



杭白菊醇提物对阿霉素诱导的心衰大鼠的保护作用

李 浙¹ 杨 树² 吴茜茜³ 汤 倩⁴ 陈丹娜¹通讯作者

(1.长沙医学院 2016 级本科临床医学 4 班 湖南长沙 410219)

摘要 目的 探讨杭白菊醇提物是否对阿霉素诱导的 SD 大鼠心衰具有保护作用。方法 取两月龄雄性 SD 大鼠 50 只,随机分为对照组(Control),阿霉素模型组(ADR),阿霉素+醇提物低含量组(ADR+L),阿霉素+醇提物中含量组(ADR+M),阿霉素+醇提物高含量组(ADR+H),每组 10 只。模型组和给药组使用剂量依次为 1,2,3,4mg·kg⁻¹,隔日腹腔注射 1 次,每剂量 2 次,累积量 20 mg·kg⁻¹。Control 隔日腹腔注射生理盐水 1 mg·kg⁻¹。模型组和对照组同时每天灌胃 5%乙醇 2ml。给药组每天灌胃相应稀释物 2ml。记录实验结果,并分析比较各组大鼠存活率,检测血清丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)活性,采用原位缺口末端标记法(TUNEL)检测心肌细胞凋亡。结果 阿霉素致使心肌细胞形态发生改变,使得线粒体肿胀变形,使用杭白菊醇提物可以有效改善心衰症状。TUNEL 染色证实杭白菊醇提物能缓解阿霉素对心脏的损伤,可能是通过减低丙二醛(MDA)含量同时增加超氧化物歧化酶(SOD)活性来实现的。结论 杭白菊醇提物对阿霉素性心衰有保护作用。

关键词 阿霉素;心力衰竭;TUNEL 染色;大鼠

基金项目:长沙医学院 2017 年校级立项大学生研究性学校和创新性实验计划项目长医教[2017]18 号-320。

中图分类号:R256.12 文献标识码:A 文章编号:1009-5187(2018)03-127-02

阿霉素(adriamycin, ADR)属于蒽醌类抗生素,是一种高效、广谱的抗肿瘤药物,对多种肿瘤的治疗有良好的效果,但阿霉素与心脏组织具有较强的亲和力从而表现出来明显的心脏毒性,临床表现早期为出现各种心律失常,晚期为出现剂量依赖性充血性心力衰竭,使其应用受限;其心脏毒性的机制之一是 ADR 产生的自由基导致心肌损伤[1, 2]。有研究表明,杭白菊中的黄酮类化合物具有清除自由基,保护细胞的作用[3]。本实验采用阿霉素诱导大鼠心衰模型,旨在探讨杭白菊的抗氧化作用对心衰大鼠的保护作用。

1、材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 两月龄健康雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠,清洁级,50 只,体重 200-220g,购于湘雅实验动物中心。常规颗粒饲料喂养,自由饮水。

1.1.2 实验药物 阿霉素(adriamycin, ADR),杭白菊粗粉,超氧化物歧化酶(SOD)活性测定试剂盒,丙二醛(MDA)活性测定试剂盒,原位缺口末端标记(TUNEL)试剂盒

1.1.3 主要仪器 切片仪,透射电镜,血清离心机等

1.2 方法

1.2.1 动物分组及干预方法 两月龄健康雄性 Sprague-Dawley (SD)大鼠 50 只,体重 200-220g,随机分为 5 组,即对照组(Control),阿霉素模型组(ADR),阿霉素+醇提物低含量组(ADR+L),阿霉素+醇提物中含量组(ADR+M),阿霉素+醇提物高含量组(ADR+H),每组 10 只。模型组和给药组采用 ADR 造模,剂量依次为 1, 2, 3, 4mg·kg⁻¹,每个剂量给 2 次,依次递增,隔日 1 次,共 8 次,累积量 20 mg·kg⁻¹,腹腔注射,持续 15d。Control 隔日腹腔注射生理盐水 1 mg·kg⁻¹。

模型组和对照组同时每天灌胃 5%乙醇 2ml。阿霉素+醇提物低含量组(ADR+L),阿霉素+醇提物中含量组(ADR+M),阿霉素+醇提物高含量组(ADR+H)每天灌胃相应稀释物 2ml。

无菌条件下处死,开胸剪下心脏,取左心室,用 4℃冷生理盐水冲洗干净,4%多聚甲醛溶液固定。

1.3 观察指标

1.3.1 存活率

观察每天大鼠的存活数,计算存活率。

1.3.2 心肌组织病理改变(HE 染色)

在组织固定 48 h 后采用梯度酒精脱水,石蜡包埋,切片,HE 染色,在光学显微镜下观察。

1.3.3 血清 MDA 含量、SOD 活性检测

按试剂盒方法测血清 MDA 含量及 SOD 活性。

1.3.4 TUNEL 法检测心肌细胞凋亡

实验步骤严格按照细胞凋亡原位检测试剂盒说明书进行。

1.4 统计学处理 实验数据用 SPSS17.0 统计软件分析,以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。多组间比较用单因素方差分析, P<0.05 为有统计学意义。

2、结果

2.1 存活率 ADR+H 组大鼠存活率为 100%, ADR+M 组死亡 3 只,

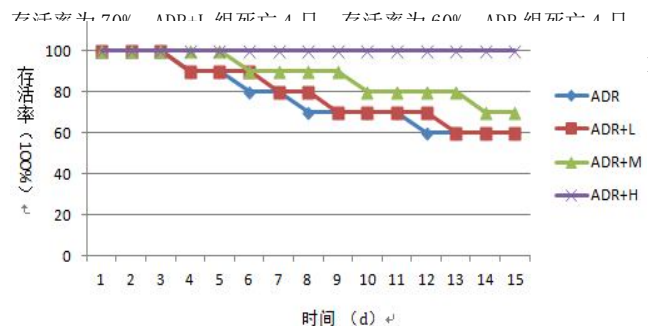


图 1 存活率



·论 著·

2.2 心肌组织病理学检查结果

病理学检查显示, Control 组有排列整齐的心肌细胞, 无坏死, 心肌细胞的横纹、细胞核清晰可见, 心肌纤维未被破坏, 细胞间隙在正常值; 相比于 Control 组, 模型组有较明显的损伤: 细胞排列无序, 心肌细胞的横纹、细胞核清晰度明显降低, 肌原纤维排列紊乱, 甚至有部分断裂, 开始出现少量的中性粒细胞浸润。而低、中剂量醇提物干预组同模型组比较, 呈现好转的现象, 病理改变减少, 增生的结缔组织也显著减少。高剂量组已接近正常心肌组织的形态。(图1)

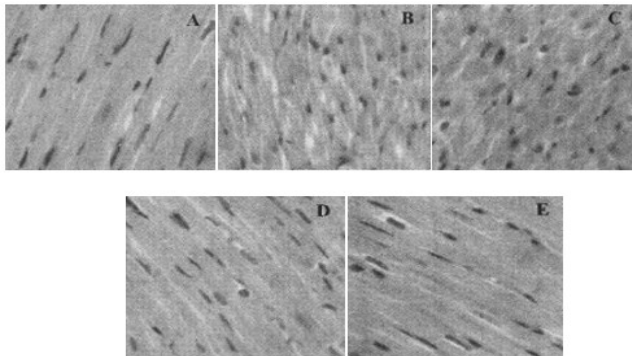


图1 光镜下心肌组织病理学检查结果(HE, ×400)

A. Control 组; B. ADR 模型组; C. ADR+L 组; D. ADR+M 组; E. ADR+H 组

2.3 血清及左心室 MDA 含量及 SOD 活性改变

通过对比图表2数据可知, ADR 组中的 MDA 含量较 Control 组大幅度升高, SOD 含量则显著降低。当使用了杭白菊醇提物干预后血清中 MDA 的含量开始减少, 而 SOD 含量升高, 且呈剂量依赖性。

图表2 大鼠血清 MDA 含量及 SOD 活性改变

组别	MDA ($\mu\text{mol/L}$)	SOD ($\mu\text{mol/L}$)
Control	4.73 ± 0.32	110.83 ± 9.75
ADR	8.73 ± 0.89A	63.01 ± 4.85A
ADR+L	5.94 ± 0.53A, B	81.98 ± 20.35A, B
ADR+M	5.73 ± 0.44B	92.46 ± 15.36B
ADR+H	5.40 ± 0.35B	102.87 ± 10.42B

注: A: $P < 0.05$, 与 Control 组相比; B: $P < 0.05$, 与 ADR 组相比。

2.4 心肌细胞凋亡情况

细胞核染成棕黄色或棕褐色为凋亡细胞。同对照组相比, 模型组中凋亡细胞的数量显著增多, 而给药组则显著减少。

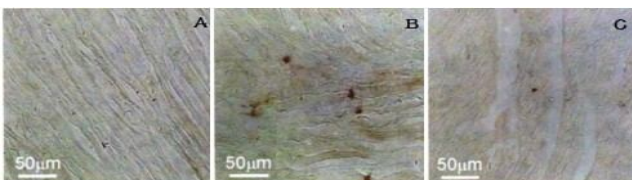


图2 杭白菊醇提物对阿霉素致大鼠心肌凋亡的影响。TUNEL 染色 标示 50 μm

A. 对照组; B. 模型组; C. 给药组

3、讨论

心力衰竭是一种十分常见并且对群众的健康产生巨大威胁的疾病, 近年来,

对于其发病机理和预防治疗的方法逐渐成为临床研究的重点。有研究表明, 阿霉素对正常组织的毒性与其自由基导致氧化应激作用有关[4]。氧化应激能造成细胞膜脂质过氧化, 并且可以损伤脂质、DNA 及蛋白质等大分子物质, 引起细胞的凋亡[5]。SOD 是体内最重要的一种清除氧自由基的蛋白酶, SOD 的含量越多, 清除氧自由基的作用越强, 可以保护细胞免受自由基的攻击。试验中, 模型组 SD 大鼠腹腔注射 ADR 之后测量发现, 随着 ADR 含量增加, SOD 活性明显减少, 反应了清除自由基作用减弱, MDA 含量增加, 反映了受自由基攻击程度增加, 表明 ADR 造成大鼠心衰可能与抗氧化酶活性降低有关。

使用 ADR 建造大鼠心衰的模型来研究杭白菊醇提物的保护作用, 实验结果表明给药组的杭白菊醇提物可显著减少 MDA 的含量, 保护生物膜脂质双分子层结构不受破坏, 从而使膜依赖酶及受体的功能正常, 阻止心肌细胞变形, 心肌组织坏死。同时还提高了 SOD 的含量, 增强抗氧化酶活性、心肌清除活性氧的能力, 从而对 ADR 诱导的心衰产生保护作用。且高含量组的效果比低含量组的效果显著。

综上所述, 阿霉素造成了心肌细胞大量凋亡及严重的氧化应激, 杭白菊醇提物能明显提高心衰组织的抗氧化能力, 对心血管疾病有重要的预防和治疗作用, 持续的研究有望开发出新型的心血管疾病治疗药物。

参考文献:

- [1] Singal PK, Li T, Kumar D. Adriamycin-induced heart failure: mechanism and modulation [J]. Mol Cell Biochem, 200, 207(1-2): 77-86
- [2] Mohamed HE, EI-Swefy SE, Hagar HH. The protective effect of glutathione administration on adrimycin-induced acute cardiac toxicity in rats [J]. Pharmacol Res, 2000, 42(2): 115-121
- [3] 华波, 吕主源. 杭白菊黄酮类化合物的心血管药理实验研究进展 [R]. 青岛医药卫生, 2006: 282-283
- [4] Zhang HZ, Wang LN, Wang ZH. Protective effect of lutein on adrimycin-induced cardiotoxicity and nephrotoxicity [J]. Modern Medicine Journal of China, 2009, 11(8): 12-15. (in Chinese)
- [5] Mohamed HE, Asker ME, Ali SI, et al. Protection against doxorubicin cardiomyopathy in rats: role of phosphodiesterase inhibitors type 4 [J]. J Pharm Pharmacol, 2004, 56(6): 757-768.

作者简介: 李渐, 1998—, 女, 四川泸州人, 2016 级临床医学本科在校生。

通讯作者: 陈丹娜, 长沙医学院医学细胞生物学教研室副主任, 从事细胞信号转导及其疾病治疗方面研究。