

网络出版时间: 2019-1-11 14:06 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.r.20190109.1117.021.html>

◇ 药学研究 ◇

映山红花总黄酮对大鼠心肌细胞收缩性的影响及其机制

孙晓青, 陈志武

摘要 目的 探讨映山红花总黄酮(TFR)对大鼠心肌细胞收缩性的影响及其可能机制。方法 利用图像分析系统观察原代培养新生大鼠心肌细胞收缩幅度及收缩频率的变化,并用钙离子成像系统测定细胞内游离的 Ca^{2+} 含量。结果 10、100 nmol/L 人尾加压素 II (hU II) 显著加快心肌细胞收缩频率,10 nmol/L hU II 可增强心肌细胞收缩幅度,但 100 nmol/L hU II 却降低心肌细胞收缩幅度;TFR 300 mg/L 可显著地减慢大鼠心肌细胞收缩频率和增强心肌细胞的收缩幅度,TFR 在 33.3 ~ 300 mg/L 范围内,可明显地抑制 100 nmol/L hU II 诱导的心肌细胞收缩频率的增快、收缩幅度的降低及细胞内游离的 Ca^{2+} 含量的增加。结论 TFR 可减慢大鼠心肌细胞收缩频率,增强其收缩性,其作用可能与降低心肌细胞内游离的 Ca^{2+} 含量有关。

关键词 心肌细胞;收缩性;映山红花总黄酮;尾加压素 II; Ca^{2+} 含量

中图分类号 R 965

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2019)02-0267-05
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2019.02.021

尾加压素 II (urotensin II, U II) 最初是从硬骨鱼垂体腺中分离出来的一种环形结构调节肽,人尾加压素 II (human U II, hU II) 含有 11 个氨基酸,主要表达在心血管系统,越来越多的研究^[1-2]表明由 hU II 及其受体 (UT 受体) 组成的 urotensin 系统对机体心血管生理功能起着重要的调节作用。映山红花,系杜鹃科植物,在我国具有广泛的分布,是一种重要的中药资源。映山红花总黄酮 (total flavones of rhododendron, TFR) 系从映山红花中提取的黄酮类有效部位,其主要成分为槲皮素、金丝桃苷及芦丁等化合物^[3]。课题组前期研究表明 TFR 能够抗大鼠心肌缺血性损伤^[4],并抑制心肌梗死后心室重构^[5],但不清楚 TFR 是否通过直接影响心肌细胞的收缩性来发挥抗心肌缺血性损伤作用。该研究观察了

TFR 对体外培养的新生大鼠心肌细胞收缩性的影响,并探讨其作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物 1 d 龄 SPF 级新生 SD 大鼠 雌雄各半 共 64 只 体重 5.5 ~ 6.5 g,由安徽医科大学实验动物中心提供。动物饲养于安静、通风良好和有空气过滤系统的环境中,12 h 日光灯昼夜循环,保持实验室内温度 $(22 \pm 2)^\circ\text{C}$ 相对湿度 $(50 \pm 5)\%$ 。

1.2 主要试剂 TFR 购自合肥合源医药科技有限公司,黄色粉末,总黄酮质量分数达 85% 以上,实验前用生理盐水配成所需浓度;hU II、II 型胶原酶、TRITON X-100、钙荧光探针 Fluo-8 AM 购自美国 Sigma 公司;DMEM 培养基购自美国 Hyclone 公司;胎牛血清购自美国 BI 公司;胰酶购自维森特生物技术(南京)有限公司;FITC 标记的山羊抗鼠荧光二抗购于美国 Proteintech 公司; α -横纹肌肌动蛋白 (α -Sarcomeric actin, α -SCA) 单克隆抗体购自武汉博士德生物有限公司;DAPI 染色液购自上海碧云天生物技术有限公司;其余试剂为国产分析纯。

1.3 新生大鼠心肌细胞的培养与鉴定 新生大鼠 (每次 10 只) 固定于超净工作台上,用 75% 酒精消毒其皮肤,打开胸腔取出心脏,在盛有 PBS 缓冲液的平皿中清洗之后,剪掉心房,把心室放在另一平皿中,用 PBS 缓冲液反复清洗 3 次;将一定数目的心室放进青霉素小瓶中,将心脏剪成 $1\text{ mm} \times 1\text{ mm} \times 1\text{ mm}$ 的碎块;将心肌组织的碎块,加入 0.25% 胰酶和 0.1% II 型胶原酶 (1:1) 的混合消化液,反复吹打 3 min 后盖紧,放入温箱中孵育 5 min,取出后再反复吹打 3 min,待自然沉降后弃去上清液;剩余沉淀再加入 2 ml 消化液,反复吹打 3 min 后放入 37°C 温箱中消化 8 min,静置后用吸管将上清液移入 10 ml 离心管中,剩余沉淀用同样条件及方法继续消化;每次消化产物以 1 000 r/min 离心 8 min,轻轻用吸管弃去上清液后,将细胞重悬于含 15% 胎牛血清的 DMEM 培养液,细胞悬液用 200 目铜网过滤后接种在培养皿; 37°C 、5% CO_2 培养箱中孵育 1 h 后,轻

2018-09-19 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81374002)

作者单位:安徽医科大学药理学教研室,合肥 230032

作者简介:孙晓青,女,硕士研究生;

陈志武,男,教授,博士生导师,责任作者,E-mail:

chpharmzw@163.com

轻将细胞悬液吸出,以 4×10^5 个/ml 的密度接种在 24 孔培养板上,置培养箱中培养。第 2 天更换培养液,并用含 $10 \mu\text{mol/L}$ 5-溴脱氧尿嘧啶的培养液维持 48 h,以抑制非心肌细胞的增殖。以后每 2 d 换液 1 次。① 形态学观察:倒置显微镜下观察心肌细胞的大小、形态、搏动情况、生长特性及排列方式等;② 取无菌的小盖玻片放入 24 孔板内,取培养的心肌细胞加入到 24 孔板,进行培养,制成细胞爬片。等细胞培养到第 3 天弃去培养液,用预冷的 PBS 缓冲液清洗爬片 2 次,用含 0.3% TRITON X-100 (PBS 缓冲液稀释)的多聚甲醛室温下固定 30 min,弃去多聚甲醛,用 PBS 洗 3 次,室温下加山羊血清封闭液 30 min;弃去封闭液,加入 1:50 稀释的小鼠抗大鼠 α -SCA 单克隆抗体于 4°C 过夜(阴性对照用 PBS 代替),PBS 洗 3 次;1:100 稀释的 FITC 标记山羊抗鼠二抗室温孵育 2 h, PBS 洗 3 次;DAPI 染色液孵育 10 min, PBS 洗 3 次;抗荧光淬灭液封片后立即置于倒置荧光显微镜下观察,统计阳性细胞数。

1.4 心肌细胞收缩频率和收缩幅度的测定 将上述培养的原代新生大鼠心肌细胞移入 6 孔培养板中,分别加入 PBS、各浓度的 TFR (3.7、11.1、33.3、100、300 mg/L) 或 hU II (10、100 nmol/L),置 37°C 、5% CO_2 培养箱中培养,然后于 1 000 r/min 离心 5 min,弃去培养液,用 PBS 快速冲洗 2 次,细胞调成 1×10^6 个/ml 的密度,再次移入 6 孔培养板中,倒置显微镜下观察单个心肌细胞搏动情况,计数其搏动频率,并用 Image-Pro Plus 6.0 专业图像分析软件测量细胞面积(m^2),以一个心动周期内细胞的最大面积和最小面积之间的差值占最大面积的百分比作为细胞的收缩幅度(%)。每个培养孔中观察 10 个细胞,以其平均搏动频率和平均收缩幅度为观察指标,实验独立重复 6 次。另取一批细胞,先用 100 nmol/L hU II 预处理 48 h 后,再加入各浓度的 TFR 后,同样方法测定细胞的平均搏动频率和平均收缩幅度。

1.5 心肌细胞内 Ca^{2+} 含量的测定 加药处理后,细胞爬片用台式缓冲液(pH 7.4) (5 mmol/L KCl, 130 mmol/L NaCl, 1 mmol/L MgSO_4 , 2 mmol/L CaCl_2 , 8 mmol/L NaOH, 20 mmol/L HEPES)清洗 3 次,以终浓度 0.2% 的 Fluo-8 AM $2 \mu\text{l}$ 加入 2 ml 台式液中, 37°C 孵育 30 min,之后用 PBS 清洗 3 次,通过氩激光器进行激光图像采集,激发波长为 488 nm,发射波长为 520 nm,采集频率被设置为每 10 s 一个图像。徕卡 DMLFSA 显微镜下使用 Metafluor

成像系统中集成 CCD (电荷耦合器件) 相机记录单视野内细胞内钙荧光成像并通过图像分析软件分析图像中兴趣区域内荧光强度的变化,间接反映细胞内游离的 Ca^{2+} 浓度。

1.6 统计学处理 采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间均数比较用 t 检验,多组均数的比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 新生大鼠心肌细胞的原代培养与鉴定 光学显微镜下观察,刚分离的心肌细胞呈圆形,然后变为梭形;24 h 后细胞基本贴壁,单个细胞出现自发性搏动,搏动频率和节律有所不同;48 h 后伸出伪足,细胞相互接触,交织成网,细胞搏动趋于同步化。见图 1。用免疫荧光法检测原代心肌细胞中特异性 α -SCA 蛋白,在原代心肌细胞中 α -SCA 抗原表达呈阳性,且位于胞质中,DAPI 染色的细胞核呈蓝色荧光。高倍镜下取数个视野,计算其平均值,结果显示阳性细胞率为 98%。见图 2。

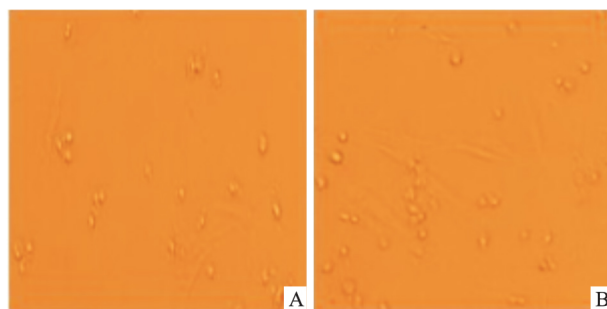


图 1 光镜下原代培养的新生大鼠心肌细胞 $\times 200$
A:培养 24 h; B:培养 48 h

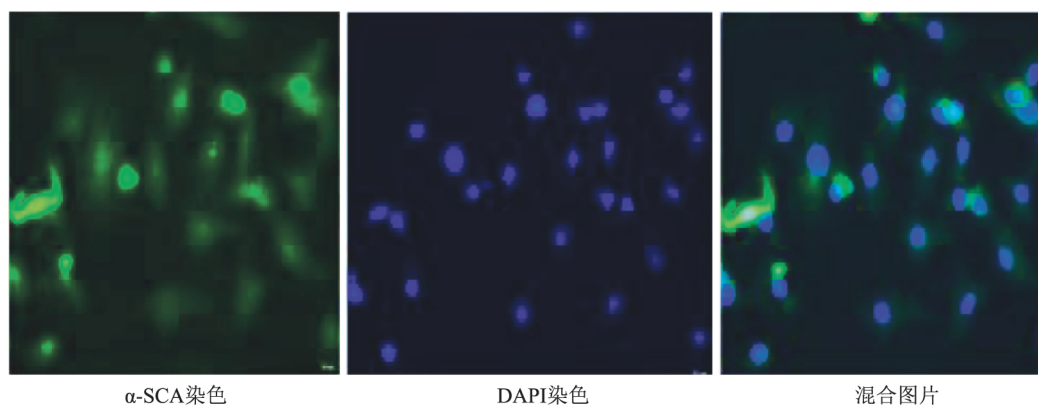
2.2 hU II 对心肌细胞收缩频率的影响 在给予 hU II 前,各组心肌细胞收缩频率并无差异;与对照组比较, hU II 10、100 nmol/L 作用 48 h 能够加快心肌细胞的收缩频率 ($F = 78.16$, $P < 0.05$)。见表 1。

表 1 hU II 对心肌细胞收缩频率的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	剂量 (nmol/L)	给药前 (次/min)	给药后 (次/min)
对照	—	124 ± 2.1	122 ± 2.7
hU II	10	124 ± 3.9	$129 \pm 3.1^*$
	100	123 ± 8.1	$154 \pm 7.0^{**}$

与对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.3 hU II 对心肌细胞收缩幅度的影响 在给予 hU II 前,各组心肌细胞收缩幅度并无差异;与对照组比较, hU II 10 nmol/L 处理 48 h 能够增强心肌细

图2 心肌细胞中 α -SCA 抗原表达 免疫荧光染色 $\times 400$

胞收缩幅度 ($t = 2.56, P < 0.05$), 而 hU II 100 nmol/L 处理 48 h 能够降低心肌细胞收缩幅度 ($t = 5.41, P < 0.01$)。见表 2。

表2 hU II 对心肌细胞收缩幅度的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量 (nmol/L)	给药前 (%)	给药后 (%)
对照	-	18.5 $\pm$ 1.6	17.9 $\pm$ 4.1
hU II	10	18.9 $\pm$ 1.5	23.5 $\pm$ 3.4*
	100	18.6 $\pm$ 2.5	8.4 $\pm$ 2.8**

与对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

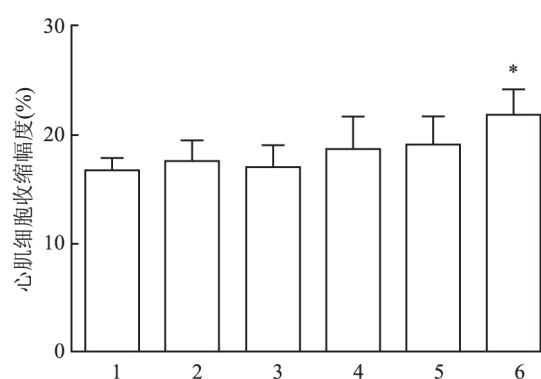
2.4 TFR 对心肌细胞收缩频率的影响 药物作用时间为 30 min, 与对照组比较, TFR 3.7 ~ 100 mg/L 浓度对心肌细胞收缩频率几乎无影响, 而 TFR 300 mg/L 能够减慢心肌细胞收缩频率 ($F = 2.932, P < 0.05$)。见表 3。

表3 TFR 对心肌细胞收缩频率的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量 (mg/L)	给药前 (次/min)	给药后 (次/min)
对照	-	125 $\pm$ 5.0	125 $\pm$ 5.0
TFR	3.7	122 $\pm$ 8.5	122 $\pm$ 6.6
	11.1	130 $\pm$ 4.3	124 $\pm$ 8.4
	33.3	122 $\pm$ 5.5	116 $\pm$ 5.0
	100	124 $\pm$ 7.3	117 $\pm$ 1.4
	300	125 $\pm$ 6.7	114 $\pm$ 3.7*

与对照组比较: * $P < 0.05$

2.5 TFR 对心肌细胞收缩幅度的影响 药物作用 30 min 后, 与对照组比较, TFR 3.7 ~ 100 mg/L 对心肌细胞收缩幅度几乎无影响, 而 TFR 300 mg/L 能够增强心肌细胞收缩幅度 ($F = 3.48, P < 0.05$)。见图 3。

图3 TFR 对心肌细胞收缩幅度的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

1: 对照组; 2: TFR 3.7 mg/L 组; 3: TFR 11.1 mg/L 组; 4: TFR 33.3 mg/L 组; 5: TFR 100 mg/L 组; 6: TFR 300 mg/L 组; 与对照组比较: * $P < 0.05$

2.6 TFR 对 hU II 预处理心肌细胞收缩频率的影响 与给予 hU II 前比较, 给予 hU II 处理 48 h 后, 心肌细胞收缩频率增加 ($t = 6.92, 6.91, 7.79, 9.28, 6.88, 8.82, P < 0.05$); 与对照组比较, TFR 33.3 ~ 300 mg/L 能够浓度依赖性地减弱 hU II 引起的心肌细胞收缩频率的增加 ($F = 17.53, P < 0.05$)。见表 4。

表4 TFR 对 hU II 预处理心肌细胞收缩频率的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量 (mg/L)	给予 hU II 前 (次/min)	给予 hU II 后 (次/min)	TFR 作用 30 min (次/min)
对照	-	121 $\pm$ 6.1	155 $\pm$ 6.9 [#]	151 $\pm$ 6.9
TFR	3.7	123 $\pm$ 3.3	160 $\pm$ 6.7 [#]	150 $\pm$ 8.7
	11.1	123 $\pm$ 5.2	149 $\pm$ 7.1 [#]	150 $\pm$ 4.3
	33.3	122 $\pm$ 1.9	147 $\pm$ 6.3 [#]	139 $\pm$ 3.7*
	100	123 $\pm$ 3.6	149 $\pm$ 7.9 [#]	128 $\pm$ 5.1**
	300	124 $\pm$ 2.6	152 $\pm$ 2.9 [#]	128 $\pm$ 3.6**

与对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与给予 hU II 前比较: [#] $P < 0.05$

2.7 TFR 对 hU II 预处理心肌细胞收缩幅度的影响 心肌细胞以 100 nmol/L hU II 预处理 48 h, 然后再给予不同浓度的 TFR 处理 30 min。与对照组比较, 给予 hU II 100 nmol/L 处理 48 h 后, 心肌细胞收缩幅度下降 ($t = 2.504$, $P < 0.01$), 与单独给予 hU II 100 nmol/L 组比较, TFR 33.3 ~ 300 mg/L 能够改善 hU II 引起的心肌细胞收缩幅度的下降 ($F = 16.76$, $P < 0.05$)。见图 4。

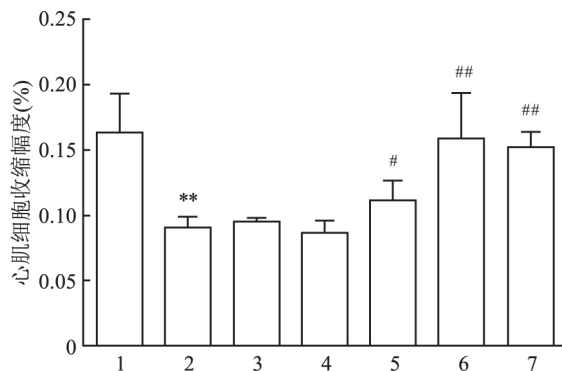


图 4 TFR 对 hU II 预处理心肌细胞收缩幅度的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

1: 对照组; 2: hU II 100 nmol/L 组; 3: hU II 100 nmol/L 联合 TFR 3.7 mg/L 组; 4: hU II 100 nmol/L 联合 TFR 11.1 mg/L 组; 5: hU II 100 nmol/L 联合 TFR 33.3 mg/L 组; 6: hU II 100 nmol/L 联合 TFR 100 mg/L 组; 7: hU II 100 nmol/L 联合 TFR 300 mg/L 组; 与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与 hU II 100 nmol/L 组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

2.8 TFR 对 hU II 诱导的心肌细胞内游离的 Ca^{2+} 含量增加的影响 与对照组比较, 加入 10 nmol/L hU II 处理 48 h, 可显著地增加心肌细胞在 488 nm 波长光激发下, 在 520 nm 处产生的荧光强度, 100 nmol/L hU II 进一步增加心肌细胞的荧光强度 ($F = 669.67$, $P < 0.01$); 但 TFR 100 mg/L 可明显地抑制 100 nmol/L hU II 诱导该荧光强度的增加 ($t = 13.32$, $P < 0.01$), 结果表明 TFR 可显著地抑制 hU II 诱导的心肌细胞内游离的 Ca^{2+} 含量增加。见图 5。

3 讨论

心肌细胞收缩频率的降低可减少心肌耗氧量, 而收缩幅度的增强可增加心肌耗氧量。本研究应用原代培养的新生大鼠心肌细胞, 显示 TFR 能够减慢心肌细胞收缩频率, 但增加心肌细胞的收缩幅度。因此, TFR 减慢心肌细胞收缩频率可能抵消其增加心肌细胞收缩幅度引起的心肌耗氧量的增加, 提示 TFR 有可能在不增加心肌耗氧量的情况下加强心肌收缩性, 这对改善心肌缺血性损伤导致的心功能下降是有利的。

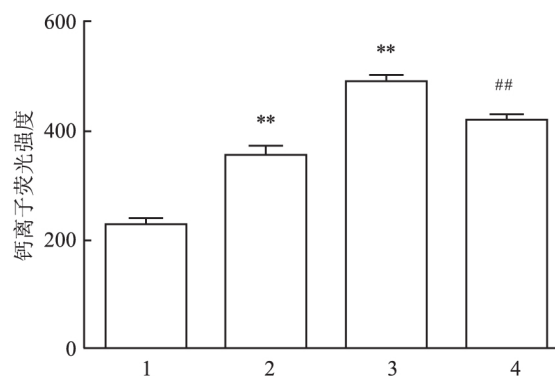


图 5 hU II 及 TFR 对心肌细胞内 Ca^{2+} 荧光强度的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

1: 对照组; 2: hU II 10 nmol/L 组; 3: hU II 100 nmol/L 组; 4: hU II 100 nmol/L 联合 TFR 100 mg/L 组; 与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与 hU II 100 nmol/L 组比较: ## $P < 0.01$

大量研究^[6-7]表明 hU II 与 UT 受体结合能够产生多种生物学效应, 并在多种心血管疾病的病理生理过程中发挥重要作用, 是很有前景的治疗新靶点。本研究显示 hU II 在 10 nmol/L 能够增加心肌细胞收缩幅度, 而在 100 nmol/L 反而降低心肌细胞收缩幅度, 表明高低不同浓度的 hU II 对心肌细胞收缩性的影响是不同的, 这与 Dong et al^[8]的研究结果较相似, 结果显示 U II 对血管作用呈双相性, 即浓度小于 10^{-9} mol/L 可产生内皮依赖性舒张作用, 而超过 10^{-9} mol/L 可直接收缩血管平滑肌。但是本研究表明, 无论是 10 nmol/L hU II, 还是 100 nmol/L hU II 均可明显地增加心肌细胞收缩频率。

文献^[9]报道 hU II 可通过 UT 受体增加细胞内 Ca^{2+} 含量。本实验也显示 hU II 在 10 和 100 nmol/L 浓度时能够增加心肌细胞内 Ca^{2+} 浓度。心肌细胞的肌浆网不如骨骼肌发达, 贮 Ca^{2+} 量少, 其收缩有赖于细胞外 Ca^{2+} 的内流。10 nmol/L hU II 引起细胞内的 Ca^{2+} 增加, 对于心肌细胞的收缩力是一种正性促进作用, 这与 Al et al^[10]的报道, hU II 在 20 pmol/L ~ 20 nmol/L 能够浓度依赖性地增加右心室收缩力的结论相一致。文献^[11]报道过度增加 Ca^{2+} 内流将诱导细胞肥大^[12] 并且导致其收缩功能受损。这就可以解释为什么 100 nmol/L hU II 在进一步增加心肌细胞的钙浓度时, 反而降低心肌细胞收缩幅度。心肌细胞内 Ca^{2+} 内流的增加可导致其自律性的增加, 收缩频率是衡量自律性的一个指标, 故而 10 和 100 nmol/L hU II 均能够增加心肌细胞收缩频率。

本研究显示 TFR 在 33.3 ~ 300 mg/L 范围内, 可浓度依赖性地抑制 100 nmol/L hU II 引起的心肌

细胞收缩幅度的下降和收缩频率的增加,改善心肌细胞收缩性。进一步研究还表明 TFR 可减少 100 nmol/L hU II 导致的心肌细胞 Ca^{2+} 含量的增加。研究^[13]表明 TFR 能与 UT 受体竞争性结合从而拮抗 hU II 的作用,结合本实验,可以推测 TFR 通过抑制 hU II 与 UT 受体的结合,减少细胞内的 Ca^{2+} 浓度,从而改善心肌细胞的收缩性。

参考文献

- [1] Zengin H, Erbay A R, Okuyucu A, et al. The relationship between coronary slow flow phenomenon and urotensin-II: a prospective and controlled study [J]. *Anatol J Cardiol*, 2015, 15 (6): 475–9.
- [2] Satiroglu O, Uydu H A, Durakoglugil M E, et al. The relationships of isolated coronary artery ectasia with Urotensin 2 levels, hypertension and other atherosclerotic risk factors [J]. *Acta Medica Mediterr*, 2015, 31(1): 149–53.
- [3] Han J, He G W, Chen Z W. Protective effect and mechanism of total flavones from rhododendron simsii planch on endothelium-dependent dilatation and hyperpolarization in cerebral ischemia-reperfusion and correlation to hydrogen sulphide release in rats [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2014, 2014: 904019.
- [4] Jiao Y, Fan Y F, Wang Y L, et al. Protective effect and mechanism of total flavones from rhododendron simsii planch flower on cultured rat cardiomyocytes with anoxia and reoxygenation [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015, 2015: 863531.
- [5] Cheng X, Zhang J, Chen Z. Effects of total flavone from rhododendron simsii planch flower on postischemic cardiac dysfunction and cardiac remodeling in rats [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2017, 2017: 5389272.
- [6] Luo S Y, Chen S, Qin Y D, et al. Urotensin-II receptor antagonist SB-710411 protects rat heart against ischemia-reperfusion injury via RhoA/ROCK pathway [J]. *PLoS One*, 2016, 11(1): e0146094.
- [7] Gao S, Oh Y B, Park B M, et al. Urotensin II protects ischemic reperfusion injury of hearts through ROS and antioxidant pathway [J]. *Peptides*, 2012, 36(2): 199–205.
- [8] Dong X, Ye X, Song N, et al. Urotensin II promotes the production of LTC4 in rat aortic adventitial fibroblasts through NF- κ B-5-LO pathway by p38 MAPK and ERK activations [J]. *Heart Vessels*, 2013, 28(4): 514–23.
- [9] Adebisi A. RGS2 regulates urotensin II-induced intracellular Ca^{2+} elevation and contraction in glomerular mesangial cells [J]. *J Cell Physiol*, 2014, 229(4): 502–11.
- [10] Al K H, Hafiane A, You Z, et al. Circulating levels of the vasoactive peptide urotensin II in patients with acute coronary syndrome and stable coronary artery disease [J]. *Peptides*, 2014, 55(5): 151–7.
- [11] Shimizu I. Physiological and pathological cardiac hypertrophy [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2016, 97: 245–62.
- [12] Ibrahim M, Nader A, Yacoub M H, et al. Manipulation of sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} release in heart failure through mechanical intervention [J]. *J Physiol*, 2015, 593(15): 3253–9.
- [13] Luo S Y, Xu Q H, Peng G, et al. The protective effect of total flavones from rhododendron simsii planch on myocardial ischemia/reperfusion injury and its underlying mechanism [J]. *Evid-Based Compl Alt*, 2018, 2018: 6139372.

Effects of total flavones of rhododendra on contractility of rat myocardial cells and its mechanism

Sun Xiaoqing, Chen Zhiwu

(Dept of Pharmacology, Anhui Medical University, Hefei 230032)

Abstract Objective To investigate the total flavones of rhododendra (TFR) on contractility of rat myocardial cells and its possible mechanism. **Methods** The contraction amplitude and contraction frequency of primary cultured rat myocardial cells were observed by image analysis system. The intracellular free Ca^{2+} content was measured by calcium ion imaging system. **Results** 10 and 100 nmol/L hU II significantly accelerated the contraction frequency of myocardial cells, and 10 nmol/L hU II increased the contraction amplitude of myocardial cells, but 100 nmol/L hU II reduced the contraction amplitude of myocardial cells. TFR 300 mg/L significantly slowed the contraction frequency of rat myocardial cells and increased the contraction amplitude. TFR in the range of 33.3 ~ 300 mg/L could significantly inhibit the increase of contraction frequency, the decrease of contraction amplitude and the increase of intracellular free Ca^{2+} content induced by 100 nmol/L hU II. **Conclusion** TFR can slow down the contraction frequency of myocardial cells and increase its contractility, which may be related to the decrease of free Ca^{2+} content in myocardial cells.

Key words myocardial cells; contractility; total flavones of rhododendra; urotensin II; Ca^{2+} content