

白藜芦醇对阿霉素诱导心脏毒性保护作用的研究进展

张蕊, 马寅仲, 孙双勇, 郝春华, 赵专友, 王维亭*

天津药物研究院新药评价有限公司, 天津 300301

摘要: 阿霉素是多种血液恶性肿瘤和实体瘤的主要治疗药物。然而, 其临床应用受剂量相关性心脏毒性的限制。阿霉素诱导心脏毒性的机制可能涉及多种信号通路, 包括自由基产生、钙超载、线粒体功能障碍、细胞凋亡和自噬。已有研究表明白藜芦醇与阿霉素联合用药可以预防心脏毒性, 并且对肿瘤细胞发挥协同治疗效应。主要对白藜芦醇的心脏毒性保护作用进行综述, 阐明白藜芦醇在阿霉素诱导心脏毒性中保护作用的机制。

关键词: 白藜芦醇; 阿霉素; 心脏毒性; 保护作用

中图分类号: R972 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2017)04-0752-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2017.04.046

Research progress on protective effect of resveratrol against adriamycin-induced cardiac toxicity

ZHANG Rui, MA Yin-zhong, SUN Shuang-yong, HAO Chun-hua, ZHAO Zhuan-you, WANG Wei-ting

Tianjin Institute of Pharmaceutical Research New Drug Evaluation Co. Ltd, Tianjin 300301, China

Abstract: Adriamycin is a major therapeutic agent for a variety of hematological malignancies and solid tumors. However, its clinical application is limited by dose-dependent cardiotoxicity. The mechanism of doxorubicin-induced cardiotoxicity may involve multiple signaling pathways, including free radical production, calcium overload, mitochondrial dysfunction, apoptosis and autophagy. Studies have shown that resveratrol combined with doxorubicin has been reported to prevent cardiac toxicity, and play a synergistic effect on tumor cells. The protective effect of resveratrol on cardiac toxicity is reviewed in this paper, and the protective mechanism of resveratrol in adriamycin-induced cardiotoxicity is also elucidated.

Key words: resveratrol; doxorubicin; cardiotoxicity; protective effect

阿霉素是一种高效的蒽环类化疗药物, 是临床上用于治疗多种癌症的一线药物, 但其诱导的心脏毒性限制了其应用^[1]。阿霉素诱导心脏毒性的机制比较复杂, 可能涉及多种信号通路, 包括自由基生成、过氧亚硝酸盐形成、钙离子平衡失调、线粒体损伤、凋亡和自噬^[2]。此外, 阿霉素在体内诱导氧自由基的产生对心肌组织造成严重损伤, 这种长期慢性的损伤最终导致心肌纤维化。心肌纤维化也是阿霉素诱导心肌毒性的重要事件^[3]。近年来, 对阿霉素诱导心脏毒性的防治策略也开展了很多研究, 右丙亚胺是唯一被 FDA 批准用于预防蒽环类药物所致心脏毒性的药物, 然而由于其价格昂贵及其严

格的适应症限制了其应用^[4]。白藜芦醇, 化学名为(E)-3,5,4-三羟基二苯乙烯, 是一种在葡萄和红酒中大量存在的多酚化合物, 已被证明具有多种功效^[5]。生物学数据表明白藜芦醇是一种非常有前景的心血管保护剂^[6]。白藜芦醇对心肌缺血再灌注损伤大鼠具有保护作用^[7], 此外, 白藜芦醇可以改善血管内皮功能^[8], 抑制血小板聚集^[9]。并且已有的研究显示, 在体内和体外实验中, 白藜芦醇与阿霉素联合使用可以预防阿霉素诱导的心脏毒性以及对肿瘤细胞发挥协同效应^[10-16]。并且, 白藜芦醇的心脏保护作用与减少氧化应激、抑制凋亡、调节自噬以及抗心肌纤维化相关^[10-16, 18]。本文主要讨论白藜芦醇在阿霉素

收稿日期: 2017-03-14

作者简介: 张蕊, 女, 博士, 助理研究员, 主要从事心脑血管药物新药评价研究。Tel: (022)84845255 E-mail: zhangr8@tjipr.com

*通信作者 王维亭, 男, 研究员, 主要从事心脑血管药物新药评价研究。Tel: (022)84845239 E-mail: wangwt@tjipr.com

诱导心脏毒性中的保护作用。

1 减弱阿霉素诱导的心肌细胞氧化损伤

已有的实验研究结果显示,氧化应激在阿霉素诱导的心脏毒性的发病机制中发挥重要作用^[13,17]。阿霉素使大鼠血浆总抗氧化能力显着下降,伴随心脏超氧化物歧化酶,过氧化氢酶和 Na^+ -ATPase、 K^+ -ATPase 活性以及谷胱甘肽量的降低;脂质过氧化作用和髓过氧化物酶活性增加;白藜芦醇治疗可以减轻氧化应激损伤,从而减弱阿霉素诱导的心脏毒性^[13],白藜芦醇可以提高超氧化物歧化酶(SOD)水平和降低丙二醛(MDA)水平,表明其具有自由基清除能力^[18]。另外,阿霉素可以促进心肌细胞线粒体活性氧(ROS)的大量产生,白藜芦醇预处理对阿霉素诱导的线粒体损伤具有保护作用^[11]。

白藜芦醇抗氧化活性涉及多种机制。首先,白藜芦醇通过减少基础 ROS 生成改善线粒体功能,增加锰超氧化物歧化酶(MnSOD)和组蛋白的去乙酰化酶 sirtuin 1(SIRT1)活性,提高线粒体膜电位^[11,19]。其次,研究表明白藜芦醇可以抑制烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)-和腺苷 5'-二磷酸- Fe^{2+} 脂质过氧化反应;激活抗氧化转录因子 Nrf2 的靶基因 NADPH 醌氧化还原酶 1、 γ -谷氨酰半胱氨酸合成酶和血红素加氧酶-1(HO-1)的转录,最终减弱细胞氧化应激^[20]。

2 抑制阿霉素诱导的心肌细胞凋亡

心肌细胞凋亡是阿霉素诱导心脏毒性的另一种机制^[21]。阿霉素诱导的线粒体功能障碍在其诱导的心肌细胞凋亡中起重要作用,抗细胞凋亡因子 Bcl-2 和促凋亡因子 Bax 具有调节细胞存活的作用。研究表明促凋亡蛋白 P53 抑癌基因通过转录激活调节 Bcl-2 家族蛋白的表达,继而激活半胱天冬酶-3(Caspase-3)介导的细胞凋亡通路^[12]。Caspase-非依赖性凋亡途径也参与了阿霉素诱导的心肌细胞凋亡,其作用机制与线粒体中凋亡诱导因子的释放相关^[22]。

研究表明白藜芦醇作为一个抗凋亡剂,通过抑制 Caspase-3 表达和活性发挥心脏保护作用^[18,23]。在淋巴瘤裸鼠中注射阿霉素可以降低 HO-1 表达及活性也可以提高 P53 表达,继而调节 Bcl-2/Bax 表达,增强 Caspase-3 活性。阿霉素诱导的心肌细胞凋亡通过与白藜芦醇的联合用药而得到改善。并且,通过添加 HO-1 抑制剂(锌原卟啉)可以逆转白藜芦醇的保护作用。由此发现 HO-1 在白藜芦醇抑制阿霉素诱导的心肌细胞凋亡中起到核心作用^[16]。此

外,据报道,白藜芦醇对阿霉素诱导的心肌细胞凋亡的保护作用与组蛋白去乙酰化酶 SIRT1 介导的 P53 去乙酰化相关^[12,15]。最新的研究也表明,白藜芦醇对阿霉素诱导的心肌细胞凋亡的保护作用也可能是通过调节 AMPK/P53 途径发挥作用^[24]。

3 调节阿霉素诱导的心肌细胞自噬

自噬是一种将细胞内受损、变性或衰老的蛋白质以及损坏的细胞器运输到溶酶体内进行消化降解并清除的过程,自噬具有双重功能。在生理条件下,自噬是细胞重塑、维持细胞内稳态的必要过程。而在病理情况下,自噬过度激活,可能导致氧化应激的增强,ATP 产生减少,细胞分解代谢机制紊乱,导致细胞坏死或凋亡。自噬对心肌细胞的作用取决于损伤的类型、时间以及自噬活性^[25]。

在阿霉素所致心脏毒性体外实验研究中,自噬的作用仍然存在争议^[14,26-31]。一些研究表明,阿霉素处理后心肌细胞自噬程度增加,给予自噬抑制剂 3-甲基腺嘌呤或其他自噬抑制手段,能够提高细胞存活^[14,26-29]。另一些研究发现阿霉素抑制自噬,给予自噬诱导剂雷帕霉素或利用葡萄糖耗竭激活自噬可以增强细胞活性,提高线粒体功能^[30-31]。此外,这些研究之间的差异似乎与阿霉素剂量和时间之间不存在相关性。

在阿霉素诱导的急性心脏毒性动物模型(单次注射)中,发现左室中自噬相关蛋白 LC3-II/LC3-I 比值和泛素结合蛋白 P62 的表达增加,表明自噬溶酶体降解途径被抑制,自噬小体的清除途径发生了障碍,自噬流平衡受损^[10]。另一项研究也表明,在急性阿霉素心脏毒性中,由于细胞功能受损,导致自噬相关蛋白 LC3-II 和泛素结合蛋白 P62 的聚集^[30]。在阿霉素诱导的慢性心脏毒性动物模型(2~4 周内注射)中,阿霉素激活自噬,给予自噬抑制剂 3-甲基腺嘌呤可以显著下调自噬相关蛋白 Beclin 1 的表达并抑制自噬空泡形成^[26]。实验研究进一步观察到,阿霉素诱导的过度自噬与心肌细胞的凋亡一致,给予自噬抑制剂 3-甲基腺嘌呤可以显著抑制阿霉素诱导的自噬,减少心肌细胞凋亡^[32]。因此,推测阿霉素诱导急性心肌损伤过程并不只是单纯的激活自噬或抑制自噬,而是自噬流的整个过程被破坏;而在阿霉素诱导慢性心脏毒性过程中自噬被激活。

已有的研究报道显示白藜芦醇既可以激活自噬^[10,33-35]又可以抑制自噬^[14,36]。当心肌细胞自噬被阿霉素增强时,白藜芦醇通过抑制核糖体 S6 蛋白

激酶 S6K1 介导的自噬减轻心脏毒性^[14]。当阿霉素降低心肌细胞自噬时,白藜芦醇可以恢复受损细胞的自噬功能^[10]。此外,在糖尿病性心肌损伤小鼠模型中,白藜芦醇治疗组具有抗氧化应激损伤和抑制心肌细胞凋亡的作用,其作用机制与通过 SIRT1-FoxO⁻ 自噬通路修复受损的细胞自噬流量有关^[33]。因此,白藜芦醇能够改善阿霉素诱导的心肌细胞自噬功能异常。

4 改善阿霉素诱导的心肌纤维化

心肌纤维化与心力衰竭有着密切联系,心力衰竭是心肌纤维化发展的最终结果,心肌纤维化是导致心力衰竭的必要条件^[37]。阿霉素可以诱导大鼠心肌纤维化,抑制心功能^[38]。据文献报道,阿霉素不仅上调了促纤维化因子转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) 基因的表达,而且增加了左心室组织中纤维化标记物水平并诱导大量胶原纤维沉积;白藜芦醇可以改善阿霉素所致的心脏毒性及心肌纤维化^[18]。另外,白藜芦醇作为组蛋白去乙酰化酶 SIRT1 的激活剂,通过干扰阿霉素诱导的心肌病模型中的心肌纤维化的发展改善心脏功能^[39]。在另一项大鼠高血压模型中,白藜芦醇的抗纤维化作用也发挥了改善心脏和血管的功能^[40]。

5 结语

阿霉素因其抗肿瘤谱广,临床疗效高,在肿瘤治疗领域中应用广泛。但在治疗过程中患者会出现不可逆转的心肌病和充血性心力衰竭等。因此,对阿霉素心脏毒性的药物防治进行了很多研究,旨在减轻毒副反应和提高用药的安全性,进而提高患者的生存率。白藜芦醇是一种天然的多酚化合物,广泛存在于多种植物中,如葡萄、花生和藜芦等。研究发现白藜芦醇具有抗炎^[41]、抗氧化、免疫调节及神经保护作用^[42]等多种生物学效应。当前已有制药公司开发出用于治疗 II 型糖尿病的白藜芦醇药物,效果显著,临床应用前景广阔^[43-44]。已有的实验数据已表明,白藜芦醇对阿霉素诱导的心脏毒性具有保护作用,其作用机制主要与调节心肌细胞氧化应激、凋亡、自噬和心肌纤维化相关。此外,白藜芦醇与阿霉素联合用药可以对肿瘤细胞发挥协同效应。提示白藜芦醇有望成为防治阿霉素心脏毒性的天然药物。但是,其临床疗效需要进一步的临床试验来证实。希望在未来能够造福肿瘤患者,使其能在接受阿霉素化疗的同时无需担心其心脏毒性。

参考文献

- [1] Cagel M, Grotz E, Bernabeu E, *et al.* Doxorubicin: nanotechnological overviews from bench to bedside [J]. *Drug Discov Today*, 2017, 22(2): 270-281.
- [2] Vejpongsa P, Yeh E T. Prevention of anthracycline-induced cardiotoxicity: challenges and opportunities [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2014, 64(9): 938-945.
- [3] 姚政委. DIM 通过 BRCA1 依赖的抗氧化信号通路治疗阿霉素诱导的心肌纤维化 [D]. 南京: 南京大学, 2013.
- [4] 郝 炜, 刘 胜. 中医药防治蒽环类抗肿瘤药物所致心脏毒性研究进展 [J]. 上海中医药杂志, 2016, 50(6): 99-101.
- [5] Kuršvietienė L, Stanevičienė I, Mongirdienė A, *et al.* Multiplicity of effects and health benefits of resveratrol [J]. *Medicina*(Kaunas), 2016, 52(3): 148-155.
- [6] Bradamante S, Barengi L, Villa A. Cardiovascular protective effects of resveratrol [J]. *Cardiovasc Drug Rev*, 2004, 22(3): 169-188.
- [7] Ray P S, Maulik G, Cordis G A, *et al.* The red wine antioxidant resveratrol protects isolated rat hearts from ischemia reperfusion injury [J]. *Free Radic Biol Med*, 1999, 27(1/2): 160-169.
- [8] Li H, Förstermann U. Resveratrol: a multifunctional compound improving endothelial function [J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2009, 23(6): 425-429.
- [9] Ramprasath V R, Jones P J. Anti-atherogenic effects of resveratrol [J]. *Eur J Clin Nutr*, 2010, 64(7): 660-668.
- [10] Dutta D, Xu J, Dirain M L, *et al.* Calorie restriction combined with resveratrol induces autophagy and protects 26-month-old rat hearts from doxorubicin-induced toxicity [J]. *Free Radic Biol Med*, 2014, 74: 252-262.
- [11] Danz E D, Skramsted J, Henry N, *et al.* Resveratrol prevents doxorubicin cardiotoxicity through mitochondrial stabilization and the Sirt1 pathway [J]. *Free Radic Biol Med*, 2009, 46(12): 1589-1597.
- [12] Zhang C, Feng Y, Qu S, *et al.* Resveratrol attenuates doxorubicin-induced cardiomyocyte apoptosis in mice through SIRT1-mediated deacetylation of p53 [J]. *Cardiovasc Res*, 2011, 90(3): 538-545.
- [13] Tatlıdede E, Sehirli O, Velioglu-Oğünç A, *et al.* Resveratrol treatment protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity by alleviating oxidative damage [J]. *Free Radic Res*, 2009, 43(3): 195-205.
- [14] Xu X, Chen K, Kobayashi S, *et al.* Resveratrol attenuates doxorubicin-induced cardiomyocyte death via inhibition

- of p70 S6 kinase 1-mediated autophagy [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2012, 341(1): 183-195.
- [15] Sin T K, Tam B T, Yung B Y, *et al.* Resveratrol protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity in aged hearts through the SIRT1-USP7 axis [J]. *J Physiol*, 2015, 593(8): 1887-1899.
- [16] Gu J, Song Z P, Gui D M, *et al.* Resveratrol attenuates doxorubicin-induced cardiomyocyte apoptosis in lymphoma nude mice by heme oxygenase-1 induction [J]. *Cardiovasc Toxicol*, 2012, 12(4): 341-349.
- [17] Angsutararux P, Luanpitpong S, Issaragrisil S. Chemotherapy-induced cardiotoxicity: overview of the roles of oxidative stress [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2015, 2015(11): 1-13.
- [18] Arafa M H, Mohammad N S, Atteia H H, *et al.* Protective effect of resveratrol against doxorubicin-induced cardiac toxicity and fibrosis in male experimental rats [J]. *J Physiol Biochem*, 2014, 70(3): 701-711.
- [19] Yu W, Fu Y C, Wang W. Cellular and molecular effects of resveratrol in health and disease [J]. *J Cell Biochem*, 2012, 113(3): 752-759.
- [20] Ungvari Z, Bagi Z, Feher A, *et al.* Resveratrol confers endothelial protection via activation of the antioxidant transcription factor Nrf2 [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2010, 299(1): H18-H24.
- [21] Han X, Ren D, Fan P, *et al.* Protective effects of naringenin-7-O-glucoside on doxorubicin-induced apoptosis in H9C2 cells [J]. *Eur J Pharmacol*, 2008, 581(1/2): 47-53.
- [22] Moreira A C, Branco A F, Sampaio S F, *et al.* Mitochondrial apoptosis-inducing factor is involved in doxorubicin-induced toxicity on H9c2 cardiomyoblasts [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1842(12 Pt A): 2468-2478.
- [23] Usta E, Mustafa M, Walker T, *et al.* Resveratrol suppresses apoptosis in intact human cardiac tissue-*in vitro* model simulating extracorporeal circulation [J]. *J Cardiovasc Surg(Torino)*, 2011, 52(3): 399-409.
- [24] Liu M H, Lin X L, Guo D M, *et al.* Resveratrol protects cardiomyocytes from doxorubicin-induced apoptosis through the AMPK/P53 pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 13(2): 1281-1286.
- [25] Dirks-Naylor A J. The role of autophagy in doxorubicin-induced cardiotoxicity [J]. *Life Sci*, 2013, 93(24): 913-916.
- [26] Lu L, Wu W, Yan J, *et al.* Adriamycin-induced autophagic cardiomyocyte death plays a pathogenic role in a rat model of heart failure [J]. *Int J Cardiol*, 2009, 134(1): 82-90.
- [27] Kobayashi S, Volden P, Timm D, *et al.* Transcription factor GATA4 inhibits doxorubicin-induced autophagy and cardiomyocyte death [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285: 793-804.
- [28] Chen K, Xu X, Kobayashi S, *et al.* Caloric restriction mimetic 2-deoxyglucose antagonizes doxorubicin-induced cardiomyocyte death by multiple mechanisms [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(25): 21993-22006.
- [29] Dimitrakis P, Romay-Ogando M I, Timolati F, *et al.* Effects of doxorubicin cancer therapy on autophagy and the ubiquitin-proteasome system in long-term cultured adult rat cardiomyocytes [J]. *Cell Tissue Res*, 2012, 350(2): 361-372.
- [30] Kawaguchi T, Takemura G, Kanamori H, *et al.* Prior starvation mitigates acute doxorubicin cardiotoxicity through restoration of autophagy in affected cardiomyocytes [J]. *Cardiovasc Res*, 2012, 96(3): 456-465.
- [31] Sishi B J, Loos B, van Rooyen J, *et al.* Autophagy upregulation promotes survival and attenuates doxorubicin-induced cardiotoxicity [J]. *Biochem Pharmacol*, 2013, 85(1): 124-134.
- [32] Wang X, Wang X L, Chen H L, *et al.* Ghrelin inhibits doxorubicin cardiotoxicity by inhibiting excessive autophagy through AMPK and p38-MAPK [J]. *Biochem Pharmacol*, 2014, 88(3): 334-350.
- [33] Wang B, Yang Q, Sun Y Y, *et al.* Resveratrol-enhanced autophagic flux ameliorates myocardial oxidative stress injury in diabetic mice [J]. *J Cell Mol Med*, 2014, 18(8): 1599-1611.
- [34] Kanamori H, Takemura G, Goto K, *et al.* Resveratrol reverses remodeling in hearts with large, old myocardial infarctions through enhanced autophagy-activating AMP kinase pathway [J]. *Am J Pathol*, 2013, 182(3): 701-713.
- [35] Lekli I, Ray D, Mukherjee S, *et al.* Co-ordinated autophagy with resveratrol and tocotrienol confers synergistic cardioprotection [J]. *J Cell Mol Med*, 2010, 14(10): 2506-2518.
- [36] Alayev A, Doubleday P F, Berger S M, *et al.* Phosphoproteomics reveals resveratrol-dependent inhibition of Akt/mTORC1/S6K1 signaling [J]. *J Proteome Res*, 2014, 13(12): 5734-5742.
- [37] 施 洋, 李 澜, 邢晓雪, 等. 心肌纤维化与慢性充血性心力衰竭研究进展 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2016,

- 32(1): 87-90.
- [38] 暴云锋, 王晶晶, 诸葛铭宁, 等. 阿霉素对 SD 大鼠心肌纤维化的影响机制 [J]. 河北医科大学学报, 2016, 37(3): 252-255.
- [39] Cappetta D, Esposito G, Piegari E, *et al.* SIRT1 activation attenuates diastolic dysfunction by reducing cardiac fibrosis in a model of anthracycline cardiomyopathy [J]. *Int J Cardiol*, 2016, 205: 99-110.
- [40] Chan V, Fenning A, Iyer A, *et al.* Resveratrol improves cardiovascular function in DOCA-salt hypertensive rats [J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2011, 12(3): 429-436.
- [41] 刘 顺, 李赫宇, 赵 玲. 白藜芦醇降血尿酸、抗炎作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2016, 39(2): 304-307.
- [42] 钱钧强, 叶因涛, 王 冬, 等. 白藜芦醇治疗阿尔茨海默病的研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2016, 31(6): 924-928.
- [43] 安 梅, 周 瑾, 陈晓宇. 白藜芦醇药理学作用的研究进展 [J]. 肿瘤药学, 2014, 4(4): 242-246.
- [44] 李先宽, 李赫宇, 李 帅, 等. 白藜芦醇研究进展 [J]. 中草药, 2016, 47(14): 2568-2578.