

咖啡因对大鼠离体胸主动脉张力的双相作用¹

陈孝良、韩大英、曾朴 (首都医学院心血管生理研究室, 北京 100054, 中国)

Biphasic effects of caffeine on tension in isolated aorta of rat

CHEN Xiao-Liang, HAN Da-Ying, ZENG Pu
(Department of Cardiovascular Physiology, Capital Institute of Medicine, Beijing 100054, China)

ABSTRACT The dual effects of caffeine on the tension were observed in rat thoracic aorta. When the preparation was exposed to Tyrode's solution containing caffeine of 1, 5 and 10 mmol/L, the tension increased. In 1-2 min it slowly decreased to a level lower than the pre-caffeine tension. After norepinephrine (1 μ mol/L) was added, caffeine produced a greater inhibitory effect and the contraction phase disappeared. The dual effects of caffeine were not affected by the vascular endothelium.

In the Tyrode's solution containing NiCl_2 2 mmol/L, the first addition of caffeine (10 mmol/L) or norepinephrine (0.1 μ mol/L) caused a contraction. The one caused by norepinephrine was greater. A second addition of caffeine did not cause a contraction, but addition of norepinephrine at this time caused a small contraction. After the washout of norepinephrine which had caused a greater contraction, the addition of caffeine (10 mmol/L) did not cause a contraction.

These results indicate that norepinephrine completely depletes caffeine-sensitive Ca^{2+} stores but caffeine only partially depletes norepinephrine-sensitive Ca^{2+} stores.

KEY WORDS thoracic aorta; caffeine; norepinephrine; vascular endothelium; nickel

摘要 咖啡因对血管条张力具有先加强后抑制的双相效应。当 NE 存在, 咖啡因的加强作用消失。咖啡因的这些作用与血管内皮细胞无关。

Received 1989 Dec 14 Accepted 1990 Jun 16

¹Project supported by the National Natural Science Foundation of China, No. 3860135 and the Foundation of the State Educational Committee for Outstanding Young Teachers

加入 NiCl_2 后, 再次加入咖啡因不引起相收缩, 但 NE 仍可引起小的相收缩。NE 作用后加入咖啡因则不引起相收缩。这表明 NE 可完全作用咖啡因作用的 Ca^{2+} 库, 但咖啡因仅作用部分 NE 作用的 Ca^{2+} 库。

关键词 胸主动脉; 咖啡因; 去甲肾上腺素; 血管内皮; 镍

咖啡因促进平滑肌细胞内 Ca^{2+} 库中 Ca^{2+} 释放, 产生相收缩^(1,2)。在阻断 Ca^{2+} 内流的情况下, 揭示出 NE 也有类似作用⁽³⁾, 但对于两者是否作用于同一 Ca^{2+} 库, 仍存在争论^(2,4)。此外, 咖啡因的作用与血管内皮细胞的关系尚不清楚。

本实验旨在研究咖啡因对血管平滑肌机械活动的影响以及与 NE 的关系, 咖啡因的作用与血管内皮细胞的关系。

MATERIALS AND METHODS

Wistar 大鼠, 体重 $213 \pm \text{SD } 34$ g, δ \neq 不拘。击头致昏, 取出胸主动脉, 制备去除内皮细胞血管条标本和内皮细胞完整血管条标本⁽⁵⁾。先把胸主动脉剪成宽 2-3 mm, 长 10-15 mm 的螺旋条, 再纵向从中间剪开, 制成两条等长等宽血管螺旋条标本。在制作过程中注意对血管内皮细胞的保护。其中一条用毛笔去除内皮细胞。两种标本功能的鉴定是通过在去甲肾上腺素(NE)作用基础上加乙酰胆碱(ACh)引起舒张程度加以判断。

恒温标本槽容量 1 ml。灌流液从槽的底部流入, 由槽的上端自动溢出。两种标本置于同一标本槽内, 完整和去内皮标本分别位于上下端。这样, 若内皮细胞释放血管活性物质, 就不会反过来对去内皮标本产生影响。两标本一端固定, 另一端分别与张力换能器相连, 通过放大器用平衡记录仪记录张力。

灌流液(Tyrode液)成分如下(mmol/L): NaCl 140.3, MgCl₂ 0.5, CaCl₂ 1.8, KCl 4, 葡萄糖 5, HEPES 2.1, 用 NaOH 1 mol/L 将其调至 pH 7.30 - 7.40. 液温 35.5 ± 0.5°C, 持续通纯 O₂, 灌流速度 2 ml/min. 实验前, 标本灌流 1 h. 静息张力 0.5 g. 咖啡因(上海试剂二厂,生化试剂), NE(中国医药公司上海化学采购站, AR)和 ACh(上海试剂三厂, CP)直接加入 Tyrode 液中, 由此引起的微小渗透压变化忽略不计.

实验结果用 $\bar{x} \pm SD$ 表示, 并经 *t* 检验统计处理.

RESULTS

咖啡因对血管平滑肌张力的作用

Fig 1A 是 14 例标本加入咖啡因 5 min 后血管张力变化情况. 咖啡因对血管的作用与其浓度有关. Fig 2 A, B 显示咖啡因对血管平滑肌双相作用峰张力的影响. 与收缩幅度相比, 舒张幅度较小, 是收缩幅度的 36 - 58%.

NE 对咖啡因作用的影响 如 Fig 1B 和 1C 所示, 加入 NE 后血管张力迅速上升, 然后逐渐稳定并持续维持在该水平上. 在此基础上加入咖啡因, 收缩相完全消失, 舒张幅度明显增加, 与无 NE 比较, 舒张幅度增加 5 - 16 倍, 对 18 例标本观察显示了完全一致的结果. Fig 2C 和 Fig 2D 显示了咖啡因浓度与舒张幅度和 50% 张力恢复时间的关系.

在 NiCl₂ 2 mmol/L 存在的条件下, 首次加入咖啡因 10 mmol/L 出现双相反应, 其幅度与加 NiCl₂ 前相同. 洗去再加入咖啡因收缩相消失, 舒张相仍然存在. 若洗去咖啡因后加入 NE 0.1 μmol/L, 相收缩仍可出现, 但幅度明显变小. 洗去后再加 NE 相收缩不再

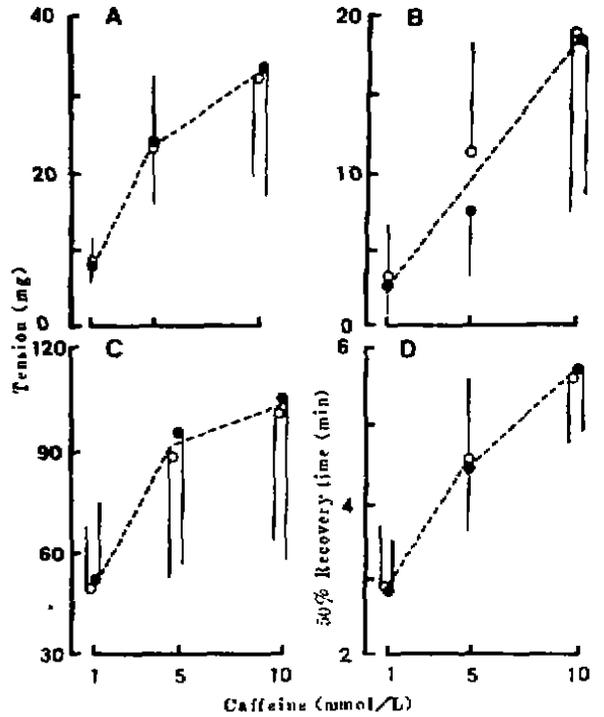


Fig 2. Biphasic effects of caffeine on rat aorta with (●) and without (○) endothelial cells. A) Contraction; B) Relaxation; C) Relaxation in the presence of norepinephrine 1 μmol/L. D) The time required for 50% tension after washout of caffeine in the presence of norepinephrine 1 μmol/L.

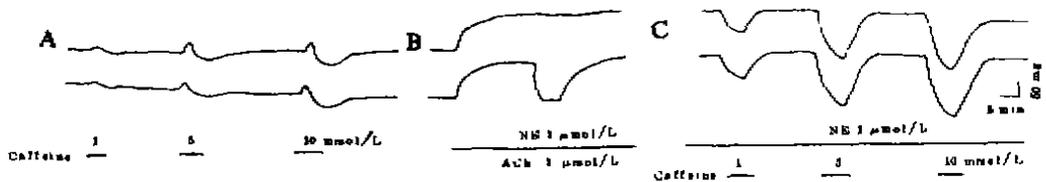


Fig 1. Effects of caffeine on the tension of the rat thoracic aorta *in vitro* with (lower tracing) or without (upper tracing) endothelial cells. A) Biphasic effects of caffeine; B) The action of ACh; C) The relaxing effect of caffeine on the norepinephrine-induced sustained contraction.

出现, 去除 NiCl_2 后, 加咖啡因相收缩恢复. 如 NiCl_2 存在先加 NE 后加咖啡因重复上述过程, 加入 NE 引起相收缩, 其幅度较大, 洗去 NE 后加入咖啡因不出现相收缩. 5 例标本所获结果相同.

内皮细胞对咖啡因作用的影响 内皮细胞对咖啡因作用的影响如 Fig 1 所示. 从 B 可以看出, 加入 NE 后, 两标本张力上升, 很快达到稳定水平, 说明两平滑肌功能良好, 加入 ACh 后, 完整内皮标本张力迅速下降, 直至完全对抗了 NE 的作用, 洗去 ACh 后张力迅速恢复, 而去内皮标本张力无变化, 这表明完整内皮标本的内皮细胞功能良好. A 和 C 显示, 两种标本对咖啡因的反应相同. 统计学处理的资料表明, 无论 NE 存在与否, 两种标本对咖啡因(1 - 10 mmol/L)引起的相收缩幅度、抑制强度、抑制恢复时均无显著性差异 ($P > 0.1$, Fig 2).

DISCUSSION

咖啡因的双相作用 本工作观察到咖啡因对血管平滑肌张力的双相作用, 这和以往工作不同, 以往的工作集中在观察收缩的变化^(2,4). 本工作显示抑制相出现缓慢, 且作用较弱. 尽管 Fig 1 清楚地显示了后抑制效应, 但在大多数标本中无 Fig 1 明显, 易被忽略. 我们曾观察到咖啡因对心肌的双相作用⁽⁶⁾, 本实验又注意了对血管平滑肌后相抑制作用的观察, 结果表明咖啡因对两者具有类似效应. 在 Leijten⁽²⁾ 论文的 Fig 1A 中, 已清楚地显示了后抑制作用, 但 Leijten 未作文字说明.

咖啡因可使细胞内 Ca^{2+} 库释放 Ca^{2+} , 我们发现在 NiCl_2 存在条件下咖啡因仍可诱发一次收缩, 但不能诱发第二次收缩. 这说明相收缩是由细胞内 Ca^{2+} 库释放 Ca^{2+} 引起, 这和咖啡因增加心肌收缩力的作用机理相同. 但两者抑制机理可能有所不同. 心肌张力抑制的原因可能系肌浆网内 Ca^{2+} 耗竭所致⁽⁶⁾, 而在血管平

滑肌可能与 cAMP 增高有关, 已知咖啡因可抑制磷酸二酯酶, 使 cAMP 增加.

NE 对咖啡因作用的影响 已知血管平滑肌 Ca^{2+} 库除肌浆网外, 还有线粒体. 细胞膜等^(3,7). 一些实验^(2,8)表明 NE 和咖啡因作用同一 Ca^{2+} 库, 但有人持不同意见^(4,9). 我们在 NE 持续作用下观察到咖啡因的抑制作用明显增加, 而收缩消失. 已知抑制作用增加系咖啡因对抗 NE 导致 Ca^{2+} 内流所致⁽⁹⁾, 而收缩消失表明 NE 可能排空了咖啡因所作用 Ca^{2+} 库. 为了进一步了解两者关系, 我们在 NiCl_2 阻断 Ca^{2+} 内流的条件下, 观察到咖啡因作用使收缩消失后 NE 仍可引起小的收缩, 而 NE 作用后加入咖啡因未观察到收缩, 这说明 NE 作用的部分 Ca^{2+} 库和咖啡因的完全相同, 但 NE 的作用范围更广, 两者作用部位并不完全重叠. 同时也说明 Ca^{2+} 库的 Ca^{2+} 来源于细胞外液.

咖啡因对血管作用与内皮细胞的关系 本实验结果表明, 无论 NE 存在与否, 咖啡因对血管平滑肌的作用与内皮细胞无关.

REFERENCES

- 1 Obara A, Yabu H. Effects of caffeine on contraction and chlorotetracycline fluorescence in isolated single smooth muscle cells of guinea pig taenia coli. *Jpn J Physiol* 1982; 32 : 1003
- 2 Leijten PAA, van Breemen C. The effects of caffeine on the noradrenaline-sensitive calcium store in rabbit aorta. *J Physiol (Lond)* 1984; 357: 327
- 3 Miao FJ-P. Calcium: The entering pathways and the mechanisms of vasoconstriction. *Prog Physiol Sci* 1989; 20 : 49
- 4 Saida K, van Breemen C. Characteristics of the norepinephrine-sensitive Ca store in vascular smooth muscle. *Blood Vessels* 1984; 21 : 43
- 5 Chen XL. A method for making the isolated vascular preparation of removing and unremoved the endothelial cells. *Chin Pharmacol Bull* 1989; 5: 383
- 6 Chen XL, Matsumura M. Potentiating and depressing actions of caffeine on twitch tension in the isolated atrial muscle of the bullfrog. *Kawasaki Med*

J 1989; 11 : 1
 7 Yabu H. Regulatory mechanism of contraction-relaxation cycle in smooth cells. *J Physiol Soc Jpn* 1986; 48 : 453
 8 Itoh T, Kuriyama H, Suzuki H. Differences and similarities in the noradrenaline- and caffeine-induced mechanical responses in the rabbit

mesenteric artery. *J Physiol (Lond)* 1983; 337 : 609
 9 Ahn HY, Karaki H, Urakawa N. Inhibitory effects of caffeine on contractions and calcium movement in vascular and intestinal smooth muscle. *Br J Pharmacol* 1988; 93 : 267

中国药理学报 *Acta Pharmacologica Sinica* 1990 Sep; 11 (5) : 445-449

左旋千金藤立定的降压作用与多巴胺受体关系¹

顾天华、张照英、周恺荣 (上海第二医科大学,上海市高血压研究所,上海 200025, 中国)
 张振德、金国章 (中国科学院上海药物研究所,上海 200031, 中国)

Hypotensive action of *l*-stepholidine in relation of dopamine receptors

GU Tian-Hua, ZHANG Zhao-Ying, ZHOU Kai-Rong (*Shanghai Institute of Hypertension, Shanghai Second Medical University, Shanghai 200025, China*), ZHANG Zhen-De, JIN Guo-Zhang (*Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China*)

ABSTRACT Spontaneously hypertensive (SH) and 2 kidney 1 clip hypertensive (2k1cH) rats were treated with ig *l*-stepholidine (SPD) 200 mg / (kg · d). Two wk after medication, the average blood pressure (BP) of SH and 2k1cH were 21.3 ± 3.8 and 25.5 ± 3.8 kPa lower than their controls respectively. The concentration of serum prolactin in treated SH and 2k1cH decreased by 48% and 54%, respectively with its decrease of BP. The levels of plasma norepinephrine and epinephrine were increased and the excretion of urinary sodium was reduced or not changed. Since the level of prolactin is a biochemical index of central dopamine receptor (D-2) activity, so these results suggest that the regulation of central dopamine receptors may take part in hypotensive action of ig SPD and the peripheral dopamine receptors are neither agonistic to SPD nor involved in hypotensive action.

KEY WORDS stepholidine; berbines; inbred SHR rats; renovascular hypertension; blood pressure; dopamine; prolactin; norepinephrine; epinephrine

摘要 左旋千金藤立定 (SPD), 200 mg / kg ig 使自发性及两肾一夹型高血压大鼠血压下降。降压同时血清催乳素含量降低, 而血浆去甲肾上腺素及肾上腺素浓度增加, 尿钠排泄减少, 提示 SPD 激动中枢多巴胺受体, 不激动外周多巴胺受体。因此 ig SPD 的降压作用可能涉及中枢多巴胺受体的调控, 与外周多巴胺受体关系不密切。

关键词 千金藤立定; 小檗碱类; 近交系自发性高血压大鼠; 肾血管高血压; 血压; 多巴胺; 催乳素; 去甲肾上腺素; 肾上腺素

左旋千金藤立定 (*l*-stepholidine, SPD) 是从千金藤属 (*Stephania*) 植物中分离取得, 化学结构属于四氢原小檗碱同类物 (tetra-hydroprotoberberines, THPB), 药理试验证明 THPB 是新型的多巴胺 (DA) 受体阻滞剂^(1,2)。SPD 是 THPB 的导向物, 在 DA 受体超敏条件下, 它的阻滞作用转化为激动作用⁽¹⁾。近十年来 DA 及其受体与高血压的关系受到重视, 一些 DA 受体激动剂治疗高血压病已取得一定效果^(3,4), 有可能发展为新类型降压药, SPD 在正常血压麻醉犬有显著降压作用⁽⁵⁾, 降压同时外周阻力下降, 但降压与

Received 1989 Sep 20 Accepted 1990 Apr 21
¹ Project supported by National New Drug Foundation No. 1987-B004