

·基础研究·

# 茶多酚对运动小鼠心肌钙离子、ATP酶及自由基代谢的影响

刘霞<sup>1</sup> 路新国<sup>1,2</sup>

**摘要** 目的:探讨茶多酚对运动小鼠心肌组织损伤的保护作用。方法:以小鼠力竭运动为模型,观察茶多酚对心肌组织钙离子(Ca<sup>2+</sup>)含量、钠泵(Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase)和钙泵(Ca<sup>2+</sup>-ATPase)活性、丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和总抗氧化能力(TAC)的影响。结果:力竭运动可引起小鼠心肌组织Ca<sup>2+</sup>和MDA含量显著升高,心肌组织Ca<sup>2+</sup>-ATPase、Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase、SOD、GSH-Px和T-AOC的显著下降,而茶多酚可抑制小鼠力竭运动后心肌Ca<sup>2+</sup>和MDA含量显著升高,抑制小鼠心肌Ca<sup>2+</sup>-ATPase、Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase、SOD、GSH-Px和TAC的显著下降。结论:茶多酚可减少力竭运动后自由基对心肌组织的攻击,具有保护力竭运动后心肌的功能和防止心肌损伤的作用。

**关键词** 茶多酚;心肌;自由基;三磷酸腺苷酶;钙离子;力竭运动

中图分类号:R54,R49 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2007)-12-1062-02

**Effect of tea polyphenols on the content of Ca<sup>2+</sup>, adenosine triphosphate activity and free radical metabolism of myocardium in mice after exhaustive exercise/LIU Xia, LU Xinguo//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2007, 22(12):1062—1063**

**Abstract Objective:** To study the protective function of tea polyphenols on myocardium in mice after exhaustive exercise. **Method:** After the model of exhaustive exercise was established, the effect of tea polyphenols to the content of Ca<sup>2+</sup> and MDA, Ca<sup>2+</sup>-ATPase, Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase, SOD, GSH-Px and TAC in rats' myocardium were observed. **Result:** Exhaustive exercise could strikingly step up the content of Ca<sup>2+</sup> and MDA, and significantly decreased Ca<sup>2+</sup>-ATPase, Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase, SOD, GSH-Px and TAC in mice's myocardium after exhaustive exercise. While tea polyphenols could prevent the content of Ca<sup>2+</sup> and MDA from setting up strikingly, and also prevented Ca<sup>2+</sup>-ATPase, Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase, SOD, GSH-Px and TAC from decreasing significantly in mice's myocardium after exhaustive exercise. **Conclusion:** Tea polyphenols can reduce the free radicals' attack to myocardium, protect the myocardial function and prevent the myocardial damage after exhaustive exercise.

**Author's address** Shanghai Traditional Chinese Medical University, 201203

**Key words** tea polyphenols; myocardium; free radical; adenosine triphosphate; exhaustive exercise

力竭运动导致心肌自由基代谢增强、钙超载从而导致心肌损伤可能是运动性疲劳产生的主要原因之一。茶多酚(tea polyphenols)具有清除抗氧化、保护生物膜及调节组织Ca<sup>2+</sup>含量等广泛的生物学作用。本研究观察了补充茶多酚对小鼠力竭运动后心肌组织Ca<sup>2+</sup>含量、ATP酶活性及自由基代谢的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物及分组

健康雄性ICR(CD-1)小鼠30只,5周龄,体重31±1g。由扬州大学比较实验动物中心提供。按体重大小随机分为A、B、C三组,A组为安静对照组,B组为力竭运动组,C组为力竭运动加茶多酚组。每组10只,各组分笼饲养,每笼5只,国家标准啮齿类动物喂养,各组小鼠每天自由饮食饮水,C组灌服茶多

酚1次/d,剂量为300mg/kg BW。A、B组小鼠每日灌服1ml的双蒸水,持续7d,室温22±3℃,相对湿度为55%—75%。

### 1.2 主要试剂

茶多酚为上海复旦大学提供,其余均为分析纯试剂,试剂用双蒸水配置,MDA、SOD、GSH-Px、TAC、ATP酶测试盒和总蛋白量测试盒均为南京建成生物工程研究所产品。

### 1.3 力竭运动动物模型制作

第8天,无训练的B、C两组小鼠在100cm×60cm×70cm玻璃游泳槽中游泳,水深30cm,水温

1 上海中医药大学,上海市蔡伦路1200号,201203

2 通讯作者:路新国(扬州大学旅游烹饪学院,225001)

作者简介:刘霞,女,硕士,助教

收稿日期:2007-03-12

31±1℃。小鼠游泳力竭后迅速取出断头取材。动物力竭判断标准参照 Thomas 等<sup>[1]</sup>报道文献。小鼠平均力竭时间 B 组为 250.08±29.84min, C 组为 327.21±34.25min, 两组比较有显著性差异 ( $P<0.05$ )。

#### 1.4 实验方法

**1.4.1 样本采集:**小鼠力竭运动后立即断头处死,并迅速取出心脏,切割两部分,一份用滤纸稍吸干后,用分析天平称重,纱布包裹,用试剂纸标记下每份重量,放于-20℃冰箱保存待测;剩余部分滤纸吸干后纱布包裹,于液氮中封冻备用。正常对照组也以同样方式收集标本。

**1.4.2 心肌中 Ca<sup>2+</sup>含量的测定<sup>[2]</sup>:**取出冰箱中已准确称取的冷冻心肌置于 10ml 刻度试管中,加硝酸-高氯酸(4:1)混合液,在 100℃ 水浴中加热消化,至溶液呈无色或淡黄色,待酸挥发完和试管变凉后,用 3%硝酸定容至 10ml 后,用原子吸收分光光度计测定。同时测定空白。计算公式:

$$X=(C-C_0) \times V/m$$

X:样品中钙的含量(mg/kg), C:测定用样品中钙的浓度(μg/ml), C<sub>0</sub>:试剂空白液中元素的浓度(μg/ml), m:样品的湿重质量(g)。

**1.4.3 其他指标:**心肌 Ca<sup>2+</sup>-ATP 和 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶活性采用酶促反应定磷法测定,MDA 采用硫代巴比妥酸(TBA)缩合法测定,SOD 采用羟胺法测定,GSH-Px 和 TAC 采用比色法测定。测得的 ATP 酶、MDA、SOD、GSH-Px 和 TAC 均用蛋白含量修正,蛋白定量参照 Macart 的方法<sup>[3]</sup>采用考马斯亮兰法测定。以上指标均采用上海产的 752 型紫外光栅分光光度计完成。

#### 1.5 统计学分析

所有数据处理均用 SPSS11.0 统计分析,数据以均数±标准差表示。两两比较采用 SNK-q 检验,显著性水平为  $P<0.05$ ,非常显著性水平为  $P<0.01$ 。

## 2 结果

### 2.1 茶多酚对小鼠力竭运动后心肌 Ca<sup>2+</sup>含量和 Ca<sup>2+</sup>-ATP 酶、Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶活性的影响

见表 1, B 组小鼠力竭运动后心肌组织中 Ca<sup>2+</sup>含量明显高于 A 组 ( $P<0.05$ ), Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶和 Ca<sup>2+</sup>-ATP 酶活性极显著地低于 A 组 ( $P<0.01$ ); 而 C 组小鼠力竭运动后心肌中 Ca<sup>2+</sup>含量明显低于 B 组 ( $P<0.05$ ), Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶和 Ca<sup>2+</sup>-ATP 酶活性明显高于 B 组 ( $P<0.05$ ), 与 A 组相比差异无显著性,表明力竭运动能使心肌组织中钙含量显著增加, Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶和 Ca<sup>2+</sup>-ATP 酶活性显著下降, 而茶多酚可降低力

竭运动后心肌组织中钙含量, 提高 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶和 Ca<sup>2+</sup>-ATP 酶活性。

**表 1 茶多酚对力竭运动小鼠心肌 Ca<sup>2+</sup>含量和 Ca<sup>2+</sup>-ATP 酶、Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶活性影响** ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	Ca <sup>2+</sup> 含量 (μg/g)	Ca <sup>2+</sup> -ATP 酶 (μmol·mg <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup> )	Na <sup>+</sup> -K <sup>+</sup> -ATP 酶 (μmol·mg <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup> )
A 组	25.51±8.03	4.87±0.50	6.32±0.60
B 组	32.88±8.01 <sup>①</sup>	4.06±0.82 <sup>②</sup>	5.59±0.54 <sup>②</sup>
C 组	24.88±7.00 <sup>③</sup>	4.54±0.39 <sup>③</sup>	6.05±0.47 <sup>③</sup>

与 A 组相比:① $P<0.05$ , ② $P<0.01$ ; ③与 B 组相比  $P<0.05$

### 2.2 茶多酚对小鼠力竭运动后心肌 MDA、SOD、GSH-Px、T-AOC 的影响

见表 2, B 组小鼠力竭运动后心肌组织中 MDA 含量极显著地高于 A 组 ( $P<0.01$ ), SOD 和 GSH-Px 活性极显著地低于 A 组 ( $P<0.01$ ), T-AOC 显著低于 A 组 ( $P<0.05$ ); 而 C 组与 B 组相比, 心肌组织 MDA 含量显著下降 ( $P<0.05$ ), GSH-Px 活性显著提高 ( $P<0.05$ ), SOD 活性和 T-AOC 极显著提高 ( $P<0.01$ ), 与 A 组相比差异无显著性意义。表明力竭运动能使心肌组织自由基代谢增强, 过氧化水平提高, 而茶多酚可拮抗力竭运动后心肌组织中脂质过氧化水平的提高。

**表 2 茶多酚对力竭运动小鼠心肌 MDA、SOD、GSH-Px、T-AOC 的影响** ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	MDA (nmol/mg)	SOD (U/mg)	GSH-Px (U/mg)	T-AOC (U/mg)
A 组	4.93±0.23	43.52±4.88	11.78±1.57	0.31±0.07
B 组	5.45±0.34 <sup>②</sup>	31.52±4.80 <sup>②</sup>	9.72±1.03 <sup>②</sup>	0.24±0.05 <sup>①</sup>
C 组	5.12±0.18 <sup>③</sup>	39.69±5.16 <sup>④</sup>	11.05±1.39 <sup>③</sup>	0.30±0.06 <sup>③</sup>

与 A 组相比① $P<0.05$ , ② $P<0.01$ ; 与 B 组相比③ $P<0.05$ , ④ $P<0.01$

## 3 讨论

小鼠力竭运动时机体组织自由基生成增多, 而自由基化学活性极高, 能与多种生物分子发生反应, 尤其是攻击生物膜的不饱和脂肪酸, 发生脂质过氧化, 抗氧化酶活性下降<sup>[4]</sup>。本研究发实力竭运动后小鼠心肌组织中 MDA 含量极显著地升高, SOD 和 GSH-Px 活性极显著地下降, T-AOC 明显下降。其机制可能是, 无训练小鼠缺乏对突然进行的大负荷运动的适应能力, 体内大量生成自由基, 心肌在长期抗自由基过程需消耗大量机体内抗自由基系统而使其抗氧化能力减弱。

心肌损伤机制之一就是引起心肌组织钙超载<sup>[5]</sup>。Ca<sup>2+</sup>-ATPase 是生物膜上一种重要的酶, 其功能是将细胞内的 Ca<sup>2+</sup>主动运转至细胞外, 使之处于较低水平, 维持钙稳态。Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 对自由基非常敏感, 此酶失活成为 Ca<sup>2+</sup>内流的主要因素<sup>[6]</sup>。本研究发实力竭运动后小鼠心肌组织中 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 和 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 活性均有极显著性下降, 钙含量明

(下转 1086 页)