

丹宁酸预处理对失血性休克大鼠心血管功能的影响

周学武 廖自福 刘良明

【摘要】 目的 探讨丹宁酸预处理对失血性休克大鼠心血管功能的影响。**方法** SD 大鼠随机分为休克组和丹宁酸预处理组。①在体实验：于放血前 10 min 静脉注射丹宁酸 5 mg/kg，放血至平均动脉压(MAP)达 40 mm Hg(1 mm Hg=0.133 kPa)维持 120 min 造成失血性休克模型，观察两组大鼠休克前及休克 180 min 内 MAP 及心肌收缩功能；另外选择大鼠于制模后回血 60、120、180 min 时静脉给予去甲肾上腺素(NE)，观察血管反应性的变化。②离体实验：休克后取心脏，固定于离体心脏灌流系统，维持灌注压在 100 mm Hg，观察丹宁酸预处理对失血性休克大鼠心肌收缩功能的作用。**结果** ①在体实验显示，与休克组比较，丹宁酸预处理组 MAP 于 60 min 和 150 min、左心室收缩压(LVSP)于 60 min 时显著升高；心率(HR)于 120 min 时明显减慢，左心室舒张期末压(LVEDP)于休克时明显下降，血管反应性于 120 min 时显著改善($P < 0.05$)。②离体实验显示，与休克组比较，丹宁酸预处理组 HR 于 90 min 时显著减慢，左室内压上升最大速率($+dp/dt \max$)于 10 min 和 20 min 时、左室内压下降最大速率($-dp/dt \max$)于 10 min 时明显增加($P < 0.05$)。**结论** 丹宁酸预处理对失血性休克大鼠心血管功能有一定程度的改善作用。

【关键词】 丹宁酸；失血性休克；大鼠；心血管功能

Effects of tannic acid pretreatment on cardiovascular function during hemorrhagic shock in rats ZHOU Xue-wu, LIAO Zi-fu, LIU Liang-ming. State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Second Department, Research Institute of Surgery, Daping Hospital, the Third Military Medical University, Chongqing 400042, China

【Abstract】 Objective To investigate the effects of tannic acid pretreatment on cardiovascular function during hemorrhagic shock in rats. **Methods** Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into two groups of shock and tannic acid pretreatment+shock. ①In vivo experiment: the model of hemorrhagic shock in rats was reproduced by bleeding to 40 mm Hg (1 mm Hg=0.133 kPa) being maintained for 120 minutes. Tannic acid in the dosage of 5 mg/kg was injected intravenously 10 minutes before hemorrhagic shock in tannic acid pretreatment+shock group. The mean arterial pressure (MAP), myocardial contractility and vascular reactivity were measured before hemorrhagic shock and at 180 minutes after hemorrhagic shock. In another experiment, the rats subjected to hemorrhagic shock and blood reinfusion were injected with norepinephrine (NE) intravenously at 60, 120 and 180 minutes, and the vascular reactivity was observed. ②In vitro experiment: the heart was harvested after shock and fixed on a Langendorff system. The perfusion pressure was maintained at 100 mm Hg. The effects of tannic acid pretreatment on myocardial contractility was observed. **Results** ①In vivo experiment showed that tannic acid pretreatment significantly increased MAP at 60 minutes and 150 minutes, and left ventricular systolic pressure (LVSP) at 60 minutes, and the heart rate was obviously slowed at 120 minutes, and left ventricular end diastolic pressure (LVEDP) was lowered (all $P < 0.05$). The vascular reactivity was significantly improved at 120 minutes in tannic acid pretreatment+shock group compared with shock group ($P < 0.05$). ②In vitro experiment proved that tannic acid pretreatment significantly slowed heart rate at 90 minutes as well as increased $+dp/dt \max$ at 10 minutes and 20 minutes and $-dp/dt \max$ at 10 minutes (all $P < 0.05$). **Conclusion** Pretreatment with tannic acid improves cardiovascular function following hemorrhagic shock to some extent in rats.

【Key words】 tannic acid; hemorrhagic shock; rat; cardiovascular function

丹宁酸是一种存在于植物中的多酚，具有螯合铁离子的作用^[1]。近年来的体外细胞培养研究表明，丹宁酸有抗炎作用，其机制包括清除自由基、抗氧化活性^[2]和抑制炎症介质的表达^[3]。丹宁酸还是一

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2009.07.014

基金项目：国家重点基础研究发展计划(973 计划)项目(2005CB522601)

作者单位：400042 重庆，第三军医大学大坪医院野战外科研究所二室，创伤、烧伤和复合伤国家重点实验室

Email:zhouxw916@yahoo.com.cn

种聚腺苷二磷酸核糖基水解酶的抑制剂^[4]，在氧化应激起关键性作用的缺血/再灌注(I/R)损伤中具有细胞保护作用^[5]。由于 I/R 损伤是失血性休克的主要发病机制，因此推测丹宁酸可能对失血性休克的病理生理变化有一定防治作用。为此，我们观察了丹宁酸预处理对失血性休克大鼠心血管功能的影响，报告如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物及试剂：健康 SD 大鼠，雌雄不拘，由

第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心提供[SYXK(渝)2007-0011]。实验前 12 h 禁食,自由饮水。戊巴比妥、丹宁酸购自美国 Sigma 公司;重酒石酸去甲肾上腺素(NE)购自上海禾丰制药有限公司,肝素钠购自江苏万邦生化医药股份有限公司。其他试剂均为市售品、分析纯级。戊巴比妥以生理盐水配制成 30 g/L,丹宁酸以生理盐水配制成 5 g/L,NE 以生理盐水配制成 3 mg/L。K-H 液配方:NaCl 118 mmol/L, KCl 4.7 mmol/L, NaHCO₃ 25 mmol/L, KH₂PO₄ 1.03 mmol/L, MgSO₄ · 7H₂O 0.45 mmol/L, CaCl₂ 2.5 mmol/L, 葡萄糖 11.1 mmol/L, pH 值 7.4; 4 ℃ 保存。

1.2 在体实验

1.2.1 平均动脉血压(MAP)和心肌收缩功能:SD 大鼠 30 只,雌雄不拘,体重(218.5±15.8)g,按随机数字表法分成休克组(15 只)和丹宁酸预处理组(15 只)。以 30 g/L 戊巴比妥腹腔注射麻醉大鼠后,左侧股动脉插管,连接三通和 U 型水银血压计,用于记录 MAP 和放血;左侧股静脉插管用于给药和回血。静脉输注肝素钠 500 U/kg 抗凝。右侧颈总动脉插管至左心室,连接 SP844 型压力传感器和 PowerLab 多道生理记录仪,用 Chart 4 分析软件测定心率(HR)、左心室收缩压(LVSP)、左心室舒张期末压(LVEDP)和左室内压上升或下降最大速率(±dp/dt max)。于 10 min 内放血使 MAP 下降达 40 mm Hg (1 mm Hg=0.133 kPa)维持 120 min,回血,完成失血性休克模型制备;丹宁酸预处理组于放血前 10 min 静脉输注丹宁酸 5 mg/kg。按文献[6]方法记录两组动物休克前、休克后 180 min 内不同时间点的 MAP 和心肌收缩功能变化。

1.2.2 血管反应性:SD 大鼠 23 只,雌雄不拘,体重(221.1±18.2)g,按随机数字表法分成休克组(12 只)和丹宁酸预处理组(11 只)。失血性休克模型制备方法同前,两组分别在回血后 60、120、180 min 静脉给予 NE 3 μg/kg,观察血压升高幅度^[7]。

1.3 心肌收缩功能离体实验:SD 大鼠 30 只,雌雄不拘,体重(227.7±11.4)g,按随机数字表法分成休克组(15 只)和丹宁酸预处理组(15 只)。失血性休克模型制备方法同前。迅速开胸,摘取心脏,置于 4 ℃ K-H 溶液中,修剪心脏周围组织;主动脉插入心脏套管,固定于离体心脏灌流系统,用体积分数为 95% O₂ 和 5% CO₂ 饱和的 K-H 溶液 37 ℃ 下进行灌流,灌流压维持在 100 mm Hg;左心房插管至左心室,连接压力传感器和 PowerLab 多道生理记录

仪,测定 HR、LVSP、LVEDP 和 ±dp/dt max;待稳定 20~30 min 见左心室收缩曲线平稳后,按文献[8]方法开始记录各指标的变化。

1.4 统计学分析:实验数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较用 *t* 检验, *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 在体 MAP 和心肌收缩功能的变化(图 1):丹宁酸预处理组回血后各时间点 MAP 均较休克组有所升高,并于 60 min、150 min 时显著高于休克组(*P*均<0.05);HR 有减慢趋势,于 120 min 时显著低于休克组(*P*<0.05);休克时和回血后 LVSP 较休克组有所升高,并于 60 min 时显著高于休克组(*P*<0.05)。丹宁酸预处理组 LVEDP 于休克时显著低于休克组(*P*<0.05),回血后虽仍低于休克组,但差异无统计学意义;两组间 ±dp/dt max 在休克时和回血后各时间点比较差异均无统计学意义。

2.2 在体血管反应性的变化(表 1):休克前,丹宁酸预处理组与休克组间 MAP 比较差异无统计学意义。失血性休克模型完成后,丹宁酸预处理组静脉输注 NE 前后的 MAP 变化幅度均高于休克组,并于 120 min 时显著高于休克组(*P*<0.05)。

表 1 两组大鼠给予 NE 前后 MAP 的变化比较($\bar{x} \pm s$)

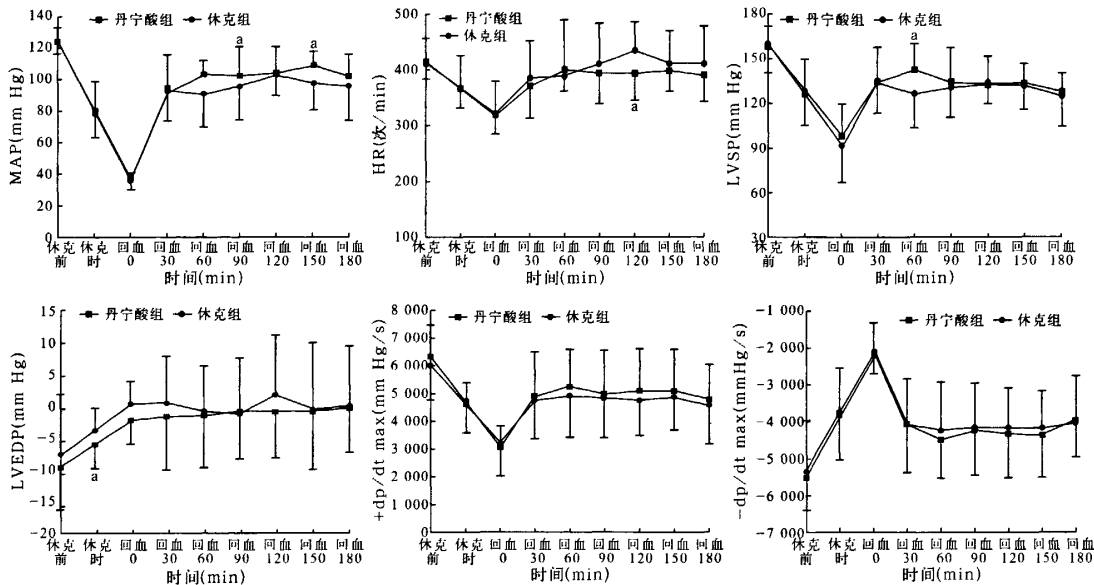
组别	动物数	休克前	MAP(mm Hg)		
			回血 60 min	回血 120 min	回血 180 min
休克组	12	118.2±8.2	23.9±12.0	24.2±10.6	25.6±11.9
丹宁酸组	11	118.5±10.1	27.1±10.7	33.4±9.3*	32.6±12.1

注:与休克组比较,**P*<0.05

2.3 离体心肌收缩功能变化(表 2):离体灌注心脏平衡后,丹宁酸预处理组 HR 有减慢趋势,于 90 min 时显著低于休克组(*P*<0.05);两组间 LVSP、LVEDP 比较差异无统计学意义;丹宁酸预处理组 +dp/dt max 于 10 min、20 min 时显著高于休克组(*P*均<0.05),30 min 后呈下降趋势,与休克组比较差异无统计学意义;丹宁酸预处理组 -dp/dt max 于 10 min 时显著高于休克组(*P*<0.05),20 min 后逐渐下降,与休克组比较差异无统计学意义。

3 讨论

本课题组前期的研究结果已经显示,小容量高渗氯化钠-醋酸钠溶液可改善失血性休克大鼠心肌收缩功能,表现为 MAP 显著升高,HR 加快,LVSP 和 ±dp/dt max 增加^[8];聚腺苷二磷酸核糖基聚合酶抑制剂 3-氨基苯甲酰胺可显著增加失血性休克



注:与休克组比较,* $P < 0.05$

图 1 两组大鼠在体 MAP 和心肌收缩功能指标变化比较

表 2 两组大鼠离体灌流后心肌收缩功能指标变化比较($\bar{x} \pm s, n=15$)

指标	组别	灌注 10 min	灌注 20 min	灌注 30 min	灌注 60 min	灌注 90 min	灌注 120 min
HR(次/min)	休克组	68.2±31.1	70.1±30.1	69.1±37.6	69.3±48.0	69.3±21.0	61.1±26.7
	丹宁酸组	70.8±34.1	67.1±35.6	60.3±23.4	63.5±24.0	53.6±17.7 ^a	55.1±28.4
LVSP(mm Hg)	休克组	82.5±21.5	81.0±25.1	78.9±27.1	78.9±29.3	65.8±25.5	70.3±26.7
	丹宁酸组	77.4±25.1	83.0±26.9	83.0±28.3	75.0±26.6	67.2±24.7	68.3±21.2
LVEDP(mm Hg)	休克组	21.8±11.0	22.5±9.9	22.4±10.1	27.0±12.9	26.2±14.2	24.8±16.9
	丹宁酸组	18.3±8.9	22.5±10.4	23.5±11.7	24.7±13.5	25.5±14.7	27.9±14.6
+dp/dt max(mm Hg/s)	休克组	790.8±216.3	777.7±229.5	760.0±230.2	693.8±275.9	603.1±274.9	681.2±228.0
	丹宁酸组	1 215.4±603.6 ^a	1 154.4±615.4 ^a	817.8±432.1	696.9±328.2	578.1±273.4	592.6±314.8
-dp/dt max(mm Hg/s)	休克组	-343.7±109.6	-437.4±228.9	-370.9±141.0	-347.1±166.3	-257.7±129.3	-290.9±132.8
	丹宁酸组	-562.5±323.8 ^a	-441.1±280.7	-386.5±211.6	-329.7±158.7	-264.7±122.7	-259.0±122.1

注:与休克组比较,* $P < 0.05$

大鼠静脉注射 NE 后的 MAP 升高幅度,改善血管低反应性,对失血性休克有良好的治疗作用^[7]。本研究在体实验表明,丹宁酸预处理组 MAP 较休克组有所升高,表明丹宁酸预处理对失血性休克大鼠心血管功能有一定程度的改善作用。从心肌收缩功能指标的变化分析,丹宁酸预处理组 LVSP 有所升高,LVEDP 低于休克组,提示丹宁酸预处理对左心室收缩和舒张功能有改善作用。离体实验发现,丹宁酸预处理有减慢失血性休克大鼠 HR 的作用,与在体实验结果一致;丹宁酸预处理组 +dp/dt max 于灌注早期显著高于休克组,表明丹宁酸预处理对失血性休克大鼠心肌收缩和舒张速率变化有短时间的改善作用。在体心肌收缩功能的变化与离体心肌收

缩功能的变化不尽一致,其原因可能与在体心脏受前、后负荷的影响有关。丹宁酸预处理组静脉输注 NE 前后 MAP 的变化幅度高于休克组,表明丹宁酸预处理防止了失血性休克大鼠血管收缩反应性的降低,改善了血管反应性。

丹宁酸有强烈的螯合铁离子、清除自由基、抗氧化损伤及抗炎作用,这可能是其改善失血性休克大鼠心血管功能的主要原因。丹宁酸抑制聚腺苷二磷酸核糖基水解酶的活性主要源于其强烈的非特异性蛋白结合能力,因此特异性差;丹宁酸的膜通透性差,抑制聚腺苷二磷酸核糖基水解酶的效能低,对完整细胞内的聚腺苷二磷酸核糖基水解酶功能无明显抑制作用,所以它对细胞的保护作用有限^[9]。这可能

是无论在体还是离体实验,丹宁酸对失血性休克大鼠心血管功能仅有一定程度改善作用的原因。

参考文献

- [1] Lopes GK, Schulman HM, Hermes-Lima M. Polyphenol tannic acid inhibits hydroxyl radical formation from Fenton reaction by complexing ferrous ions. *Biochim Biophys Acta*, 1999, 1472 (1-2):142-152.
- [2] Erdelyi K, Kiss A, Bakondi E, et al. Gallotannin inhibits the expression of chemokines and inflammatory cytokines in A549 cells. *Mol Pharmacol*, 2005, 68(3):895-904.
- [3] Lee SJ, Lee IS, Mar W. Inhibition of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 activity by 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-beta-D-glucose in murine macrophage cells. *Arch Pharm Res*, 2003, 26(10):832-839.
- [4] Bakondi E, Bai P, Szabó EE, et al. Detection of poly(ADP-ribose) polymerase activation in oxidatively stressed cells and tissues using biotinylated NAD substrate. *J Histochem*

Cytochem, 2002, 50(1):91-98.

- [5] Ying W, Seigny MB, Chen Y, et al. Poly(ADP-ribose)glycohydrolase mediates oxidative and excitotoxic neuronal death. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(21):12227-12232.
- [6] 周学武, 胡德耀, 刘良明. 不同组方的高渗氯化钠-醋酸钠溶液对创伤失血性休克大鼠心肌收缩功能和动脉血气的影响. *中国危重病急救医学*, 2001, 13(6):358-361.
- [7] 周学武, 刘建仓, 廖自福, 等. 腺苷二磷酸核糖基聚合酶在大鼠失血性休克后血管低反应性发生中的作用. *中国危重病急救医学*, 2008, 20(3):148-150.
- [8] 张世玲. 离体 Langendorff 心脏灌流法//徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 986-987.
- [9] Lu XC, Massuda E, Lin Q, et al. Post-treatment with a novel PARG inhibitor reduces infarct in cerebral ischemia in the rat. *Brain Res*, 2003, 978(1-2):99-103.

(收稿日期: 2009-01-07 修回日期: 2009-05-25)

(本文编辑: 李银平)

• 启事 •

第二届首都急诊高峰论坛征文通知

由首都医科大学急诊医学系主办的第二届首都急诊高峰论坛暨危重病急救与急救技术培训班(国家级继续教育项目, 项目编号: 2009-10-00-015, 授予国家 I 类继续教育学分 10 分)将于 2009 年 9 月 3—6 日在北京国际会议中心召开。本次会议将邀请全国知名的急诊急救领域专家做专题报告, 同时诚邀全国各医院(含港、澳、台)从事急诊医学、院前急救、危重症监护的专业人员; 各社区、卫生站、急救点从事相关专业的医务人员; 各医学院校从事急诊、急救基础研究和临床教学的有关人员以及院前急救医务人员参加会议。届时, 经评选的优秀论文将在大会上进行交流。现将征文有关事项通知如下。

征文内容: 急诊医学管理模式、急诊医疗服务体系建设、急诊医学教育等方面的经验与体会; 急诊、急救的质量控制与管理; 急危重症监护与救治技术、多器官功能衰竭与器官功能支持技术; 心、肺、脑复苏的基础和临床研究; 急诊的新技术、新药物、新业务及新经验交流; 猝死、溺水、触电、中暑等急症救治与处置; 各种中毒(一氧化碳中毒、药物、农药、有害气体)的救治与进展; 脓毒症的救治经验及进展; 各种创伤救治的基础研究、临床救治; 儿科急危重症的诊治进展; 灾难医学与院前急救; 中西医结合治疗在急危重症的应用; 急救护理经验介绍; 社区医疗与急诊、急救; 社区科研设计与论文撰写。

征文要求: ①来稿要求未在国内外刊物上正式发表过; ②来稿应有 400 字摘要 1 份, 摘要包括目的、材料和方法、结果、结论 4 个部分。Word 格式、A4 纸打印。题目: 黑体、小二号字; 正文: 楷体、小四号字, 其中“目的”、“材料和方法”、“结果”、“结论”用黑体, 字号不变; 单位与作者: 楷体、五号字。③投稿时请将电子版发到 Email: zuodongjing@yahoo.com.cn, 或将纸质稿件邮寄到北京市朝阳区工体东路 8 号北京朝阳医院急诊科 左冬晶收, 邮编: 100020, 电话: 13581876290。

截稿日期: 2009 年 8 月 18 日。

(第二届首都急诊高峰论坛组委会 首都医科大学急诊医学系)

第四次全国中毒与危重症救治学术会议征文通知

为了提高我国中毒与危重症的救治水平, 认真总结交流近年来在临床经验和学术研究成果, 经中国毒理学会批准, 中国毒理学会中毒与救治专业委员会第四次全国中毒与危重症救治学术会议定于 2010 年 3 月在广东省深圳市召开, 届时将有我国中毒与危重症救治方面的专家作专题报告介绍中毒与危重症救治方面的最新进展。现将征文内容通知如下。

征文内容: ①各种农药、药物、重金属、有害气体等中毒救治的基础和临床研究; ②心、肝、肾、呼吸等多器官功能衰竭的救治; ③人工气道管理与呼吸机的应用; ④危重病各种监测技术和经验交流; ⑤急危重病救治的新技术、新药物及新方法; ⑥中毒与危重症救治中的组织管理及体会; ⑦中毒与危重症的院前急救、现场救治及转运; ⑧中毒性疾病的检测与监控; ⑨中毒、急危重病救治护理经验介绍; ⑩血液净化在中毒及危重症中的应用; ⑪中毒及危重症患者的早期营养支持。

征文要求: 文章请用稿纸书写或打印, 加盖公章或介绍信, 来稿一律不退, 请自留底稿; 全文字数 3 000 字以内, 并附 300~500 字摘要, 同时附电子版。

稿件截止日期: 2010 年 1 月 28 日, 以邮戳为准, 同时将论文电子版发至 Email: zww-5@163.com。

稿件邮寄地址: 广东省深圳市宝安区宝城 4 区龙井二路 118 号 深圳市宝安区人民医院急诊科 张文武收, 邮编: 518101; 电话: 0755-27880712; 手机: 139234539690。

(中国毒理学会中毒与救治专业委员会)