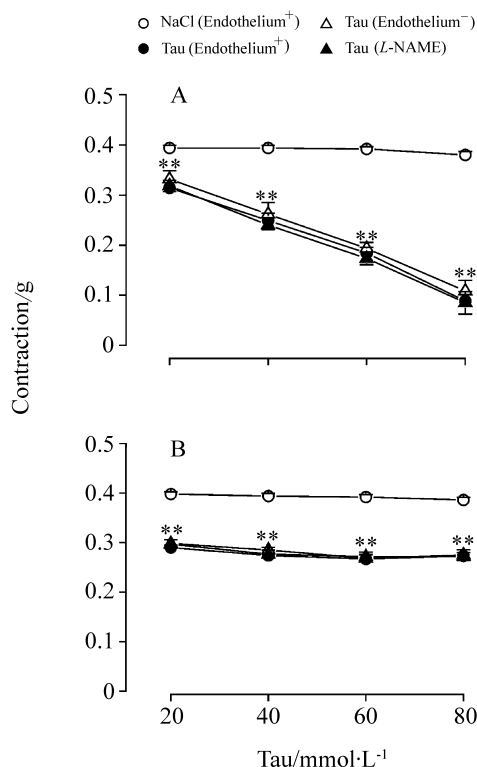


Fig 1. Vasodilative effect of taurine (Tau) on endothelium-intact (endothelium⁺) or denuded (endothelium⁻) aortic rings precontracted with phenylephrine ($1\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, A) or KCl ($60\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, B) and influence of *N*^G-nitro-*L*-arginine methyl ester (*L*-NAME). Tau was added cumulatively into the organ bath with 25 min interval. NaCl was added cumulatively in the same volume. *L*-NAME $0.1\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ was added 25 min before Tau. $\bar{x} \pm s$, $n = 10$. ** $P < 0.01$, compared with NaCl group.

2.3 β -丙氨酸对牛磺酸舒血管作用的影响

在 PE 预收缩的内皮完整血管环上, β -丙氨酸 ($60\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 增强牛磺酸舒张血管的幅度 (图 2A); 在 KCl 预收缩的内皮完整血管环上, β -丙氨酸 ($60\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 却降低牛磺酸的血管环舒张幅度 (图 2B)。

2.4 K^+ 通道阻滞剂对牛磺酸舒血管作用的影响

在 PE 预收缩的内皮完整血管环上, K^+ 通道阻滞剂 Gli, TEA, 4-AP 和 BaCl_2 对牛磺酸的舒血管作用均无明显影响 ($P > 0.05$, 图 3A)。在 KCl 预收缩的内皮完整血管环上,Gli ($10\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 TEA ($10\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 对牛磺酸的血管舒张作用有抑制作用;而 4-AP ($1\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 BaCl_2 ($1\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 对牛磺酸的舒血管作用无明显影响 ($P > 0.05$, 图 3B)。

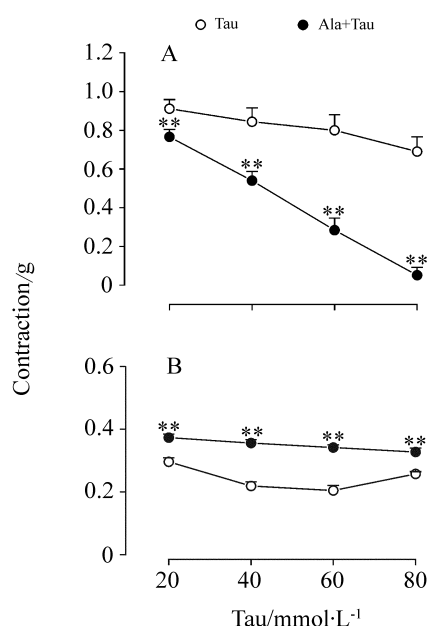


Fig 2. Effect of β -alanine (Ala) on the relaxation induced by taurine in endothelium-intact aortic rings precontracted with phenylephrine ($1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, A) or KCl ($60 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, B). Tau was added cumulatively into the organ bath. Ala $60 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ was added 25 min before Tau. $\bar{x} \pm s$, $n = 10$. ** $P < 0.01$, compared with Tau group.

3 讨论

实验表明,牛磺酸对乙醇、醋酸脱氧皮质酮(deoxycorticosterone acetate-salt)和果糖等诱发的高血压动物模型及自发性高血压、自发性高血压脑卒中大鼠均有降血压作用,其降压机制是多方面的,如调节自主神经系统的紧张度,维持血压稳定^[4-5]。Ristori等^[6]在大鼠离体胸主动脉环实验中证实,牛磺酸可降低血管的基础张力,抑制高钾和去甲肾上腺素诱发的收缩,其作用与内皮、肾上腺素受体和 ACh 受体无关,且不依赖于细胞外钙。本实验结果也证实,无论是否具有内皮,牛磺酸都可以舒张 PE 或高钾预收缩的大鼠胸主动脉环。eNOS 抑制剂 L-NAME 对牛磺酸的舒血管作用没有影响,说明这种舒张血管作用是不依赖于血管内皮的,和内皮源性的舒张因子 NO 无关,提示牛磺酸可能直接作用于血管平滑肌而使血管舒张。

β -丙氨酸是牛磺酸转运体抑制剂,可与牛磺酸竞争性的结合牛磺酸转运体,引起体内牛磺酸耗竭。Abebe等^[7]通过长期给予大鼠 β -丙氨酸,引起体内

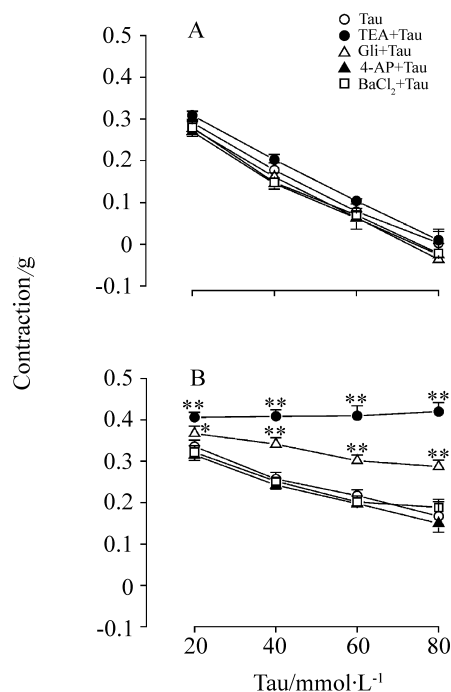


Fig 3. Effects of potassium channel blockers glibenclamide (Gli), 4-aminopyridine (4-AP), tetraethylamine (TEA) and BaCl₂ on the relaxation induced by taurine in endothelium-intact aortic rings precontracted with phenylephrine ($1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, A) or KCl ($60 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, B). Gli $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 4-AP $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, TEA $10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ or BaCl₂ $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ was added 25 min before Tau was added cumulatively into the organ bath. $\bar{x} \pm s$, $n = 10$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared with taurine alone group.

牛磺酸缺乏,取其胸主动脉进行离体实验,发现牛磺酸耗竭大鼠较正常大鼠相比,其血管平滑肌收缩反应增强,舒张反应减弱。本实验结果表明,在 KCl 预收缩的基础上,离体主动脉直接给予 β -丙氨酸后可以抑制牛磺酸的血管舒张作用;但在 PE 预收缩的基础上,离体主动脉直接给予 β -丙氨酸后却增强了牛磺酸的血管舒张作用。 β -丙氨酸对牛磺酸舒血管作用的影响提示其舒张血管作用与其跨细胞膜转移有关。至于 β -丙氨酸对牛磺酸血管舒张作用的影响随血管收缩剂的不同而不同,可能与 PE 或 KCl 收缩血管的机制不同有关,具体机制有待于进一步研究。

K⁺通道活性的改变可使动脉平滑肌细胞膜电位去极化或超极化,是参与动脉血管舒缩调节的重要机制^[8-9]。研究表明,牛磺酸对低氧心肌具有明显的电生理保护效应,浓度依赖性抑制低氧条件下

的 ATP 敏感钾通道电流(I_{K-ATP}),从而改善缺血心肌的兴奋传导和抑制折返性心律失常^[10]。在大鼠骨骼肌细胞,牛磺酸可以竞争性的抑制 ATP 敏感 K^+ 通道(K_{ATP}),促进 Ca^{2+} 内流^[11]。为了解牛磺酸的舒血管作用和 K^+ 通道之间的关系,本实验分别观察了在 PE 或 KCl 预收缩时,内向整流 K^+ 通道(K_{ir})阻断剂 $BaCl_2$ 、电压依赖性 K^+ 通道(K_v)阻断剂 4-AP、 K_{ATP} 通道阻断剂 Gli 和 Ca^{2+} 依赖性 K^+ 通道(BK_{Ca})阻断剂 TEA 对牛磺酸舒血管作用的影响。结果显示,在 KCl 预收缩的条件下,TEA ($10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)和 Gli ($10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)可以抑制牛磺酸的血管舒张作用;而 4-AP ($1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)和 $BaCl_2$ ($1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)对牛磺酸的舒血管作用无明显影响。这提示, K_{ATP} 通道和 BK_{Ca} 通道参与了牛磺酸的舒血管作用,而 K_v 通道和 K_{ir} 通道可能与牛磺酸的舒血管作用无关。但有趣的是,在 PE 预收缩时,4 种钾通道阻断剂对牛磺酸的舒血管作用均无明显影响。出现此结果可能与 KCl 或 PE 收缩血管的作用机制不同有关。KCl 引起血管平滑肌收缩的机制为细胞外高 K^+ 引起细胞膜去极化,电压依赖的钙通道开放, Ca^{2+} 内流;PE 则主要是作用于血管平滑肌上的 α 肾上腺素受体,受体调控的钙通道开放, Ca^{2+} 内流,引起血管平滑肌收缩。具体机制有待进一步探讨。

综上所述,本实验结果提示,牛磺酸对大鼠胸主动脉环有浓度依赖性舒张作用,此作用与血管内皮无关,可能与其跨细胞膜转运有关,可能有 BK_{Ca} 通道和 K_{ATP} 通道的参与。

4 参考文献:

- [1] Militante JD, Lombardini JB. Treatment of hypertension with oral taurine: experimental and clinical studies[J].

Amino Acids, 2002, **23**(4):381-393.

- [2] Azuma J, Sawamura A, Awata N. Usefulness of taurine in chronic congestive heart failure and its prospective application[J]. *Jpn Circ J*, 1992, **56**(1):95-99.
- [3] Chahine R, Feng J. Protective effects of taurine against reperfusion-induced arrhythmias in isolated ischemic rat heart[J]. *Arzneimittelforschung*, 1998, **48**(4):360-364.
- [4] Fujita T, Sato Y. The antihypertensive effect of taurine in DOCA-salt rats[J]. *J Hypertens Suppl*, 1984, **2**(3):S563-S565.
- [5] Fujita T, Ando K, Noda H, Ito Y, Sato Y. Effects of increased adrenomedullary activity and taurine in young patients with borderline hypertension[J]. *Circulation*, 1987, **75**(3):525-532.
- [6] Ristori MT, Verdeti J. Effects of taurine on rat aorta *in vitro*[J]. *Fundam Clin Pharmacol*, 1991, **5**(3):245-258.
- [7] Abebe W, Mozaffari MS. Taurine depletion alters vascular reactivity in rats[J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2003, **81**(9):903-909.
- [8] Nelson MT, Quayle JM. Physiological roles and properties of potassium channels in arterial smooth muscle[J]. *Am J Physiol*, 1995, **268**(4 Pt 1):C799-C822.
- [9] Jackson WF. Ion channels and vascular tone[J]. *Hypertension*, 2000, **35**(1 Pt 2):173-178.
- [10] Zhu F, Ma JH, Zhang PH. Effect of taurine on action potentials and ATP-sensitive potassium channel activity during hypoxia in ventricular muscle of guinea pig[J]. *Chin J Pathophysiol* (中国病理生理杂志), 2005, **21**(1):92-95.
- [11] Tricarico D, Barbieri M, Camerino DC. Taurine blocks ATP-sensitive potassium channels of rat skeletal muscle fibres interfering with the sulphonylurea receptor[J]. *Br J Pharmacol*, 2000, **130**(4):827-834.

Vasodilative effect and mechanism of taurine on thoracic aorta of rats

XUE Wen-Xin, ZHANG Ming-Sheng*, NIU Long-Gang, LIU Yu, LIANG Yue-Qin

(Department of Pharmacology, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

Abstract: **AIM** To investigate the vasodilative roles and the possible mechanisms of taurine on thoracic aorta of rats. **METHODS**

Isotonic tension of thoracic aortic rings precontracted by phenylephrine (PE, $1\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) or KCl ($60\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) was recorded. The

vasorelaxing action of taurine and the influence of various drugs on it were observed in the rings with endothelium intact or endothelium denuded. **RESULTS** Taurine ($20 - 80 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) caused concentration-dependent relaxation in thoracic aortas with or without endothelium, and there was no significant difference between them. N^G -nitro-*L*-arginine methyl ester ($0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) had no effect on the vasorelaxing action of taurine on thoracic aortas precontracted by PE or KCl. β -Alanine ($60 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) diminished the vasorelaxing action of taurine in KCl-precontracted rings, but enhanced the action in PE-precontracted rings. Tetraethylamine, an antagonist of calcium activated potassium channels (KB_{Ca}), and glibenclamide,

an antagonist of ATP sensitive potassium channels (K_{ATP}) attenuated the vasorelaxing effect of taurine, but 4-aminopyridine and BaCl_2 had no significant effect on the vasorelaxing action of taurine. **CONCLUSION** The vasorelaxing action of taurine is endothelium-independent and associated with taurine transmembrane transportation; KB_{Ca} and K_{ATP} may be involved in the action of taurine.

Key words: taurine; aorta, thoracic; vasodilation; alanine; nitroarginine; potassium channels blockers

* Corresponding author.

(本文编辑 董立春)

欢迎订阅 2007 年《中国组织工程研究与临床康复》 (原《中国临床康复》) 杂志

为了更快地实现国际化的目标,《中国临床康复》杂志 2007 年更名为《中国组织工程研究与临床康复》,仍为中国科技论文统计源期刊、中国中文(临床医学类)核心期刊,被美国《化学文摘》(CA)、荷兰《医学文摘库/医学文摘》(EM)、俄罗斯《文摘杂志》(РЖ)、波兰《哥伯尼索引》(IC)、《中国高影响力医学期刊论文计量报告》等收录,并被中国科技核心期刊、中国科技期刊精品数据库等收录。

2007 年本刊对发稿重点提出新的要求:为进一步提高学术质量,①在生物材料研究方面重点突出组织工程支架材料、组织工程材料学特征及人工器官和医学植入体的材料学与人体生物相容性等问题。②在组织构建研究方面重点突出各组织器官构建、组织工程生物活性因子、组织工程分子生物学、组织工程实验技术方法等。③在种子细胞研究方面重点突出干细胞生物学特征、干细胞移植、干细胞因子、干细胞实验技术方法、干细胞临床应用相关基础实验。④在器官移植研究方面重点突出大器官移植、组织移植、细胞移植,并关注异种异体移植及医学植入体植入、人工器官植入的研究进展。⑤在康复工程研究方面重点突出康复工程理论、康复工程临床应用、生物医学工程学、生物医学电子学、生物医学光子学、生物医学成像及图像处理、计算机及脑的生物信息处理及组织器官生物力学及三维有限元分析。⑥在临床康复研究方面重点突出康复预防、康复技术、心理康复、运动医学、康复评估和康复理论等。

欢迎上述研究的英文论文和应用中医药方法研究的相关论文投稿。本刊出版周期:一般稿件修回后 6 个月出版,“绿色通道”承诺修回稿件 3 个月内出版。

咨询电邮: CRTER_szh200@163.com 电话: (024)23389106 (024)23384352 传真: (024)23381085

投稿电邮: kf23385083@sina.com kf22838105@sina.com

国内邮发代号:8-584;本社订阅:辽宁省沈阳 1200 邮政信箱,邮编:110004;12 元/册。更多信息详见 www.zglckf.com。