

茶多酚对大鼠异丙肾上腺素诱发心肌损伤的保护作用

安徽皖南医学院弋矶山医院心内科(芜湖 241001)

汤圣兴* 叶艇 赵振东**

摘要 给大鼠腹腔注射茶多酚(10mg/kg)5d后,皮下注射异丙肾上腺素(1mg/kg)连续2d。结果发现茶多酚和普萘洛尔均使大鼠血清丙二醛、磷酸肌酸激酶、乳酸脱氢酶(LDH)及LDH₁较生理盐水组下降,LDH₁/LDH₁比值增加。同时,茶多酚使大鼠血浆肾素活性降低。HE染色亦显示病理损伤减轻。结果提示,茶多酚对异丙肾上腺素诱发大鼠的心肌损伤有保护作用,机理与其抗氧自由基和抑制肾素活性有关。

关键词 茶多酚 异丙肾上腺素 心肌损伤 氧自由基

茶多酚(tea polyphenol, TP)系从茶叶中提取的一类多酚类化合物,其主要成分为儿茶素(catechin),具有抗凝^[1]、降脂和抗动脉粥样硬化^[2]等作用。本文用异丙肾上腺素(isoproterenol, Iso)诱致大鼠心肌损伤,观察TP对其保护作用,为TP防治冠心病提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 动物: Wistar大鼠30只,由安徽省医学研究所动物中心提供。

1.2 药品及试剂: 茶多酚,为淡棕色粉剂,由皖南医学院心血管疾病研究所提供,并经农业茶叶质量监测中心检测,含茶多酚96%,水4%; Iso系上海天丰药厂产品(批号: 900503); 普萘洛尔(propranolol, Pro)由东北制药总厂提供的纯品; 血浆肾素活性测定药盒由北京北方免疫试剂研究所提供。

1.3 方法: 大鼠30只,雌雄各半,随机分成3组: TP组、Pro组和生理盐水组(NS组),3组体重方差分析无差异。分别给各组大鼠每天腹腔注射TP、Pro(浓度均为10mg/kg,临使用时用生理盐水溶解,配制成10mg/ml)和生理盐水(1ml/kg)。第5天开始皮下注射Iso 1mg/kg,24h追加相同剂量,48h断头处死,立即取血测定丙二醛(MDA, Ohkawa法^[3]); 磷酸肌酸激酶(CPK, Hughes改良测定法^[4]); 乳酸脱氢酶(LDH, 比色测定法^[4])和LDH同功酶(琼脂法^[5]); 另一部分抗凝血取血浆严格按照药盒说明书操作测定血浆肾素活性(plasma renin activity, PRA)。同时立即取出心脏,甲醛固定,石蜡包埋,制片后行HE苏木素-伊红染色。

结果判定: 心肌损伤包括心肌变性、坏死和吸收的形态学改变,本结果判定以出现凝固性肌溶解(coagulative myocytolysis)、液化性肌溶解(colligative myocytolysis)和巨噬细胞浸润灶(Mφ浸润灶)为心肌损伤性^[6],并作半定量分析,具体标准为: - : 未见阳性损伤; + : 散在阳性损伤; ++ : 阳性损伤范围小于高倍视野的一半; +++ : 阳性损伤范围大于高倍视野的一半,统计时计算上述5种病变之总和。

数据统计: 以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用两两t检验; 病理分析采用等级序值法^[7]。

2 结果

2.1 TP对Iso损伤心肌大鼠血清CPK、LPH、LDH₁和LDH₂/LDH₁比值的影响: TP和

*Address: Tang Shengxing, Department of Cardiology Yijishan Hospital, Wannan Medical College Wuhu

*研究生 **研究生导师

Pro均能抑制Iso诱发大鼠心肌损伤时CPK、LDH、LDH₁活性的升高,提高LD D₂/LDH₁的比值,说明TP对心肌损伤具有保护作用(表1)。

表1 TP对Iso损伤大鼠血清CPK、LDH、LDH₁及LDH₂/LDH₁的影响

组别	例数	CPK(IU/10ml)	LDH(IU/10ml)	LDH ₁ (%)	LDH ₂ /LDH ₁
NS	10	89.79±25.16	39.35±8.30	30.47±5.53	0.43±0.09
TP	10	62.94±16.46*	27.09±5.59*	22.32±2.64**	0.63±0.12**
Pro	10	58.29±27.82*	29.41±7.93*	22.93±3.51**	0.66±0.07**

与NS组相比 *P<0.05 **P<0.01(下表同)

2.2 TP对Iso损伤心肌血清MDA的影响: TP和Pro均使血清MDA浓度降低,提示TP具有抗脂质过氧化作用(表2)。

2.3 TP对Iso损伤大鼠PRA的影响: 考虑Pro对测定PRA时的影响,只测定NS组和TP组的PRA,例数均为10,结果PRA(μg/L·h): NS为11.30±6.09, TP为4.47±2.89, P<0.01,提示TP可抑制心肌损伤时PRA的升高。

2.4 TP对Iso损伤大鼠心肌心尖部HE染色结果: TP和Pro均对Iso诱致的大鼠心肌损伤有保护作用(表3)。

表2 TP对Iso损伤大鼠血清MDA浓度的影响

组别	例数	MDA(μmol/ml)
NS	10	11.09±2.63
TP	10	7.29±0.93**
Pro	10	7.62±1.46**

表3 TP对Iso损伤大鼠心尖部HE染色结果(n=10)

组别	凝固性肌溶度				液化性肌溶度				Mφ浸润灶度			
	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++
NS	1	0	5	4	1	1	6	2	1	3	2	4
TP	5	2	2	1	8	0	2	0	5	3	1	1**
Pro	6	3	0	1	8	1	0	1	7	2	1	0**

3 讨论

3.1 Iso诱致心肌损伤的机理: 目前认为与氧自由基产生^[8]和心肌细胞内钙超载^[9]有关。

3.1.1 大剂量Iso致心脏β受体过度兴奋,心率加快,心肌收缩力增加,心肌耗氧量增加,兴奋β₂受体,扩张外周血管,降低外周血管阻力,血压降低,尤其舒张压降低,减少冠状动脉供血。结果导致心肌缺氧,大量氧自由基产生。

3.1.2 心脏β受体的过度兴奋,尚使心血管局部血管紧张素增加,进而促进心肌细胞内Ca²⁺超载^[10]。

3.2 TP对Iso性心肌损伤的保护作用: 缺血性心肌酶的释放量是心肌损害程度的主要标志^[11],而心肌病理学检查更是心肌缺血损害程度的直接证据。本实验观察到TP和经典的保护心肌药Pro均使大鼠血清CPK、LDH和LDH₁降低,提高LDH₂/LDH₁比值,从而说明TP对Iso损伤心肌具有保护作用,病理学结果亦予以证实。

3.3 TP保护Iso性心肌损伤的机理: MDA在一定程度上反应氧自由基的生成情况。本实验观察到TP使MDA降低,提示TP具有清除氧自由基作用,与文献报道一致^[12]。同时我们还观察到TP抑制PRA,推测进一步减少血管紧张素的生成,减少心肌细胞Ca²⁺超载而发挥其保护心肌作用。

(下转第213页)

醇30ml。回流30min过滤,滤液供以下实验。

2.3.1 取滤液1ml,加镁粉少许,再滴加浓盐酸4~5滴,水浴加热3~5min,溶液显棕色或红棕色。

2.3.2 取滤液1滴滴在滤纸上,喷洒1%三氯化铝乙醇液,挥干后,于365nm紫外灯下观察显鲜黄色荧光。

2.3.3 取滤液1ml,加3%碳酸钠溶液1ml,水浴加热3min,冷却后加新配制的重氮化试剂1~2滴,溶液呈红色或红棕色。

2.3.4 取滤液1滴滴在滤纸上,在365nm紫外灯下观察,呈浅兰色荧光,加10%氢氧化钠溶液1滴,挥干后,显黄色荧光。

3 讨论

关于天胡荽与破铜钱的区别,在两者叶的大小上存在有两种不同的看法,一种是认为天胡荽的叶大于破铜钱^[4, 5]的叶,另一种看法相反^[6],从我们所收集的药材来看,情况与后一种看法相同,即天胡荽的叶小于破铜钱的叶,

致谢:部分图由柳州地区药检所黄桂华同志协助完成。

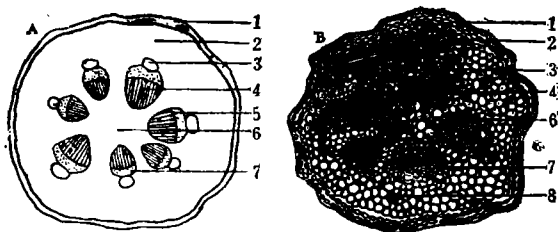


图7 破铜钱茎横切面

A-简图 B-详图

1-表皮 2-皮层 3-分泌道 4-木质部 5-形成层
6-髓部 7-韧皮部 8-棕色块

参 考 文 献

- 1 江苏新医学院编. 中药大辞典. 上册. 上海: 上海人民出版社, 1977. 328
- 2 江苏省植物研究所, 等. 新华本草纲要. 第一册. 上海: 上海科学技术出版社, 1988. 364
- 3 广西壮族自治区卫生厅编. 广西中药材标准. 南宁: 广西科学技术出版社, 1990. 27、151
- 4 福建省医药研究所. 福建药物志. 第一册. 福州: 福建人民出版社, 1979. 367
- 5 刘守炉. 中国植物志. 第五十五卷. 第一分册. 北京: 科学出版社, 1979. 17
- 6 四川中药志协作编写组. 四川中药志. 第一卷. 成都: 四川人民出版社, 1979. 303

(1994-01-25收稿)

(上接第198页)

参 考 文 献

- 1 张晓岗, 等. 浙江医科大学学报, 1989, (6), 224
- 2 高国栋, 等. 湖北医药, 1985, 7(1): 3
- 3 Ohkawa H, et al. Anal Bilche, 1979, 95: 351
- 4 上海市医学化学研究所主编. 临床生化检验. 上册, 上海: 上海科学技术出版社, 1979, 315、337
- 5 叶耀征, 等. 浙江医学, 1980, 2(5): 227
- 6 李广生, 等主编. 心脏病理学. 上海: 上海科技出版社, 1985. 61
- 7 孙瑞元. 定量药理学. 北京: 人民卫生出版社, 1987. 84
- 8 Kondo T, et al. Cardivasc Res, 1987, 21: 248
- 9 Noyer M, et al. J Mol Cell Cardiol, 1983, 15(Suppl I): 215
- 10 于 严, 等. 中国病理生理学杂志, 1991, 7(6): 566
- 11 刘德强, 等. 中国药理学报, 1991, 12(3): 253
- 12 贾之慎. 中国茶叶, 1990, 12(4): 17

(1994-04-88收稿)

Determination of Tanshenoside I in Taidangshen (*Codonopsis pilosula*) and Cultivated Ludangshen (*C. pilosula*) of Different Years Old

Dai Jing, Feng Li, Han Guiru et al

Amounts of tanshenoside I in cultivated Ludangshen of different years of cultivation history was determined by TLC densitometry in comparison with that in wildly grown Ludangshen and cultivated Taidangshen. Results showed that tanshenoside I in cultivated Ludangshen decreases with increased years of cultivation history while that in cultivated Taidangshen is slightly lower than that of Ludangshen of the same years of cultivation. Tanshenoside I in wild Taidangshen is also lower than that in cultivated Taidangshen.

(Original article on page 185)

Study on Biological Effects of Songzike Acidic Polysaccharide

Hou Fangyu, Yu Qinghua, et al

The biological effects of Songzike acidic polysaccharide (ST90) were studied in vivo and vitro. It was found that ST90 had distinct antineoplastic, antibacterial and antiviral effects. It markedly inhibits proliferation of S180 solid tumor in mice and reduces the mortality of mice infected by *Salmonella typhimurium*, and shows a protective effect on FL cells infected with adv_1 , adv_2 , vsv and CB_1 .

(Original article on page 193)

Protective Effect of Tea Polyphenol on Rat Myocardial Injury Induced by Isoproterenol

Tang Shengxing, Ye Ting, Zhao Zhengdong

Retreatment with tea polyphenol (TP) at a dose of 10mg/kg ip to rats five days before isoproterenol (ISO) challenge (1mg/kg sc, for two days), resulted in decreases of malondialdehyde concentration, creatine phosphokinase, lactic dehydrogenase (LDH) and LDH_1 activities, increased LDH_2/LDH_1 ratio and inhibited the extent of myocardial injury, similar to the action of propranol. At the same time TP decreased rat plasma renin activity. The results suggested that the mechanism by which TP protects heart from ISO-induced myocardial injury is due to its antioxygen free radical and inhibition of renin activities.

(Original article on page 197)

Effects of Emodin on the Cytoplasmic free Ca^{2+} in Peritoneal Macrophages From Mice

Cui Rongfen, Lin Xiuzhen