

儿茶素对实验性大鼠心力衰竭模型的保护作用

章琦, 胡立群, 尹长森, 陈萍, 李红旗, 孙新, 严光

摘要 目的 考察儿茶素对实验性大鼠心力衰竭(简称心衰)模型的保护作用。方法 采用腹主动脉结扎制备大鼠心衰模型;通过心衰大鼠血流动力学、心脏重量指数、血管紧张素Ⅱ(AngⅡ)、醛固酮(ALD)和心钠肽(ANP)含量水平评价儿茶素疗效。结果 心衰大鼠血流动力学明显紊乱,心脏重量指数显著增加,同时AngⅡ、ALD和ANP浓度水平明显上升;儿茶素50、100 mg/(kg·d)连续2周治疗给药后能明显改善心衰大鼠血流动力学、降低心脏重量指数、下调AngⅡ、ALD和ANP的含量水平。结论 儿茶素对大鼠心衰具有明显保护作用。

关键词 儿茶素;心力衰竭;血管紧张素Ⅱ;醛固酮;心钠肽
中图分类号 R 364.1; R 453.9; R 541.6; R 965.1
文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2014)06-0764-04

慢性充血性心力衰竭是一种常见的心血管疾病^[1],我国成年人心力衰竭(简称心衰)患病率约为0.9%^[2]。目前临床抗心衰一线药物主要有血管紧张素转化酶抑制剂和血管紧张素Ⅱ(angiotensinⅡ, AngⅡ)受体拮抗剂,该类物质能明显改善心衰症状,提高心室收缩与舒张功能^[3],但长期给药过程中会不同程度造成一定副作用,如咳嗽、皮疹、心悸和头晕等不良反应^[4]。茶饮文化在我国有数千年历史,目前茶叶已是日常生活中重要保健产品之一。儿茶素是茶叶活性成分之一,对高血压、血管动脉粥样硬化和高血脂等心血管疾病均具有良好的预防和治疗作用^[5],但对慢性心衰是否具有疗效未见报

2014-02-24 接收

基金项目:安徽省高校省级自然科学基金项目(编号:KJ2013Z125)

作者单位:安徽医科大学附属省立医院老年科,安徽省心血管病研究所,合肥 230001

作者简介:章琦,男,硕士研究生;

严光,男,教授,主任医师,硕士生导师,责任作者, E-mail: yanguang399@sina.com

Protective effect of total flavones of *Pueraria lobata* on osteoporosis in ovariectomized rats

Chen Guanru, Chen Feihu, Ge Jinfang, et al

(School of Pharmacy, Anhui Medical University, Hefei 230032)

Abstract Objective To investigate the protective activity of total flavones of *Pueraria lobata* on osteoporosis in ovariectomized rats. **Methods** 10-week-old SPF female SD rats were randomly assigned to groups including: normal control group, sham ovariectomy group, ovariectomy group, Tibolone Tablets 1.25 mg/kg group and total flavones of *Pueraria lobata* 50, 100, 200 mg/kg groups. All experiment substances were administered for 12 weeks orally according to the designed dosages. At the end of 12 weeks treatment, bone mineral density (BMD), bone mineral content (BMC) of the right femur and bone breaking strength of the left femur were evaluated by dual-energy X-ray absorptiometry and three-point bending test, respectively. Histomorphology of the left tibia was analyzed after haematoxylin and eosin staining. Urine hydroxyproline (HOP), serum bone specific alkaline phosphatase (BALP), follicle-stimulating hormone (FSH), luteotropic hormone (LH) and estrogen (E2) were measured by ELISA kits. The mRNA level of hypothalamus gonadotropin-releasing hormone (GnRH) was evaluated by RT-PCR. **Results** Total flavones of *Pueraria lobata* (100, 200 mg/kg) distinctly improved BMD of the right femur, bone biomechanical properties of the right femur, up-regulated mRNA expression of the hypothalamus GnRH and decreased urine HOP, serum BALP, FSH, LH levels and decreased bone absorption. **Conclusion** Results of current study demonstrate that treatment of total flavones of *Pueraria lobata* may protect and preventively treat osteoporosis in ovariectomized rats.

Key words *Pueraria lobata* total flavones; ovariectomized; osteoporosis; BMD

道。该研究拟探讨儿茶素对实验性大鼠心衰模型的保护作用,为开发儿茶素应用于临床治疗心衰提供一定实验依据。

1 材料与方法

1.1 药物及试剂 儿茶素购自江西海富生物工程有限公司,纯度 $>90\%$;卡托普利购自河南中杰药业有限公司,批号:1201052;儿茶素和卡托普利临床前均用 0.5% 的羧甲基纤维素钠溶解;Ang II、醛固酮(aldoosterone,ALD)和心钠肽(atrial natriuretic peptide,ANP)放射免疫试剂盒均购自北方生物技术研究所以。

1.2 实验仪器 RM-6240型多通道生理信号采集处理系统(成都仪器厂);SN-682型放射免疫 γ 计数器(上海核福光电仪器有限公司);SN-697B型放射免疫 γ 计数器测量系统(中国科学院上海原子核研究所);MA110型电子分析天平(上海第二天平仪器厂);R21G型高速冷冻离心机(日本日立公司)。

1.3 模型制备和动物分组

1.3.1 实验动物 SD大鼠,60只,雄性,清洁级,体重 (200 ± 20) g,由安徽医科大学实验动物中心提供。

1.3.2 模型制备^[6] SD大鼠腹腔注射 0.6% 戊巴比妥钠(60 mg/kg)麻醉,仰位固定于手术台上,备皮、消毒。在腹正中切口,沿着腹白线进入腹腔,暴露分离后腹膜,在左肾动脉上方游离腹主动脉。在游离腹主动脉长轴置一弯曲的9号针头,用丝线绕着腹主动脉后与针头一起结扎,随后拔去针头,造成腹主动脉狭窄。腹腔内涂抹庆大霉素预防感染后,分层关闭腹腔。术后每只大鼠用青霉素($50\,000$ U/d)连续3 d肌肉注射防止感染。假手术组不做丝线结扎,其余操作同前。

1.3.3 动物分组及给药 造模后6周,将手术组存活的44只大鼠(手术中以及术后死亡8只)随机分为5组,分别为模型组、儿茶素低剂量组 $[25$ mg/(kg·d)]、儿茶素中剂量组 $[50$ mg/(kg·d)]、儿茶素高剂量组 $[100$ mg/(kg·d)]和卡托普利阳性对照组 $[15$ mg/(kg·d)],另外,同时设假手术组为正常对照。模型组和假手术组给予等体积的溶媒,各组连续给药2周。

1.4 检测指标及方法

1.4.1 大鼠血浆 Ang II、ALD 和 ANP 含量测定 末次给药2 h后,大鼠眼眶静脉丛取血(约 1.5 ml)

转入含有肝素的EP管中, $3\,000$ r/min离心 10 min,吸取上清血浆冷冻备用。Ang II、ALD和ANP检测步骤参照试剂盒说明书进行。

1.4.2 大鼠血流动力学的评价 眼眶取血完毕后,称取动物体重, 0.6% 戊巴比妥钠(60 mg/kg)腹腔注射麻醉大鼠,仰位固定在大鼠板上,分离右侧颈总动脉,插入预先充满肝素的聚乙烯管缓缓推进,使其通过主动脉瓣到达左心室(以舒张压达到负值为进入左心室的指标),结扎固定,连接压力换能器记录左室收缩压(left ventricular systolic pressure, LVSP)、左室舒张末压(left ventricular end-diastolic pressure, LVEDP)、左心室等容收缩期压力最大变化速率($+dp/dt_{max}$)和左室舒张期压力下降最大变化速率($-dp/dt_{max}$)。取3次结果以其平均值表示。

1.4.3 大鼠心脏重量指数和左心室重量指数测定 待左室收缩与舒张功能测定结束后,股动脉放血处死大鼠,分离心脏和左心室并称量,计算心脏和左心室重量指数。心脏重量指数=心脏重量/体重,左心室重量指数=左心室重量/体重。

1.5 统计学处理 采用SPSS 11.0软件进行分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间差异比较采用单因素方差分析和 t 检验。

2 结果

2.1 儿茶素治疗给药对心衰大鼠血流动力学的影响 与假手术组比较,模型组大鼠LVSP和 $\pm dp/dt_{max}$ 明显降低($P < 0.01$),LVEDP明显升高($P < 0.01$),提示模型组大鼠出现明显的心肌收缩以及舒张功能障碍;儿茶素(50 、 100 mg/kg)治疗给药能明显升高模型大鼠LVSP和 $\pm dp/dt_{max}$ ($P < 0.05$, $P < 0.01$),同时降低LVEDP($P < 0.01$),提示儿茶素能明显改善模型组大鼠紊乱的血流动力学,提高大鼠心肌收缩和舒张功能,见表1。

2.2 儿茶素治疗给药对心衰大鼠血浆 Ang II、ALD 和 ANP 含量的影响 与假手术组比较,模型组大鼠血浆中Ang II、ALD和ANP含量水平均明显升高($P < 0.01$);儿茶素(50 、 100 mg/kg)连续2周灌胃给药后能明显降低心衰大鼠血浆中Ang II、ALD和ANP的含量水平($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见表2。

2.3 儿茶素治疗给药对心衰大鼠心脏重量指数的影响 与假手术组比较,模型组大鼠全心重量指数和左心室重量指数均明显升高($P < 0.01$);儿茶素

表1 儿茶素治疗给药对心衰大鼠 LVSP、LVEDP、±dp/dt_{max}的影响(̄x ± s)

组别	假手术组	模型组	儿茶素低剂量组	儿茶素中剂量组	儿茶素高剂量组	卡托普利组	F 值
剂量 (mg/kg)	-	-	25	50	100	15	
大鼠数量 (只)	8	9	9	9	9	8	
LVSP (kPa)	18.9 ± 1.4	13.8 ± 0.7 ^{##}	14.5 ± 0.7	15.2 ± 1.2 [*]	15.8 ± 1.1 ^{**}	16.7 ± 0.8 ^{**}	16.437
LVEDP (kPa)	0.9 ± 0.2	4.7 ± 0.7 ^{##}	4.0 ± 0.3	3.6 ± 0.3 ^{**}	2.8 ± 0.5 ^{**}	2.4 ± 0.3 ^{**}	56.412
+ dp/dt _{max} (kPa/s)	627 ± 41	390 ± 33 ^{##}	433 ± 41	456 ± 58 [*]	497 ± 57 ^{**}	557 ± 43 ^{**}	18.283
- dp/dt _{max} (kPa/s)	587 ± 24	306 ± 29 ^{##}	335 ± 29	355 ± 36 [*]	385 ± 37 ^{**}	433 ± 53 ^{**}	42.406

与假手术组比较: ^{##}P < 0.01; 与模型组比较: ^{*}P < 0.05, ^{**}P < 0.01

表2 儿茶素治疗给药对心衰大鼠血浆 Ang II、ALD 和 ANP 含量的影响(̄x ± s)

组别	假手术组	模型组	儿茶素低剂量组	儿茶素中剂量组	儿茶素高剂量组	卡托普利组	F 值
剂量 (mg/kg)	-	-	25	50	100	15	
大鼠数量 (只)	8	9	9	9	9	8	
Ang II (pg/ml)	81.0 ± 15.1	163.2 ± 22.5 ^{##}	149.8 ± 8.3	138.9 ± 8.8 [*]	120.7 ± 10.9 ^{**}	110.8 ± 7.6 ^{**}	26.486
ANP (pg/ml)	341.1 ± 36.1	510.6 ± 36.8 ^{##}	470.3 ± 24.9 [*]	454.1 ± 22.8 ^{**}	433.5 ± 24.0 ^{**}	407.4 ± 40.2 ^{**}	20.656
ALD (ng/ml)	40.8 ± 12.4	87.0 ± 10.5 ^{##}	79.8 ± 6.3	72.7 ± 6.7 [*]	60.8 ± 5.4 ^{**}	55.8 ± 3.6 ^{**}	23.257

与假手术组比较: ^{##}P < 0.01; 与模型组比较: ^{*}P < 0.05, ^{**}P < 0.01

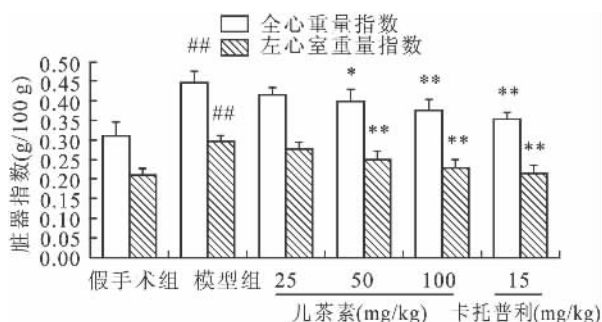


图1 儿茶素治疗给药对心衰大鼠全心和左心室重量指数影响(n = 8, 9, ̄x ± s)

与假手术组比较: ^{##}P < 0.01; 与模型组比较: ^{*}P < 0.05, ^{**}P < 0.01

(50、100 mg/kg) 治疗给药能明显降低全心重量指数和左心室重量指数 (P < 0.05, P < 0.01)。见图1。

3 讨论

儿茶素是黄烷醇类化合物,最初由茶叶中提取。研究^[7]表明儿茶素具有抗氧化、抗病毒、抑菌、抗肿瘤和降血糖等多种药理活性,此外也有文献^[5]报道儿茶素对动脉粥样硬化和高血压均有良好的治疗作用,提示儿茶素可能对心衰具有一定的疗效。

卡托普利是治疗心衰的一线药物^[8],临床推荐剂量为 150 mg/d,折算成大鼠等效剂量近似为 15 mg/(kg·d),在本研究中作为阳性对照药。目前常用的大鼠心衰模型主要有腹主动脉结扎法和化学药物诱导法^[6],前者通过外周循环阻力加大造成心

脏负荷增加,所导致症状与临床左、右心衰症状相似,此外该模型操作方便,重复性较好,故被广泛应用^[6,9]。心衰发生时血流动力学异常主要表现在 LVSP 降低、LVEDP 升高、±dp/dt_{max} 降低。本研究显示儿茶素(50、100 mg/kg)对心功能不全大鼠连续治疗给药2周后,能明显改善异常的血流动力学,提示儿茶素对心衰大鼠心肌收缩与舒张功能有良好的改善作用。

心衰发生的分子机制复杂,已知心功能不全时涉及多种神经内分泌系统功能紊乱,其中肾素-血管紧张素-醛固酮系统 (renin-angiotensin-aldosterone system, RAAS) 的过度活化发挥了重要作用^[10]。RAAS 活化时,Ang II 和 ALD 血浆含量明显升高。Ang II^[10]可增加细胞外基质聚集并降低心肌细胞可塑性,进而损伤心肌舒张功能,此外 Ang II 还通过调节基质金属蛋白酶表达促进心肌纤维化细胞增殖,诱发心肌纤维化过程,加剧心室肥大和心肌重构;ALD^[11]除通过水、钠储溜功能增加循环系统血容量并加重心室前负荷之外,还能上调胶原合成,促进心肌细胞纤维化。心脏在受到机械性牵拉下会反馈性分泌 ANP。ANP^[12]通过扩张血管和利尿作用,降低心室前后负荷,改善心功能,因此 ANP 的含量水平与心衰严重程度具有一定相关性。本研究显示儿茶素治疗给药能够明显降低心衰大鼠全心和左心室重量指数,下调血浆中 Ang II、ALD 和 ANP 的浓度水平,提示儿茶素可能是通过抑制 RAAS 过度活化来改善心衰大鼠的心肌功能。除 RAAS 之外,已

有多项研究^[13-15]证实交感神经系统亢进、氧化应激和炎症反应均参与心衰病理的进展过程中,而儿茶素也具有抗氧化和抗炎活性^[5],提示其对心衰的保护作用可能是通过作用多个环节共同实现的,这些机制有待进一步研究阐明。

综上所述,儿茶素治疗给药对实验性大鼠心衰具有良好的保护作用,提示其具有一定的临床应用前景。

参考文献

- [1] 程寅,冯媛媛.老年维吾尔族慢性心力衰竭患者N末端脑钠肽前体变化[J].安徽医科大学学报,2012,47(7):828-31.
- [2] 陈泗林.心脏再同步治疗慢性充血性心力衰竭[J].岭南心血管病杂志,2010,16(3):172-6.
- [3] Borghi C, Cosentino E R, Rinaldi E R, et al. Effect of zofenopril and ramipril on cardiovascular mortality in patients with chronic heart failure[J]. Am J Cardiol, 2013, 112(1):90-3.
- [4] Nilsson P. Antihypertensive efficacy of zofenopril compared with atenolol in patients with mild to moderate hypertension [J]. Blood Press Suppl, 2007, 2:25-30.
- [5] Cheng T O. All teas are not created equal: the Chinese green tea and cardiovascular health [J]. Int J Cardiol, 2006, 108(3):301-8.
- [6] 魏伟,吴希美,李元建.药理学实验方法学[M].4版.北京:人民卫生出版社,2010:897.
- [7] Rosen T. Green tea catechins: biologic properties, proposed mechanisms of action, and clinical implications [J]. J Drugs Dermatol, 2012, 11(11):e55-60.
- [8] 汪兵,吴继雄,王晓晨,等.慢性心力衰竭患者血清心肌肌钙蛋白I与心脏结构功能的关系及其对预后的影响[J].安徽医科大学学报,2013,48(6):652-5.
- [9] Scheuermann-Freestone M, Freestone N S, Langenickel T, et al. A new model of congestive heart failure in the mouse due to chronic volume overload [J]. Eur J Heart Fail, 2001, 3(5):535-43.
- [10] Sciarretta S, Paneni F, Palano F, et al. Role of the renin-angiotensin-aldosterone system and inflammatory processes in the development and progression of diastolic dysfunction [J]. Clin Sci (Lond), 2009, 116(6):467-77.
- [11] Deschamps A M, Spinale F G. Pathways of matrix metalloproteinase induction in heart failure: bioactive molecules and transcriptional regulation [J]. Cardiovasc Res, 2006, 69(3):666-76.
- [12] Richards A M. The natriuretic peptides in heart failure [J]. Basic Res Cardiol, 2004, 99(2):94-100.
- [13] Lympelopoulou A, Rengo G, Koch W J. Adrenergic nervous system in heart failure: pathophysiology and therapy [J]. Circ Res, 2013, 113(6):739-53.
- [14] Zablocki D, Sadoshima J. Angiotensin II and oxidative stress in the failing heart [J]. Antioxid Redox Signal, 2013, 19(10):1095-109.
- [15] Sikkeland L I, Dahl C P, Ueland T, et al. Increased levels of inflammatory cytokines and endothelin-1 in alveolar macrophages from patients with chronic heart failure [J]. PLoS One, 2012, 7(5):e36815.

The protective effects of Catechin on experimental rats model with heart failure

Zhang Qi, Hu Liqun, Yin Changsen, et al

(Dept of Senile Disease, The Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University, Institute of Cardiovascular Disease in Anhui Province, Hefei 230001)

Abstract Objective To investigate protection of Catechin on experimental rats model with heart failure. **Methods**

The rats with heart failure were induced by abdominal aortic stenosis. The therapeutic effects of catechin were evaluated by hemodynamics, indices of heart weight, and plasma levels of angiotensin II (Ang II), aldosterone (ALD) and atrial natriuretic peptide (ANP). **Results** The rats with heart failure showed hemodynamic disturbance, increased indices of heart weight, and increased levels of Ang II, ALD and ANP. However, after treatment of catechin 50, 100 mg/(kg·d) for 2 weeks, the hemodynamic disturbance was ameliorated. Indices of heart weight and levels of Ang II, ANP and ALD were all reduced significantly. **Conclusion** Catechin has obvious protective effect on rats with heart failure.

Key words Catechin; heart failure; angiotensin II; aldosterone; atrial natriuretic peptide