

芪参益气滴丸 对小鼠阿霉素诱发心肌病的疗效和机制

▲ 东南大学附属中大医院心血管科 童嘉毅

心肌病的主要特征是心肌损伤和坏死，同时伴发心律失常和心功能障碍。对于心肌病而言，目前尚未出现有效治疗方法，只能对症治疗，无法扭转病程。药物是诱发心肌病的重要危险因素，而阿霉素(ADR)是最常用的化疗药物之一，因此探索 ADR 诱发心肌病的预防和治疗显得尤为重要。芪参益气滴丸目前广泛用于冠心病。本实验研究的目的是考察芪参益气滴丸治疗小鼠 ADR 诱发心肌病的疗效和机制。

材料和方法

>>>

动物模型建立和分组 64 只小鼠[雄性, 体重(30±5)g, 8 周龄]随机分为四组:(1)ADR 组(16 只)每天灌胃给予生理盐水, 每只小鼠腹腔内注射 ADR(4 ml/kg), 每周 2 次, 为期 4 周;(2)ADR+芪参益气 I 组(16 只)每周每只小鼠腹腔内注射两次 ADR, 每次 4 ml/kg, 为期 4 周, 第三周开始灌胃给予芪参益气滴丸(天士力制药股份有限公司提供, 批号 Z20030139), 每天 3.5 mg/100 g, 为期 4 周;(3)ADR+芪参益气 II(16 只)每周每只小鼠腹腔内注射 2 次 ADR, 每次 4 ml/kg, 为期 4 周, 同

时每天灌胃给予芪参益气滴丸 3.5 mg/100 g, 为期 4 周;(4)对照组(16 只): 每天灌胃给予生理盐水, 同时每周每只小鼠腹腔内注射 2 次生理盐水(1 ml/kg), 为期 4 周。

心功能测定 第六周通过使用小型动物超声成像系统测定左心室舒张末径(LVEDD)、左心室收缩末径(LVESD)和左心室射血分数(LVEF)评估各组左心室的收缩功能。

心肌组织病理学检查 第六周采集各组小鼠的左心室心肌组织, 用 4% 的多聚甲醛溶液固定, 石蜡包埋, 切片并采用伊红染色法(HE)染色, 观察和比

较心肌细胞的形态。

Bcl-2 和 Bax 蛋白检测 利用梗死的心肌组织制备总蛋白。取 200 mg 的蛋白经 12% 的 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 而后转移到聚偏二氟乙烯膜上, 加入已稀释的抗体, 4℃下在摇床上孵育过夜。将膜清洗 3 遍, 加入辣根过氧化物酶标记的羊抗小鼠 IgG(H+L), 孵育 1 h, 然后使用软件 BandsScan 4.3 进行灰度分析。

统计分析 所有结果表示为均值±标准差。通过单因素方差分析和 q 检验法进行比较。使用 SPSS 17.0 执行统计分析。P<0.05 表示差异具有统计学意义。

结果

>>>

小鼠存活状况和总体状态观察

ADR 给药的小鼠出现脱毛、活动减少、食欲减退和体重降低, 6 周内 10 只小鼠死亡。ADR 组中 4 只死亡, ADR+芪参益气 I 组中 4 只死亡, ADR+芪参益气 II 组中 2 只死亡。

心功能观察

与 ADR+芪参益气 I 组、ADR+芪参益气 II 组和对照组相比, ADR 组的 LVEDD 和 LVESD 显著增大, LVEF 显著减小。与 ADR+芪参益气 II 组相比, ADR+芪参益气 I 组的 LVEDD

和 LVESD 显著增大, LVEF 显著减小。这些结果表明, ADR 给药成功建立了心肌病模型, 与 ADR+芪参益气 II 组相比, ADR+芪参益气 I 组的心功能改善更为明显(表 1)。

表 1 各组左心室收缩功能评估(均值±标准差)

| 组别 | 数量(只) | LVEDD(mm) | LVESD(mm) | LVEF(%) |
|---------------|-------|-------------|-------------|-------------|
| ADR 组 | 12 | 3.826±0.04 | 2.418±0.06 | 39.98±1.32 |
| ADR+芪参益气 I 组 | 12 | 3.568±0.03* | 2.345±0.05* | 60.41±0.59* |
| ADR+芪参益气 II 组 | 14 | 3.472±0.10* | 2.224±0.10* | 63.77±0.68* |
| 对照组 | 16 | 2.008±0.07 | 1.607±0.05 | 74.15±2.41 |

*与 ADR 组相比, P<0.05

表 2 各组 Bcl-2 和 Bax 的表达情况(均值±标准差)

| 组别 | 数量(只) | Bcl-2 | Bax |
|---------------|-------|--------------|--------------|
| ADR | 12 | 0.108±0.016 | 0.796±0.023 |
| ADR+芪参益气 I 组 | 12 | 0.217±0.018* | 0.505±0.029* |
| ADR+芪参益气 II 组 | 14 | 0.489±0.018* | 0.391±0.020* |
| 对照组 | 16 | 0.593±0.022 | 0.201±0.021 |

*与 ADR 组相比, P<0.05

心肌形态观察

HE 染色显示, 对照组心肌纤维排列整齐, 未发现肿胀或变性, 细胞质一致, 细胞间隙正常。但

是, ADR 组的心肌纤维呈无序排列, 破裂细胞水肿, 细胞间隙变大, 局部出现液泡变性。与 ADR

组相比, ADR+芪参益气 I 组和 ADR+芪参益气 II 组的心肌细胞损伤程度降低(图 1)。

Bcl-2 和 Bax 表达情况

与 ADR+芪参益气 I 组、ADR+芪参益气 II 组和对照组相比, ADR 组的 Bcl-2 表达显著减少(P<0.05)。与 ADR+芪参益气 II 组相比 ADR+芪参益气 I 组的 Bcl-2 表达显著减少(P<0.05), 与 ADR+芪参益气 I 组、ADR+芪参益气 II 组和对照组相比, ADR 组的 Bax 表达显著增加(P<0.05)。与 ADR+芪参益气 II 组相比 ADR+芪参益气 I 组的 Bax 表达显著增加(P<0.05; 表 2、图 2)。

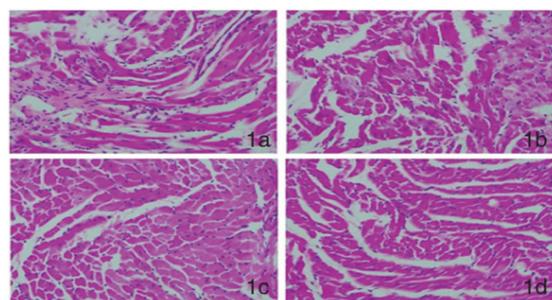


图 1 各组 HE 染色后的心肌形态。染色样本 1a 分别表示 ADR 组、1b 为 ADR+芪参益气 I 组、1c 为 ADR+芪参益气 II 组、1d 为对照组。

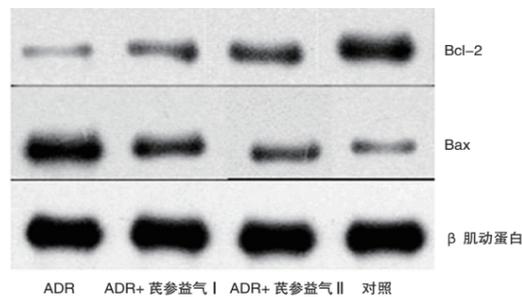


图 2 各组 Bcl-2 和 Bax 的免疫印迹图片

讨论

>>>

药物诱发心肌损伤是一种特殊的心肌病, 其中化疗药物导致的心肌损伤十分常见。芪参益气滴丸主要成分为黄芪、丹参和三七。近来有研究表明, 芪参益气滴丸其主要成分黄芪具有心肌保护和抗凋亡作用, 能够调节免疫系统, 这说明该药可能缓解化疗药物诱发的心肌损伤。本研究通过建立 ADR 诱发心肌病的动物模型观察芪参益气滴丸对化疗诱发心肌损伤的疗效和可能的作用机制, 以便为癌症化疗诱发心肌病的治疗提供一种新技术和科学依据。

结果显示, 因 ADR 和芪参益气滴丸同时给药, 与对照组相比, 尽管 ADR+芪参益气 II 组心功能有所下降, 但与 ADR 组相比有显著改善。

ADR+芪参益气 I 组中, 芪参益气滴丸给药晚于 ADR 组 2 周, 即便如此, 心功能下降同样得以缓解。因此提前用药能有效预防化疗诱发的心肌损伤, 即使已使用心脏致毒药物很长时间, 用药后依然可有效预防心肌损伤, 但提前给药疗效更好。心肌 HE 染色显示, ADR+芪参益气各组心肌组织结构性损伤轻于 ADR 组, 说明芪参益气滴丸可有效保护 ADR 诱发的心肌损伤。

ADR 心肌病涉及了诸多机制, 其中心肌细胞凋亡是最重要的机制。Kitta 等发现, ADR 通过减少 Bcl-2 表达和增加 Bax 表达导致心肌细胞凋亡。结果显示 ADR 组 Bcl-2 表达减少和 Bax 表达增加均非常明显,

而 ADR+芪参益气各组的情形有所改善。据此推测, 芪参益气滴丸的心肌保护作用可能与黄芪抗氧化自由基和膜脂过氧化以及抑制心肌细胞凋亡有关。芪参益气滴丸中的丹参、三七和其他成分能够增加冠脉血流量, 降低血黏度, 缓解缺血性心肌损伤, 保护血管内皮, 抑制炎症反应, 抗凝血和抑制血小板聚集。

综上所述, 应用中芪参益气滴丸可有效治疗 ADR 诱发的心肌病。至于芪参益气滴丸是否能够防止其他化疗药物和非药物诱发的心肌损伤, 有待进一步研究证实。目前正在进行的人体研究完成后, 也许芪参益气滴丸能够为治疗药物诱发的心肌损伤提供一种新的选择。