

DOI:CNKI:11-3495/R. 20110303. 1348. 006

芪附汤对阿霉素心脏毒性损伤的保护作用及其抗氧化机制

于彩娜¹, 范颖^{1*}, 林庶茹²

(1. 辽宁中医药大学方剂学科, 沈阳 110032; 2. 辽宁中医药大学中医分子生物实验室, 沈阳 110032)

[摘要] 目的:观察芪附汤对阿霉素心脏毒性损伤模型大鼠心脏功能的影响,并初步探讨其作用机制。方法:采用心电图测定心脏功能的相关参数,采用化学比色法检测心肌细胞超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)活性及脂质过氧化产物丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量。结果:与正常组相比较,模型组大鼠心率显著减慢,QRS 波群电压明显降低,Q-T 间期明显延长,均有统计学意义($P < 0.05$),个别出现心律失常;与模型组相比较,芪附汤组、中药对照组心率增加,QRS 波群电压和明显增高,Q-T 间期显著缩短,均有统计学意义($P < 0.05$)。与正常组相比较,模型组、芪附汤组、中药对照组心肌细胞 SOD 和 GSH-Px 活性减弱,MDA 含量上升,均有统计学意义($P < 0.05$);与模型组相比较,芪附汤组、中药对照组心肌细胞 SOD 和 GSH-Px 活性增强,MDA 含量下降,均有统计学意义($P < 0.05$)。结论:芪附汤对阿霉素诱导的大鼠心脏毒性损伤具有保护作用,作用机制与其抗氧化应激有关。

[关键词] 芪附汤;阿霉素;心脏毒性;氧化应激

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)08-0193-04

[收稿日期] 20101012(010)

[基金项目] 辽宁省教育厅高等学校创新团队项目(2007T117)

[第一作者] 于彩娜,女,博士在读,讲师,从事方剂配伍规律及其效应机制研究,Tel: 024-31207085, E-mail: yucn124@163.com

[通讯作者] *范颖,教授,博士生导师,从事方剂配伍规律及其效应机制研究,Tel: 024-31207104, E-mail: lnzyfy@126.com

[网络出版时间] 2011-03-03 13:48

力异常起双向调节作用,其保护肺卫失宣肺损伤作用与调节 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活力密切相关。

[参考文献]

- [1] 申锦林,于为民. 张学文教授治疗热病急症经验之一一 毒瘵[J]. 中国中医急症,1995,4(3):127.
- [2] 陈建萍,张之文,雷载权. 关于温病卫分证使用大黄的认知[J]. 广州中医药大学学报,1998,15(1):5.
- [3] 金抗,于东云,由田,等. 大黄对急性肺损伤大鼠热休克蛋白 70 表达的影响[J]. 中国急救医学,2007,9(29):827.
- [4] 邓时贵,巫莉萍,黄海定. 水通道蛋白 mRNA 表达与肺卫失宣大鼠肺损伤的相关性及大黄的调节作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(3):177.
- [5] Sartori C, Matthay MA. Alveolar epithelial fluid transport in acute lung injury: new insights[J]. Eur Respir J, 2002,20(5):1299.
- [6] Matthay MA, Clerici C, Saumon G. Invited review: Active fluid clearance from the distal air spaces of the lung[J]. J Appl Physiol, 2002,93(4):1533.
- [7] 张维,王导新. 肺泡上皮细胞与急性肺损伤水肿液清

除的研究进展[J]. 中国呼吸与危重监护杂志,2008,(7):74.

- [8] 夏永良. 论下法在急性外感热病中的运用[J]. 中华中医药学刊,2007,25(7):1464.
- [9] Ridge K M, Olivera W G, Saldias F, et al. Alveolar type I cells express the $\alpha 2 \text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$, which contributes to lung liquid clearance[J]. Circ Res 2003, 92(4): 453.
- [10] Johnson MD, Widdicombe JH, Allen L, et al. Alveolar epithelial type I cells contain transport proteins and transport sodium supporting an active role for type I cells in regulation of lung liquid homeostasis[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002,99(4):1966.
- [11] Sznajder JI, Factor P, Ingbar DH. Invited review: lung edema clearance: role of $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ [J]. J Appl Physiol, 2002, 93(5): 1860.
- [12] Stem M, Ulrich K, Robinson C, et al. Pretreatment with cationic lipid-mediated transfer of the $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ pump in a mouse model in vivo augments resolution of high permeability pulmonary oedema [J]. Gene Ther, 2000, 7(11): 960.

[责任编辑 何伟]

Protective Effect and Antioxidant Mechanism of Qifu Decoction on Adriamycin-induced Cardiac Injury

YU Cai-na¹, FAN Ying^{1*}, LIN Shu-ru²

(1. Prescription Department, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110032;

2. Laboratory of Molecular Biology, Liaoning University of Traditional Chinese
Medicine, Shenyang 110032, China)

[**Abstract**] **Objective:** To investigate the effect of Qifu Decoction on heart function of adriamycin-induced cardiac injury in a rat model, and to discuss the mechanism. **Method:** Heart function was measured by ECG instrument, the activities of superoxide dismutase(SOD) and glutathione peroxidase(GSH-Px) were detected, and the content of lipid peroxidation product malondialdehyde(MDA) were checked by chemical colorimetric method. **Result:** Compared with the normal group, the heart rate of the rats in the model group was slowed down, the sum of QRS voltage decreased, Q-T interval extended, all with statistically significance($P < 0.05$). Arrhythmia appeared in a few individuals. Compared with the model group, the heart rate of the rats in Qifu Decoction group and Chinese herb control group was speeded up, the sum of QRS voltage increased, Q-T interval shortened, all with statistically significance($P < 0.05$). Compared with the normal group, the activities of SOD and GSH-Px were weakened, and the content of MDA increased in the model group, Qifu Decoction group and Chinese herb control group, all with statistically significance($P < 0.05$). Compared with the model group, the activities of SOD and GSH-Px were strengthened, and the content of MDA decreased in Qifu Decoction group and Chinese herb control group, all with statistically significance($P < 0.05$). **Conclusion:** Qifu Decoction can protect the heart from adriamycin in the rat model. Its mechanism may be related with antioxidant stress.

[**Key words**] Qifu Decoction; adriamycin; cardio-toxicity; oxidative stress

阿霉素(adriamycin,ADR)是目前临床常用有效而广谱的抗肿瘤药物,但其具有剂量累积性心脏毒性,甚至导致充血性心力衰竭,其临床应用受到一定的限制。因此,寻找对阿霉素的毒性损伤具有保护性作用的药物已成为亟待解决的问题。大量研究表明氧化应激是阿霉素心脏毒性损伤的可能作用机制。芪附汤中的黄芪与附子均具有改善心肌功能,保护心脏的作用。本实验以阿霉素心脏毒性损伤大鼠为研究对象,考察芪附汤对阿霉素心脏毒性损伤模型大鼠的保护作用,并初步探讨其抗氧化应激的作用机制。

1 材料

1.1 动物 SPF级SD大鼠56只,雄性,体重(240±20)g,一次性购于上海西普尔-必凯实验动物有限公司,合格证号SCXK(沪)200810016。在辽宁中医药大学动物实验室饲养。

1.2 药物 中药材:黄芪Astragali Radix,产地吉

林;制附子Aconiti Lateralis Radix Praeparata,产地四川,均一次性购于辽宁大石药业有限公司,生药经辽宁中医药大学中药鉴定教研室翟延君教授鉴定。中药阳性对照药:生脉饮(党参方),北京同仁堂科技发展股份有限公司制药厂生产,批号9263494。造模药物:注射用盐酸阿霉素,山西普德药业有限公司生产,规格10 mg/支,批号20090203。

1.3 试剂与仪器 谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)试剂盒、超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒、丙二醛(MDA)试剂盒、总蛋白定量测试盒,均由南京建成生物工程研究所提供,批号20091105。550型酶标仪(美国BLO-RAD公司);BL610型电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司);TDL-5-A型离心机(上海安亭科学仪器厂);WS2-261-79型电热恒温水浴箱(北京长安科学仪器厂);DY89-II型电动玻璃匀浆机(宁波新芝生物科技股份有限公司);RM6240C型多道生理信号采集处理系统(成都仪器

厂)。

2 方法

2.1 实验性阿霉素心脏毒性损伤模型的建立 参照文献[1]并加以改良建立阿霉素心脏毒性损伤的模型,即用大鼠 ip 阿霉素,每次 $2.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (即 $1.25 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$),每周 1 次,连续 4 周,累计 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。造成大鼠心电图 QRS 波群电压和较用药前降低 $\geq 30\%$,且 Q-T 间期明显延长,出现各种心律失常,说明心肌受到损害,视为模型成功^[2]。

2.2 分组处理 按照随机数字表将 56 只大鼠按体重随机分为 4 组,即正常组、模型组、中药对照组、芪附汤组,每组各 14 只。正常组:不予特殊处理,正常饲养。模型组:每周 1 次 ip 阿霉素 $2.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。正常组与模型组分别于造模同时按 $10 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$ 剂量给与蒸馏水 ig,每日 1 次,连续 4 周。中药对照组:于造模同时按 $3.5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量给与生脉饮 ig;芪附汤组于造模的同时均按 $2.625 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量给与芪附汤水煎液 ig;每日 1 次,连续 4 周。4 周后检测心电图,处死大鼠取材,检测指标。

2.3 指标检测

2.3.1 心电图检测 给药前和给药结束后,均用 10% 水合氯醛按 $3 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ip 麻醉,仰卧位固定,将多道生理信号采集处理系统的相应电极插入四肢皮下,心电图标准电压 $1 \text{ mV} = 20 \text{ mm}$,走纸速度 $20 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$,记录大鼠心率 HR (次/min),QRS 波群电压和 (mV),Q-T 间期 (ms)。

2.3.2 大鼠心肌细胞 SOD 和 GSH-Px 活性以及 MDA 含量的检测 处死大鼠后,分离心脏,取小块心肌组织,称重、剪碎,经匀浆、冲洗、过滤、离心后,制成心肌细胞悬液,留取待测。采用考马斯亮蓝法测定心肌细胞总蛋白含量,化学比色法检测心肌细胞 SOD, GSH-Px 活性以及 MDA 的含量,严格按照试剂盒说明书的步骤操作。

2.4 统计学方法 实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 SPSS16.0 软件包进行统计。组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 对心电图的影响 结果见表 1。实验前,各组大鼠心率、QRS 波群电压和 Q-T 间期比较差异无统计学意义。造模给药 4 周后,与正常组相比,模型组心率显著减慢 ($P < 0.05$),QRS 波群电压和明显降低 ($P < 0.05$),与用药前心电图相比减低 30% 以上,

Q-T 间期明显延长 ($P < 0.05$),个别出现心律失常。与模型组相比,芪附汤组、中药对照组心率增加, QRS 波群电压和明显增高, Q-T 间期显著缩短,均有统计学意义 ($P < 0.05$);其中芪附汤组心率增加更显著, QRS 波群电压和增高更明显, Q-T 间期缩短更显著。

表 1 芪附汤连续 ig 给药 4 周对阿霉素心脏毒性损伤模型大鼠心电图的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	心率 /次/min	QRS 波群 电压/mV	Q-T 间期 /ms
正常	-	444.00 ± 18.52	0.660 ± 0.103	60.20 ± 6.69
模型	-	384.00 ± 41.42 ¹⁾	0.412 ± 0.085 ¹⁾	71.60 ± 4.78 ¹⁾
生脉饮	3.5 ³⁾	422.80 ± 10.66 ^{1,2)}	0.536 ± 0.167 ^{1,2)}	60.80 ± 3.03 ²⁾
芪附汤	2.625	433.80 ± 33.75 ^{1,2)}	0.610 ± 0.089 ^{1,2)}	55.20 ± 5.72 ^{1,2)}

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$;³⁾生脉饮给药量为 $\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ (表 2 同)。

3.2 对心肌细胞 SOD 和 GSH-Px 活性以及 MDA 含量的影响 结果见表 2。模型组与正常组比较,大鼠心肌细胞 SOD, GSH-Px 活性显著减弱,心肌细胞 MDA 含量显著上升,具有统计学意义 ($P < 0.05$)。与模型组比较,中药对照组、芪附汤组大鼠心肌细胞 SOD 活性、GSH-Px 活性增强,心肌细胞 MDA 含量下降,均有统计学意义 ($P < 0.05$);与中药对照组比较,芪附汤组 SOD 活性上升显著,有统计学差异 ($P < 0.05$),但二者的心肌细胞 GSH-Px 活性及 MDA 含量未见显著差异,无统计学意义。

表 2 对心肌细胞 SOD 和 GSH-Px 活性以及 MDA 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	SOD / $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$	GSH-Px / $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$	MDA / $\text{nmol} \cdot \text{mg}^{-1}$
正常	-	107.04 ± 10.51	48.55 ± 10.61	5.22 ± 0.95
模型	-	53.31 ± 17.68 ¹⁾	17.87 ± 4.16 ¹⁾	11.43 ± 3.50 ¹⁾
生脉饮	3.5	86.77 ± 15.86 ^{1,2)}	24.85 ± 6.69 ^{1,2)}	7.31 ± 0.91 ^{1,2)}
芪附汤	2.625	115.24 ± 9.02 ²⁾	28.91 ± 7.14 ^{1,2)}	7.29 ± 1.12 ^{1,2)}

4 讨论

ADR 是临床常用有效而广谱的抗肿瘤药物,其剂量累积性心脏毒性,特别是可能形成慢性充血性心力衰竭,对心脏造成不可逆性损伤,使其临床应用受到限制。ADR 与心肌的亲合力明显高于其他组织,它与心肌细胞结合产生毒性作用^[3],主要表现为心功能降低。早期出现各种心律失常,主要表现为窦性心动过速、QRS 低电压、Q-T 间期延长,等,其心

电图的改变虽是非特异性的,但其发生与单次剂量及累积剂量呈正相关,因此心电图可作为 ADR 用药的心脏监测和指导用药的简便方法^[4]。

ADR 心脏毒性的机制尚不完全明确,但氧化应激是目前被广泛认可的发生机制。ADR 作用于心肌细胞,产生大量的活性氧,后者引发心肌细胞膜及心肌细胞器膜上的不饱和脂肪酸发生脂质过氧化反应,生成脂质过氧化的终产物 MDA,MDA 损伤生物膜脂质双分子结构,使膜蛋白结构和功能异常,最终导致心肌细胞死亡。生理状态下,心肌细胞含有正常活性的 SOD、GSH-Px 和过氧化氢酶(CAT),可及时地清除氧自由基和过氧化氢,使心肌处于氧化和抗氧化的平衡状态。ADR 不但使心肌细胞产生大量活性氧,又导致心肌细胞的 SOD、GSH-Px 和 CAT 活性降低^[5],使其清除活性氧的能力降低,从而使心肌氧化和抗氧化状态严重失衡,造成心脏毒性损伤。

目前,公认有效的抗阿霉素心脏毒性的药物还不多,特别是中药制剂,所以很难获得阳性对照药。在中医临床上,多应用生脉注射液静脉给药,或生脉饮口服给药。因此,本实验选择生脉饮作为阳性对照药,在中医证型上,生脉饮与芪附汤并非吻合,是本实验设计不足之处。但实验结果表明,二药均对阿霉素心脏毒性损伤模型大鼠具有保护作用,且芪附汤优于生脉饮。

芪附汤由黄芪和附子两味中药组成,现代药理研究表明,附子有增强心肌收缩力,保护心肌的作用,黄芪及其有效成分黄芪苷能增强心肌收缩力,改善血液流变各项特性,清除氧自由基等^[6-7]。本实验研究结果显示模型组心率显著减慢,QRS 波群电压和明显降低,与用药前心电图相比减低 30% 以上,Q-T 间期明显延长,提示 ADR 造成心脏毒性损伤,致使心功能下降。芪附汤组心率增加、QRS 波群电压和明显增高、Q-T 间期显著缩短,提示芪附汤对

ADR 所致心脏毒性损伤具有保护作用,心功能有很大的恢复,但还不能完全恢复到正常水平。

实验结果显示,模型组大鼠 SOD 和 GSH-Px 活性显著降低,心肌细胞 MDA 含量显著增多。芪附组大鼠心肌细胞 SOD 活性、GSH-Px 活性增强,心肌细胞 MDA 含量下降,提示芪附汤对阿霉素心脏毒性的保护作用与恢复 SOD 和 GSH-Px 活性的抗氧化应激有关。

本实验主要考察芪附汤原方剂量比对阿霉素心脏毒性损伤模型大鼠的保护作用,而其最佳量效关系有待今后进一步深入研究。

[参考文献]

- [1] Muraoka S, Miura T. Free radicals mediate cardiac toxicity induced by adriamycin [J]. Yakugaku Zasshi, 2003, 123(10): 85.
- [2] Lipshultz S E, Colan S D, Gellber R D, et al. Late cardiac effects of doxorubicin therapy for acute lymphoblastic leukemia in childhood [J]. N Engl J Med, 1991, 324(2): 808.
- [3] Quiles J, Huertas J R, Battino M, et al. Antioxidant nutrients and adriamycin toxicity [J]. Toxicology, 2002, 180(1): 79.
- [4] 罗群,陈素芬. 恶性淋巴瘤阿霉素化疗的心电图分析 [J]. 实用心电学杂志, 2008, 17(6): 419.
- [5] Buyukokuroglu M E, Taysi S, Buyukavci M, et al. Prevention of acute adriamycin cardiotoxicity by dantrolene in rats [J]. Hum Exp Toxicol, 2004, 23(5): 251.
- [6] 李丽,李双杰. 黄芪甲甙对阿霉素心肌损伤的保护作用的研究 [J]. 医药论坛杂志, 2009, 30(1): 1, 7.
- [7] 王伟,刘齐宁. 黄芪预处理对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用及其机制 [J]. 西安交通大学学报: 医学版, 2009, 30(6): 712.

[责任编辑 聂淑琴]