

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.05.004

茶色素对心肌缺血离体蟾蜍心脏活动的影响*

张毓¹,戴淑芳¹,王子丹¹,孙艺平¹,傅雷^{1△},刘克敏¹,朱亮¹,张树龙^{2▲}

(1.大连医科大学基础医学院,大连 116044;2.大连大学附属中山医院心内科,大连 116027)

[摘要] 目的 观察茶色素在心肌缺血状态下对离体蟾蜍心肌收缩力、心电图和心率的影响。方法 将 60 只蟾蜍分为正常蟾蜍离体蛙心组(A组)和心肌缺血蟾蜍离体蛙心组(B组),A组再分为林格液组(A1组)、茶色素低剂量(200 mg/L)组(A2组)和茶色素高剂量(400 mg/L)组(A3组);B组再分垂体后叶素模型组(B1组)、垂体后叶素+茶色素低剂量(200 mg/L)组(B2组)和垂体后叶素+茶色素高剂量(400 mg/L)组(B3组)。应用 BL-420S 生物机能实验系统记录蟾蜍离体心肌收缩力和心电图变化曲线。结果 与 A1 组比较,A3 组引起心肌收缩力明显增加($P<0.05$),A2 组差异无统计学意义($P>0.05$);心电图 QRS 峰峰值和心率差异无统计学意义($P>0.05$)。与 A1 组比较,B1 组心肌收缩力、心电图 QRS 峰峰值和心率均明显下降($P<0.05$);与 B1 组比较,B2、B3 组心肌收缩力、心电图 QRS 峰峰值和心率均明显上升($P<0.05$)。结论 茶色素能明显改善心肌缺血引起离体蟾蜍心脏功能的下降。

[关键词] 茶色素;心肌缺血;心肌收缩力;心电图记录术;心率

[中图分类号] R732

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2018)05-0588-02

Influence of tea pigment on cardiac activity in exsomatized toads of myocardial ischemia*

ZHANG Yu¹, DAI Shufang¹, WANG Zhidan¹, SUN Yiping¹, FU Lei^{1△}, LIU Kemin¹, ZHU Liang¹, ZHANG Shulong^{2▲}

(1. College of Basic Medical Science, Dalian Medical University, Dalian, Liaoning 116044, China;

2. Department of Cardiology, Affiliated Zhongshan Hospital of Dalian University, Dalian, Liaoning 116027, China)

[Abstract] **Objective** To observe the influence of tea pigment on myocardial contractility, electrocardiogram (ECG) and heart rate in exsomatized toads under the condition of myocardial ischemia. **Methods** Sixty toads were divided into the normal exsomatized toad heart group (A) and myocardial ischemia toad heart (B). Then the group A was re-divided into the Ringer's solution group (A1), tea pigment low dose (200 mg/L) group (A2) and the high dose (400 mg/L) group (A3); the group B was re-divided into the pituitrin model group (B1), pituitrin + tea pigment low dose (200 mg/L) group (B2) and high dose (400 mg/L) group (B3). The BL-420S biological function experiment system was used to record the myocardial contractile force and ECG change curve of exsomatized toad. **Results** Compared with the group A1, the myocardial contractility in the group A3 was obviously increased ($P<0.05$), the difference in the group A2 had no statistical significance ($P>0.05$); the QRS peak value of ECG and heart rate had no statistically significant difference ($P>0.05$); compared with the group A1, the myocardial contractility, ECG QRS peak value and heart rate in the group B1 were significantly decreased ($P<0.05$); compared with the group B1, the myocardial contractility, ECG QRS peak value and heart rate in the group B2 and B3 were significantly increased ($P<0.05$). **Conclusion** Tea pigment can obviously improve the decrease of the exsomatized toad cardiac activity caused by myocardial ischemia.

[Key words] tea pigment; myocardial ischemia; myocardial contractility; electrocardiography; heart rate

茶色素是英国人 ROBERTS 等^[1]首先从绿茶中提取的一类水溶性酚性色素。国内临床资料报道证实,茶色素有抗癌抗肿瘤、降血脂和预防心脑血管疾病、抗菌消炎、抗氧化等多种药理功能^[2]。心肌缺血是指心脏的血液灌注减少,导致心脏的供氧减少,心肌能量代谢不正常,不能支持心脏正常工作的一种病理状态^[3]。茶色素在低钙和高钙浓度下对离体蟾蜍心肌收缩力有双向调节保护作用^[4],这种保护作用可能与心肌细胞膜上的钙离子通道、M 受体和 β 受体相关^[5],而茶色素对离体蟾蜍心肌缺血时心脏活动的影响少见报道。本实验旨在探讨不同浓度的茶色素溶液在心肌缺血状态下对于离体蟾蜍心肌收缩力、心率和心电图的影响,为临床茶色素合理用药提供参考依据。

1 材料与方

1.1 材料 动物:北方 8~10 个月的中华蟾蜍 60 只,体质量为(80±10)g,雌雄兼备,由大连医科大学动物实验中心提供,实验动物合格证号:SCXK(辽)20140001。药品与器材:茶色素,由江西绿色制药有限公司生产并鉴定,鉴定 TP 纯度以游

离儿茶素计 36.27%,批号:20140920;垂体后叶素,购自上海第一生化药业有限公司,批号:140601。林格液按标准配方配制。BL-420S 生物机能实验系统和 FT-100 张力换能器由成都泰盟科技有限公司生产。

1.2 方法

1.2.1 动物分组 将 60 只蟾蜍分为正常蟾蜍离体蛙心组(A组)和心肌缺血蟾蜍离体蛙心组(B组),A组再分为林格液组(A1组)、茶色素低剂量(200 mg/L)组(A2组)和茶色素高剂量(400 mg/L)组(A3组);B组再分垂体后叶素模型组(B1组)、垂体后叶素+茶色素低剂量(200 mg/L)组(B2组)和垂体后叶素+茶色素高剂量(400 mg/L)组(B3组),每组 10 只。

1.2.2 模型制备 蛙心插管模型参照文献^[6]斯氏法制备。心肌缺血模型按照刘展等^[7]应用含有垂体后叶素 0.1 U/mL 的林格液灌流离体蟾蜍心脏制备心肌缺血模型。

1.2.3 给药方法 A1 组离体蟾蜍心脏只灌流林格液,A2、A3 组在离体蟾蜍心脏分别灌流含茶色素浓度为 200、400 mg/L

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81370307,81370583)。 作者简介:张毓(1994—),住院医师,本科,主要从事循环生理研究。

△ 通信作者,E-mail:shiren382@qq.com。 ▲ 通信作者,E-mail:zhangshulongmd@sina.com。

的林格液, B1 组灌流含垂体后叶素(7 U/mL)的林格液, B2、B3 组在 B1 组基础上分别再加入茶色素 200、400 mg/L。通过蟾蜍心室外采用心室收缩波动、心室吸收药物的方法给药。每次加药时先取出 20 μ L 液体, 再加入 20 μ L 对应浓度茶色素溶液, 以保证心室外容积固定为 1.0 mL, 记录 40 min。

1.2.4 检测指标 参照文献[8]应用 BL-420S 生物机能实验系统同时记录心肌收缩力和心电图。

1.3 统计学处理 应用 SPSS19.0 统计软件进行分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组离体蟾蜍心肌收缩力和心率比较 正常蟾蜍离体蛙心灌流标本在适宜条件下 1 h 内心肌收缩力和心率无明显变化($P > 0.05$), 能提高蟾蜍正常离体心肌的心肌收缩力的茶色素有效浓度为 400 mg/L, 对心率无明显影响; 在正常蟾蜍离体蛙心灌流标本先灌流含 7 U/mL 垂体后叶素林格液稳定后, 引起心肌收缩力和心率明显增加的茶色素最低浓度为 200 mg/L。与 A1 组比较, A3 组引起心肌收缩力明显增加($P < 0.05$), A2 组差异无统计学意义($P > 0.05$)。A1、A2、A3 组给药前后心率比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。与 A1 组比较, B1 组心肌收缩力和心率均明显下降($P < 0.05$); 与 B1 组比较, B2、B3 组心肌收缩力和心率均明显上升($P < 0.05$), 见表 1。

表 1 各组离体蟾蜍心肌收缩力和心率比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	心肌收缩力(g)		心率(次/分)	
	给药前	给药后	给药前	给药后
A1 组	2.57 \pm 0.07	2.52 \pm 0.06 ^a	37.80 \pm 0.10	37.10 \pm 0.02
A2 组	2.65 \pm 0.04	2.58 \pm 0.07 ^a	36.50 \pm 0.20	36.80 \pm 0.30
A3 组	2.48 \pm 0.16	4.35 \pm 0.17 ^c	36.90 \pm 0.17	36.20 \pm 0.36
B1 组	2.45 \pm 0.19	0.98 \pm 0.09 ^{ad}	37.90 \pm 1.13	31.30 \pm 1.28 ^c
B2 组	0.99 \pm 0.07	2.20 \pm 0.04 ^{abd}	33.50 \pm 0.89	40.26 \pm 1.47 ^{bc}
B3 组	1.18 \pm 0.03	2.33 \pm 0.12 ^{abd}	32.00 \pm 0.77	38.13 \pm 0.99 ^{bc}

^a: $P < 0.05$, 与 A3 组给药后比较; ^b: $P < 0.05$, 与 B1 组给药后比较; ^c: $P < 0.05$, ^d: $P < 0.01$, 与同组给药前比较

表 2 各组离体蟾蜍心电图比较($\bar{x} \pm s, n=10, mV$)

组别	QRS 波峰峰值		T 波峰峰值	
	给药前	给药后	给药前	给药后
A1 组	0.25 \pm 0.07	0.24 \pm 0.06	0.02 \pm 0.00	0.02 \pm 0.00
A2 组	0.28 \pm 0.08	0.32 \pm 0.05	0.02 \pm 0.00	0.02 \pm 0.00
A3 组	0.26 \pm 0.07	0.29 \pm 0.06	0.02 \pm 0.00	0.02 \pm 0.00
B1 组	0.24 \pm 0.08	0.08 \pm 0.06 ^{ad}	0.02 \pm 0.00	0.12 \pm 0.0 ^{bc}
B2 组	0.08 \pm 0.00	0.22 \pm 0.05 ^{bd}	0.11 \pm 0.03	0.03 \pm 0.00 ^{bc}
B3 组	0.08 \pm 0.00	0.23 \pm 0.06 ^{bd}	0.12 \pm 0.04	0.03 \pm 0.00 ^{bc}

^a: $P < 0.05$, 与 A3 组给药后比较; ^b: $P < 0.05$, 与 B1 组给药后比较; ^c: $P < 0.05$, ^d: $P < 0.01$, 与同组给药前比较

2.2 各组离体蟾蜍心电图比较 在正常蟾蜍离体蛙心灌流标本稳定后, 改灌流含 200 mg/L 或 400 mg/L 茶色素林格液; 灌流 200 mg/L 茶色素林格液时, 给药前后 QRS 波峰峰值分别为(0.28 \pm 0.08)、(0.32 \pm 0.05)mV, T 波峰峰值均为(0.02 \pm 0.00)mV; 灌流 400 mg/L 茶色素林格液时, 给药前后 QRS 波峰峰值分别为(0.26 \pm 0.07)、(0.29 \pm 0.06)mV, T 波峰峰值均为(0.02 \pm 0.00)mV。A1、A2、A3 组给药前后比较, 心电图标准 II 导联的峰值均无明显变化($P > 0.05$)。与 A1 组比较, B1 组 QRS 波峰峰值明显下降($P < 0.05$), T 波峰峰值明显增加($P < 0.05$); 与 B1 组比较, B2、B3 组 QRS 波峰峰值明显下降,

T 波峰峰值明显上升($P < 0.05$), 见表 2。

3 讨论

茶色素是茶叶中以儿茶素为代表的多酚类化合物氧化耦联产生的一种水溶性、小分子、酚类氧化聚合物水溶性色素物, 是茶黄素类、茶红素类、茶褐素类的混合物, 其中茶黄素是茶色素的主要成分^[9]。据报道茶色素所含 3 种成分对于心血管系统细胞均有较强保护及修复作用^[10]。本实验中用于制造心肌缺血模型的药品为垂体后叶素能明显使冠状动脉、毛细血管、微血管收缩, 从而使心脏负荷加重, 心肌缺血缺氧, 导致心电图 T 波明显升高。继而引起反射性心率减慢^[11]。

本研究显示, 在心肌缺血的条件下, 离体蟾蜍的心肌收缩力和心率均明显下降, 心电图的 QRS 波峰峰值和 T 波峰峰值均明显下降。而茶色素可以明显提高心肌收缩力、心率、心电图的 QRS 波峰峰值和心电图 T 波峰峰值, 并且在心肌缺血状态下和在正常状态下的茶色素使心肌收缩力明显增加的浓度相比, 在心肌缺血状态下的茶色素浓度比在正常状态下茶色素的浓度要低, 推测茶色素对心肌缺血有一定治疗作用。有研究证明, 造成心肌缺血再灌注损伤的主要原因为机体氧自由基水平增高, 微血管损伤和细胞内发生钙超载现象等^[12]。氧自由基对于心肌细胞具有较大的损伤作用。相关文献表明, 茶色素对于不同体系产生的自由基有明显的清除作用^[13]。茶色素能直接作用于氧自由基, 与氧自由基反应生成较为稳定的酚氧自由基, 因而能够灭活氧自由基^[14], 从而减少氧自由基对心肌细胞的损伤, 提高心肌收缩力及心率。此外, 微循环的机能状态会直接影响相关脏器的血液灌注。实验中采用垂体后叶素制备心肌缺血模型, 是利用了垂体后叶素中加压素使得微血管收缩的作用, 导致血流速度减慢, 全身血流灌注量减少, 进而导致心肌缺血。而机体中, 血管紧张素 II 可以刺激加压素的分泌, 近期研究发现, 茶色素能减少血管紧张素 II 的释放。茶色素通过降低血清血管紧张素 II 的水平, 减少交感神经递质的释放, 进而减少醛固酮(即加压素)的合成与释放, 起到降低血压, 保护心功能的作用^[15]。醛固酮释放减少, 全身微血管扩张, 导致全身血流灌注量增加, 心肌缺血情况得到改善, 心电图 T 波升高减低, 相对心率加快。这与本实验的结果相符, 即茶色素可以提高心肌缺血条件下心肌收缩力及心率。推测可能与茶色素减少体内氧自由基水平, 减轻自由基对于心肌细胞损伤, 提高机体抗氧化能力及减轻微循环损伤状态有关, 进一步探讨茶色素可能对离体蟾蜍心肌缺血有一定的治疗作用, 但其更深入的作用机制还需进一步探讨。

参考文献

- [1] ROBERTS E A, MYERS M. The Phenolic substances of manufactured tea. IV.-enzymic oxidations of individual substrates[J]. J Sci Food Agric, 2010, 10(3): 167-172.
- [2] 卢素芳, 王胜鹏. 茶色素及其生物活性功能研究[J]. 湖北农业科学, 2015, 54(24): 6117-6119.
- [3] 王建枝, 殷莲化, 吴立玲, 等. 病理生理学[M]. 8 版. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 159-161.
- [4] 董帅, 唐泽耀, 张冬梅, 等. 茶色素在低钙及高钙浓度下对离体蟾蜍心肌收缩力的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2013, 24(6): 561-564.
- [5] 汪洋, 唐泽耀, 王珂萌, 等. 茶色素对离体蟾蜍心肌收缩力的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(12): 90-94.
- [6] 刘克敏, 孙艺平, 王珂萌, 等. 鹿茸的心肌保护作用与 M 受体的相关性研究[J]. 重庆医学, 2016, 45(31): 4404-4406.

证实家庭环境吸烟对儿童 OME 有一定促进作用 ($OR \leq 1.5$)^[21]。MARTINES 等^[22]的研究认为被动吸烟或吸烟人数的增加与 OME 的发生无相关性。本研究结果也表明被动吸烟并不是 OME 复发的危险因素。但是在临床中部分过敏性鼻炎患儿在切除肥大的扁桃腺样体后, OME 仍有反复发作, 说明是多种因素相互影响、共同作用导致 OME 的发生。因此, 临床医师应采取个体化综合多因素治疗, 保证 OME 患儿得到最佳有效的治疗方案, 从而有效提高该病治愈率、改善患儿听力。

参考文献

- [1] FORTNUM H, LEIGHTON P, SMITH M D, et al. Assessment of the feasibility and clinical value of further research to evaluate the management options for children with Down syndrome and otitis media with effusion: a feasibility study[J]. *Health Technol Assess*, 2014, 18(60): 1-147.
- [2] 李保平, 田斐, 马敏. 儿童反复发作分泌性中耳炎的病因分析[J]. *中华耳科学杂志*, 2010, 8(3): 348-349.
- [3] 冯晓华, 龙孝斌, 汪建, 等. 难治性分泌性中耳炎危险因素分析[J]. *听力学及言语疾病杂志*, 2013, 21(5): 486-488.
- [4] 高帆, 蒋子栋. 儿童 SOM 病因学研究进展[J]. *中华耳科学杂志*, 2013, 11(4): 613-616.
- [5] 陈敏, 张雪溪, 刘薇, 等. 低龄儿童分泌性中耳炎诊疗进展[J]. *中国耳鼻咽喉头颈外科*, 2016, 23(8): 448-453.
- [6] 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志编委会鼻科组, 中华医学会耳鼻咽喉头颈外科学分会鼻科学组. 变应性鼻炎诊断和治疗指南(2009 年, 武夷山)[J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2009, 44(12): 977-978.
- [7] LINER L H, MARCUS C L. Ventilatory management of sleep-disordered breathing in children[J]. *Curr Opin Pediatr*, 2006, 18(3): 272-276.
- [8] 孙昌志, 邹华, 郑亿庆, 等. 儿童阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征的头部 X 线测量[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2007, 21(8): 350-352, 355.
- [9] CAYLAKLI F, HIZAL E, YILMAZ I, et al. Correlation between adenoid-nasopharynx ratio and endoscopic examination of adenoid hypertrophy: a blind, prospective clinical study[J]. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2009, 73(11): 1532-1535.
- [10] 田勇泉. 耳鼻咽喉头颈外科学[M]. 8 版. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 55-58, 82-84.
- [11] 郑杰元, 张立红, 李晶斌, 等. 咽喉反流症状指数量表中文

版的信度及效度评价[J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2012, 47(11): 894-898.

- [12] PRIBUISIENE R, ULOZA V, KUPCINSKAS L. Diagnostic sensitivity and specificity of laryngoscopic signs of reflux laryngitis[J]. *Med Lit*, 2008, 44(4): 280-287.
- [13] 薛莲, 周建荣. 鼓室注射曲安奈德联合盐酸氨溴索治疗分泌性中耳炎的 Meta 分析[J]. *重庆医学*, 2013, 42(27): 3219-3224.
- [14] NERY C G, BURANELLO F S, PEREIRA C, et al. Is facial pattern a predisposing factor for otitis media with effusion in children? [J]. *Braz J Otorhinolaryngol*, 2011, 77(1): 84-87
- [15] NURLIZA I, LIM L H. Retrospective review of grommet insertions for otitis media with effusion in children in Singapore[J]. *Med J Malaysia*, 2011, 66(3): 227-230.
- [16] FENG X, DENG H, WANG J, et al. Research on the relationship of IgE between adenoid and middle ear effusion in children otitis media with effusion cases[J]. *Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi*, 2011, 25(13): 588-589.
- [17] LACK G, CAULFIELD H, PENAGOS M. The Link between otitis media with effusion and allergy: a potential role for intranasal corticosteroids[J]. *Pediatr Allergy Immunol*, 2011, 22(3): 258-266.
- [18] 杜强, 王正敏. “中耳微型肺”理论[J]. *国际耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2006, 30(3): 157-159.
- [19] THORNTON R B, RIGBY P J, WIERTSEMA S P, et al. Multi-species bacterial biofilm and intracellular infection in otitis media[J]. *BMC Pediatrics*, 2011, 11(1): 94-104.
- [20] GOMAA M A, GALAL O, MAHMOUD M S. Risk of acute otitis media in relation to acute bronchiolitis in children[J]. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2012, 76(1): 49-51.
- [21] KONG K, COATES HL. Natural history, definitions, risk factors and burden of otitis media[J]. *Med J Aust*, 2009, 191(9 Suppl): S39-43.
- [22] MARTINES F, BENTIVEGNA D, MAIRA E, et al. Risk factors for otitis media with effusion: Case-control study in Sicilian schoolchildren[J]. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2011, 75(6): 754-759.

(收稿日期: 2017-06-22 修回日期: 2017-09-29)

(上接第 589 页)

- [7] 刘展, 马红萍, 彭聿平. 垂体内叶素诱发离体蛙心心肌缺血实验模型[J]. *交通医学*, 2010, 24(5): 466-467.
- [8] 崔艳秋, 王俊雅, 张冬梅, 等. 蛙心灌流模型的改进[J]. *首都医科大学学报*, 2005, 26(2): 229-231.
- [9] 罗永明, 李诒光. 茶色素的化学成分研究[J]. *中草药*, 2002, 33(12): 1066-1067.
- [10] 邵翔, 杨浩, 俞国华. 茶提取物在心血管疾病中的应用[J]. *现代中西医结合杂志*, 2005, 14(14): 1917-1919.
- [11] 施新猷. 现代医学实用动物学[M]. 北京: 人民军医出版社, 2000: 442-444.
- [12] 简文亭, 简道林, 马会改. 迷走神经刺激在心肌缺血再灌注损伤中的研究进展[J]. *广东医学*, 2013, 34(12): 1938-

1940.

- [13] 李春美, 谢笔钧, 姚平. 茶色素体外清除氧自由基及对老龄小鼠脂质过氧化作用的影响[J]. *中国药理学通报*, 2001, 17(2): 233-234.
- [14] 杜荣增, 任雨笙, 黄高忠, 等. 茶色素对高血压患者红细胞超氧化物歧化酶和血浆总抗氧化能力的影响[J]. *现代中西医结合杂志*, 2004, 13(1): 13-15.
- [15] 赵敏, 姚优修, 李婷, 等. 茶色素胶囊对兔离体血管平滑肌张力的影响[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2009, 7(12): 1448-1449.

(收稿日期: 2017-06-18 修回日期: 2017-09-26)