

刺五加注射液改善阿霉素诱导大鼠心脏收缩功能下降的作用研究

张 珊¹, 郝春华², 葛一蒙³, 韩 冰³, 张 蕊², 王维亭^{2*}, 赵专友², 汤立达^{2*}

1. 天津医科大学, 天津 300000

2. 天津药物研究院有限公司, 天津 300193

3. 哈尔滨珍宝制药有限公司, 黑龙江 哈尔滨 158400

摘要: **目的** 研究刺五加注射液对化疗药物阿霉素诱导心脏收缩功能下降的改善作用, 为其临床应用提供实验依据。**方法** 采用阿霉素诱导大鼠心脏毒性模型, 造模方法为大鼠 ip 2.5 mg/kg 的盐酸阿霉素, 每周注射 1 次, 共 6 周, 累积总药量 15 mg/kg。刺五加注射液高、中、低剂量 (200、100、50 mg/kg) 组及阳性药参芪扶正注射液 (25 mL/kg) 组分别于阿霉素注射后立即尾静脉输注相应的药液, 时长 1 h, 共 6 次。给药结束后测定大鼠心脏收缩功能参数包括射血分数 (EF)、缩短分数 (FS)、左室压最大上升速率 (+LVdp/dt_{max}) 以及心脏构型。免疫组化法测定心肌细胞凋亡率; 化学法测定血清超氧化物歧化酶 (SOD) 活性及丙二醛 (MDA)、脂质过氧化物 (LPO) 氧化应激因子水平, 酶联免疫法测定凋亡相关蛋白表达水平; 电镜下观察心肌组织的超微结构变化。**结果** 与模型组相比, 刺五加注射液 50、100、200 mg/kg 治疗后, 可改善心脏收缩功能: 使下降的 EF、FS、+LVdp/dt_{max} 均显著增加 ($P < 0.05$ 、 0.01); 刺五加注射液可改善心脏构型: 使扩张的收缩期的左室内径 (LVIDs) 明显缩短 ($P < 0.05$ 、 0.01); 使扩张的收缩期的左室腔体积 (LVVs) 显著缩小 ($P < 0.05$ 、 0.01)。刺五加注射液可显著抑制阿霉素引起的心肌细胞凋亡 ($P < 0.01$), 使 Bax/Bcl-2 显著降低 ($P < 0.01$)。刺五加注射液 100、200 mg/kg 可不同程度降低 LPO、MDA 生成量, 提高 SOD 活性。**结论** 刺五加注射液能有效缓解阿霉素诱导的大鼠心脏收缩功能下降, 可增强心脏收缩功能、改善心脏构型, 减轻心肌组织超微结构损伤, 其机制可能与减轻氧化应激损伤、抑制受损心肌细胞凋亡有关。

关键词: 刺五加注射液; 阿霉素; 心脏毒性; 心功能; 心脏构型; 氧化应激; 细胞凋亡

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)17-4071-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.17.016

Effect of Ciwujia Injection on decrease of cardiac contractile function induced by doxorubicin hydrochloride

ZHANG Shan¹, HAO Chun-hua², GE Yi-meng³, HAN Bing³, ZHANG Rui², WANG Wei-ting²,
ZHAO Zhuan-you², TANG Li-da²

1. Tianjin Medical University, Tianjin 300000, China

2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research Co., Ltd., Tianjin 300193, China

3. Harbin ZB Pharmaceutical Co., Ltd., Harbin 158400, China

Abstract: Objective To investigate the protective effect of Ciwujia Injection (CI) on the decrease of cardiac contractile function induced by doxorubicin hydrochloride, and provide experimental basis for its clinical application. **Methods** The cardiotoxicity model in rats was established by ip injection of doxorubicin hydrochloride with a dose of 2.5 mg/kg every week for 6 weeks, and the total cumulative dose was 15 mg/kg. Rats were equally divided into five groups with 10 rats in each group (e.g. model group, three test groups of CI, positive group). In addition, a normal control group of 10 rats was injected intraperitoneally with normal saline (NS) once a week for 6 weeks. Normal control and model group were given NS intravenously. The test groups were given CI and the positive group was given Shenqi Fuzheng Injection. The CI and Shenqi Fuzheng Injection were infused by tail vein for 1 h when doxorubicin hydrochloride administrated. The parameters of left ventricular systolic function including ejection fraction (EF), shortening fraction (FS), the maximal rate of rise of left ventricular pressure (+LVdp/dt_{max}), and heart geometric shape were measured. Cardiomyocyte apoptosis was measured with immunohistochemistry, apoptosis-related protein and oxidative stress factors such as SOD, MDA, and

收稿日期: 2018-04-22

作者简介: 张 珊 (1994—), 女, 在读硕士生, 主要从事心血管药理学研究。Tel: (022)84845240 E-mail: 15731113356@163.com

*通信作者 王维亭 (1974—), 男, 研究员, 主要从事心血管药理学研究。Tel: (022)84845240 E-mail: wangwt@tjpr.com

汤立达 (1963—), 男, 研究员, 主要从事新药药理、新靶点药物分子设计及新药发现研究。Tel: (022)23006908 E-mail: tangld@tjpr.com

LPO were measured with enzyme-linked immune sorbent assay, or chemical method. The ultrastructural changes of myocardium under electron microscope were observed. **Results** Compared with model group, after CI treatment (50, 100, and 200 mg/kg), the cardiac systolic function was improved; the declined EF, FS, and $+LVdp/dt_{max}$ increased ($P < 0.05, 0.01$). The heart geometric shape was improved significantly with CI treatment, the expanded LVIDs and LVVs decreased ($P < 0.05, 0.01$). CI can inhibit myocardial cell apoptosis ($P < 0.01$), the myocardial apoptosis rate decreased ($P < 0.01$), and the Bax/Bcl-2 decreased ($P < 0.01$). In addition, CI (100 and 200 mg/kg) can decline the generation of LPO, MDA and increase the activity of SOD. **Conclusion** CI can effectively relieve cardiotoxicity induced by doxorubicin hydrochloride in rats, increase cardiac function, improve the cardiac configuration, and reduce the damage of myocardial ultrastructure. The mechanism may be related to decreasing oxidative stress and inhibition of apoptosis in impaired myocardial cells.

Key words: Ciwujia Injection; doxorubicin hydrochloride; cardiotoxicity; cardiac function; heart geometric shape; oxidative stress; apoptosis

刺五加又名五加参，是五加科植物刺五加 *Acanthopanax senticosus* (Rupr. et Maxim.) Harms 的根或根茎或茎^[1]，该植物主要分布于我国黑龙江、吉林、辽宁、山西、河北、陕西等地^[2]。目前对刺五加药用部位的研究主要集中在根、根茎和叶上，其化学成分主要有苷类（刺五加苷 A、B、C、D、E、F、G 等）、有机酸类（丁香酸、硬脂酸、肉豆蔻酸等）、黄酮类（芦丁、葛根素、山柰酚等）、多糖类（蔗糖、木糖、果糖等）、氨基酸及微量元素和其他化学成分（酪醇、豆甾醇等）^[3]。刺五加性温、味辛、微苦、无毒，主归脾、肾、心经。研究表明^[4]，刺五加叶皂苷（ASS）能减少缺血性神经元凋亡，开放 ATP 敏感性钾通道对缺血心肌产生保护作用，降低血糖，抑制癌细胞 DNA 合成，抗疲劳等；刺五加多糖（ASPS）具有抗肿瘤、增强免疫力等作用^[5-6]。刺五加注射液是刺五加经水醇法提取制成的灭菌制剂，研究发现，刺五加制剂在临床上主要应用于冠心病心绞痛、脑出血、脑梗死、围绝经期综合征、眩晕症、高通气综合征、白细胞减少症、高脂血症、慢性气管炎、黄褐斑等疾病的治疗^[7-8]。目前刺五加的主要剂型有片剂、注射液、口服液、胶囊等。

阿霉素（Doxorubicin, DOX）是一种高效的广谱抗肿瘤化疗药物，由于耐药性和毒副作用大（尤其是心脏毒性）等问题使其使用受到限制，故近年来的临床研究更注重化疗与其他治疗方案相结合，从而达到协同治疗的效果^[9-11]。目前 DOX 引起心脏毒性的防治对策主要有合成新的毒性较小的 DOX 类似物，或是应用右丙亚胺、褪黑素、白藜芦醇等抗氧化剂，减轻 DOX 造成的心脏毒性^[12-14]，这些药物虽然已被证明有一定心脏保护作用，但长期应用会使疗效降低甚至消失^[15]。中药与化疗药物联用

在增效减毒方面的优势越来越明显，也被越来越多的研究所证实^[16]。刺五加注射液具有心脏保护作用，但对 DOX 诱导的心脏收缩功能损伤的影响尚未见相关报道。本研究采用阿霉素导致的大鼠心脏毒性损伤，侧重于心脏收缩功能下降模型，探讨刺五加注射液的心脏保护作用及其相关机制，为其临床应用提供依据。

1 材料

1.1 实验动物

Wistar 大鼠，SPF 级，雄性，体质量（ 283.0 ± 19.0 ）g，由北京维通利华实验动物技术有限公司提供，动物生产许可证号 SCXK（京）2016-0011。

1.2 药品与试剂

刺五加注射液，哈尔滨珍宝制药有限公司生产，规格为 20 mL/支，批号 D17030315（临用前用生理盐水溶液配制至所需浓度供静脉给药用）；参芪扶正注射液，丽珠集团利民制药厂生产，规格为 250 mL/瓶，批号 160617（临用前用生理盐水溶液配制至所需浓度供静脉给药用）；盐酸阿霉素（CAS 25316-40-9，相对分子质量 57998），RuiTaibio 产品，规格为 500 mg/瓶；TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒，Roche 公司产品，货号 11684817910，批号 24529300；兔 SP 检测试剂盒（批号 17149A06）、DAB 试剂盒（批号 K176904D），均为北京中杉金桥生物技术公司产品；大鼠 Bcl-2 ELISA 试剂盒（批号 201710）、大鼠 Bax ELISA 试剂盒（批号 201710），均为 Bio-Swamp 公司产品；丙二醛（MDA）测试盒（批号 20170517）、总超氧化物歧化酶（SOD）试剂盒（批号 20170513）、脂质过氧化物（LPO）测试盒（批号 20170519）、BCA 法蛋白定量测试盒（批号 20171014），均为南京建成生物工程研究所产品。

1.3 仪器

Rayto RT-6100 全自动酶标仪,雷杜生命科学股份有限公司产品;B320A 型医用低速离心机,白洋离心机厂产品;TS100 显微镜成像系统,日本 Nikon 公司产品;MP150 多导生理信号采集系统,美国 Biopac system Inc 产品;Vevo 770TM-120 多普勒超声仪,Visual Sonics 公司产品;日立 HT7700Vevo 透射电镜,日立高新技术公司产品。

2 方法

2.1 模型制备与分组给药

将 50 只大鼠随机分成 5 组,每组 10 只,分别为模型组,刺五加注射液高、中、低剂量(200、100、50 mg/kg,分别相当于临床拟用量的 2、1、0.5 倍)组,阳性对照药参芪扶正注射液(25 mL/kg,相当于临床等效剂量)组。使用生理盐水将盐酸阿霉素配制成 2.5 mg/mL 溶液,以上 5 组大鼠 ip 盐酸阿霉素,每次 2.5 mg/kg,每周 1 次,共 6 周,累积总药量 15 mg/kg;另设对照组(10 只大鼠),ip 等体积生理盐水,每周 1 次,共 6 周。各给药组于阿霉素注射后立即尾静脉输注相应药液,时长 1 h,每周 1 次,共 6 次。对照组、模型组静脉输注等量生理盐水。

2.2 检测指标

2.2.1 多普勒心脏收缩功能及构型测定 以 Vevo 770TM-120 多普勒超声仪 17.5 MHz 探头测量超声心动图,在左室短轴解剖位获取 M 模式图像并储存,通过离线工作站软件测定舒张期的室间隔厚度(IVSd)、左室内径(LVIDd)、后壁厚度(LVPWd)、腔体积(LVVd)和收缩期的室间隔厚度(IVSs)、左室内径(LVIDs)、后壁厚度(LVPWs)、腔体积(LVVs),以及射血分数(EF)、缩短分数(FS)。

2.2.2 左室压最大上升速率(+LVdp/dt_{max})测定 将 SPR-320NR (2F) Millar 压力导管插入右侧颈动脉后逆向插管至左心室,测定左室内压(LVSP),计算+LVdp/dt_{max}。以 MP150 多导生理信号系统采集记录参数,AcqKnowledge v.3.9.1 软件进行数据测量。

2.2.3 氧化应激因子测定 实验结束后,大鼠经腹主动脉取血,4 ℃、3 000 r/min 离心 10 min,取上层血清,化学法测定 SOD、MDA、LPO。

2.2.4 心肌细胞凋亡及凋亡相关蛋白测定 实验结束后,每组取 4 只大鼠心脏,用生理盐水冲洗后,置 4%甲醛固定。以冠状位切取组织,进行石蜡包埋,

制作石蜡切片,切片厚度 5 μm,用细胞凋亡原位检测试剂盒进行染色,每只心脏组织随机选取 5 个视野,显微镜下(×20)观察拍照,经病理图像分析系统测定并计算心肌细胞凋亡率(凋亡细胞数/总细胞数)。取每只大鼠的心脏组织约 50 mg,以 0.9%生理盐水制备成 10%的组织匀浆,3 000 r/min 离心 10 min,取上清组织液,ELISA 法测定蛋白含量及 Bcl-2、Bax 蛋白表达水平。

2.2.5 电镜心脏超微结构观察 实验结束后,每组取 1 只心脏,用生理盐水冲洗后,切取约 1 mm×1 mm×1 mm 的组织块,并置于 3%的戊二醛溶液中进行固定,制备电镜标本,在电镜下观察心肌组织的超微结构变化。

2.3 统计方法

所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,正态性、方差齐性资料采用单因素方差分析组间差异性,两组间比较采用 LSD 法;非正态、方差不齐资料采用 Kruskalwallis 非参数检验;计量资料以率来表示,采用 Fisher 精确检验。各给药组与模型组比较时,各指标的变化率(增加率、降低率、缩小率)均为给药组与模型组差值的绝对值和模型组与对照组差值的绝对值的比值计算而来。

3 结果

3.1 对心脏收缩功能的影响

3.1.1 对 EF 的影响 模型组大鼠心肌损伤后,EF 明显降低,较对照组下降 16.6% ($P < 0.001$)。刺五加注射液 50、100、200 mg/kg 治疗后,使下降的 EF 分别增加了 52.7% ($P < 0.05$)、55.5% ($P < 0.01$)、65.8% ($P < 0.01$)。阳性对照药参芪扶正注射液 25 mL/kg 亦可使下降的 EF 增加 58.9% ($P < 0.01$)。刺五加注射液 100 mg/kg 与参芪扶正注射液 25 mL/kg 效果相当。结果见表 1。

3.1.2 对 FS 的影响 模型组大鼠心肌损伤后,FS 明显降低,较对照组下降 26.5% ($P < 0.001$)。刺五加注射液 50、100、200 mg/kg 治疗后,使下降的 FS 分别增加了 45.6% ($P < 0.05$)、48.1% ($P < 0.05$)、59.5% ($P < 0.01$)。阳性对照药参芪扶正注射液 25 mL/kg 亦可使下降的 FS 增加 51.3% ($P < 0.05$)。刺五加注射液 100 mg/kg 与参芪扶正注射液 25 mL/kg 效果相当。结果见表 1。

3.1.3 对 +LVdp/dt_{max} 的影响 模型组大鼠心肌损伤后+LVdp/dt_{max} 明显降低 ($P < 0.001$),表明左室收缩功能明显下降。与模型组比较,刺五加注射

表 1 刺五加注射液对阿霉素损伤大鼠心脏收缩功能的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 1 Effect of Ciwujia Injection on cardiac contractile function of myocardial injured rats induced by adriamycin ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	EF/%	FS/%	+LVdp/dt _{max} /(mmHg·s ⁻¹)
对照	—	87.8±5.9	59.6±7.6	5 124.1±743.9
模型	—	73.2±9.7 ^{△△△}	43.8±8.1 ^{△△△}	3 464.6±544.9 ^{△△△}
刺五加注射液	50	80.9±5.8*	51.0±6.3*	3 851.6±897.3
	100	81.3±5.1**	51.4±6.2*	4 124.2±653.6*
	200	82.8±5.6**	53.2±7.4**	4 579.3±949.2**
参芪扶正注射液	25 mL·kg ⁻¹	81.8±6.5**	51.9±7.2*	4 154.5±566.9*

与对照组比较: ^{△△△} $P < 0.001$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$, 下同^{△△△} $P < 0.001$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group, same as below

液 50、100、200 mg/kg 可使下降的+LVdp/dt_{max} 分别增加 23.3% ($P > 0.05$)、39.7% ($P < 0.05$)、67.2% ($P < 0.01$)。阳性对照药参芪扶正注射液 25 mL/kg 可使下降的+LVdp/dt_{max} 增加 41.6% ($P < 0.05$)。刺五加注射液 100 mg/kg 与参芪扶正注射液 25 mL/kg 比较作用相当。结果见表 1。

3.2 对左室构型的影响

3.2.1 对室间隔厚度 (IVSd、IVSs) 的影响 刺五加注射液各剂量组以及阳性对照药参芪扶正注射液组对 IVS 无明显影响。结果见表 2。

3.2.2 对左室后壁厚度 (LVPWd、LVPWs) 的影响 阿霉素致大鼠心肌损伤后左室腔后壁厚度 (LVPW) 变化不明显, 刺五加注射液各剂量组、阳性对照药参芪扶正注射液组对 LVPW 无明显影响。结果见表 2。

3.2.3 对左室内径 (LVIDd、LVIDs) 的影响 模型组阿霉素致心肌损伤后 LVIDs 明显增加, 较对照组增加了 41.0% ($P < 0.001$)。刺五加注射液 50、100、200 mg/kg 治疗后, 使扩张的 LVIDs 分别缩小了 47.6% ($P < 0.05$)、57.1% ($P < 0.05$)、71.4% ($P < 0.01$)。阳性对照药参芪扶正注射液 25 mL/kg 亦使扩张的 LVIDs 缩小 69.5% ($P > 0.05$)。刺五加注射液 100 mg/kg 与参芪扶正注射液 25 mL/kg 效果相

当。结果见表 3。

3.2.4 对左室腔体积 (LVVd、LVVs) 的影响 阿霉素致大鼠心肌损伤后 LVVs 明显扩大 ($P < 0.001$)。刺五加注射液 50、100、200 mg/kg 治疗后, 使扩张的 LVVs 分别缩小了 51.6% ($P < 0.05$)、66.3% ($P < 0.01$)、78.5% ($P < 0.01$)。阳性对照药参芪扶正注射液 25 mL/kg 亦可使扩张的 LVVs 缩小 73.1% ($P < 0.01$)。刺五加注射液 100 mg/kg 与参芪扶正注射液 25 mL/kg 效果相当。结果见表 3。

3.3 对心肌组织凋亡及凋亡相关蛋白表达的影响

由表 4 和图 1 结果可见, 模型组阿霉素致心肌损伤后, 心肌细胞凋亡率明显升高 ($P < 0.001$)。刺五加注射液 50、100、200 mg/kg 治疗后, 与模型组比较心肌细胞凋亡率不同程度降低 2.0% ($P > 0.05$)、21.2% ($P < 0.05$)、30.6% ($P < 0.01$), 能够明显抑制缺血心肌细胞的凋亡。阳性对照药参芪扶正注射液 25 mL/kg 也有相似的作用 ($P < 0.05$)。模型组 Bax/Bcl-2 明显升高, 刺五加注射液 50、100、200 mg/kg 治疗后, 使 Bax/Bcl-2 分别降低 27.4% ($P > 0.05$)、49.8% ($P < 0.01$)、66.2% ($P < 0.01$)。阳性对照药参芪扶正注射液 25 mL/kg 也有相似的作用 ($P < 0.05$)。

表 2 刺五加注射液对阿霉素损伤大鼠室间隔和左室后壁厚度影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 2 Effect of Ciwujia Injection on IVS and LVPW of myocardial injured rats induced by adriamycin ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	IVSd/mm	IVSs/mm	LVPWd/mm	LVPWs/mm
对照	—	1.67±0.45	3.01±0.51	1.86±0.49	2.94±0.42
模型	—	1.62±0.53	2.69±0.56	1.68±0.50	2.65±0.32
刺五加注射液	50	1.76±0.56	3.05±0.35	1.69±0.34	2.87±0.50
	100	2.06±1.07	2.81±0.40	1.99±0.38	2.92±0.47
	200	1.70±0.45	2.96±0.56	1.74±0.49	2.68±0.36
参芪扶正注射液	25 mL·kg ⁻¹	1.71±0.50	2.82±0.54	1.85±0.68	2.98±0.63

表 3 刺五加注射液对阿霉素损伤大鼠左室内径和左室腔体积的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of Ciwujia Injection on LVID and LVV of myocardial injured rats induced by adriamycin ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	LVIDd/mm	LVIDs/mm	LVVd/ μ L	LVVs/ μ L
对照	—	6.32 $\pm$ 0.52	2.56 $\pm$ 0.58	204.2 $\pm$ 37.8	25.6 $\pm$ 14.7
模型	—	6.44 $\pm$ 0.56	3.61 $\pm$ 0.56 $\Delta\Delta\Delta$	213.0 $\pm$ 43.1	56.8 $\pm$ 19.9 $\Delta\Delta\Delta$
刺五加注射液	50	6.33 $\pm$ 0.90	3.11 $\pm$ 0.65*	208.5 $\pm$ 67.6	40.7 $\pm$ 19.7*
	100	6.30 $\pm$ 0.82	3.01 $\pm$ 0.34*	203.4 $\pm$ 61.7	36.1 $\pm$ 11.0**
	200	6.13 $\pm$ 0.52	2.86 $\pm$ 0.45**	190.5 $\pm$ 36.2	32.3 $\pm$ 10.3**
参芪扶正注射液	25 mL·kg ⁻¹	5.96 $\pm$ 0.85	2.88 $\pm$ 0.65**	182.0 $\pm$ 59.2	34.0 $\pm$ 17.3**

表 4 刺五加注射液对阿霉素损伤大鼠心肌细胞凋亡率及凋亡蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Effect of Ciwujia Injection on myocardial apoptosis rate and apoptosis protein of myocardial injured rats induced by adriamycin ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	凋亡率/% (n = 4)	Bax/(ng·mg ⁻¹ , n = 10)	Bcl-2/(pg·mg ⁻¹ , n = 10)	Bax/Bcl-2 (n = 10)
对照	—	4.9 $\pm$ 4.4	0.70 $\pm$ 0.19	21.1 $\pm$ 3.5	33.3 $\pm$ 7.2
模型	—	30.4 $\pm$ 6.8 $\Delta\Delta\Delta$	0.98 $\pm$ 0.11 $\Delta\Delta\Delta$	17.4 $\pm$ 2.3	57.0 $\pm$ 10.5 $\Delta\Delta\Delta$
刺五加注射液	50	29.9 $\pm$ 9.7	0.90 $\pm$ 0.12	18.0 $\pm$ 2.8	50.5 $\pm$ 5.4
	100	25.0 $\pm$ 7.7*	0.84 $\pm$ 0.17*	18.8 $\pm$ 2.7	45.2 $\pm$ 9.5**
	200	22.6 $\pm$ 8.6**	0.78 $\pm$ 0.16**	19.1 $\pm$ 2.5	41.3 $\pm$ 8.0**
参芪扶正注射液	25 mL·kg ⁻¹	25.5 $\pm$ 7.9*	0.87 $\pm$ 0.11	18.8 $\pm$ 2.4	46.5 $\pm$ 7.1*

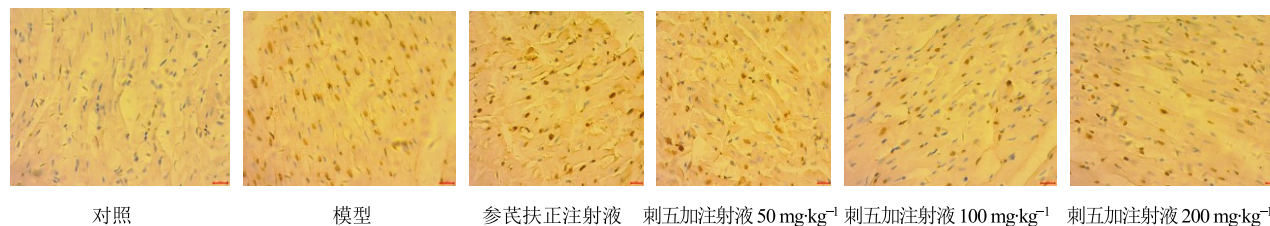


图 1 刺五加注射液对阿霉素损伤大鼠心肌细胞凋亡的影响 (TUNEL, $\times 200$)

Fig. 1 Effect of Ciwujia Injection on myocardial apoptosis of myocardial injured rats induced by adriamycin (TUNEL, $\times 200$)

3.4 对氧化应激因子的影响

模型组大鼠阿霉素致心肌损伤后, 血清 LPO、MDA 水平明显增加 ($P < 0.01$), SOD 活性明显降低 ($P < 0.01$)。刺五加注射液 100、200 mg/kg 可不同程度降低 LPO、MDA 水平 ($P < 0.05$ 、0.01), 提高 SOD 活性 ($P < 0.05$ 、0.01)。阳性对照药参芪扶正注射液 25 mL/kg 可使 LPO、MDA 下降 ($P < 0.05$), SOD 活性提高 ($P < 0.05$)。刺五加注射液 100 mg/kg 与参芪扶正注射液 25 mL/kg 比较作用相当。结果见表 5。

3.5 对心肌组织超微结构的影响

透射电镜下观察, 对照组肌原纤维排列整齐, Z 线清晰可见, 肌节结构清晰、排列有序。模型组大鼠心肌细胞肌纤维排列紊乱, 部分溶解, 肌丝断裂溶解, 肌丝断裂导致 Z 线消失, 大部分肌小节结

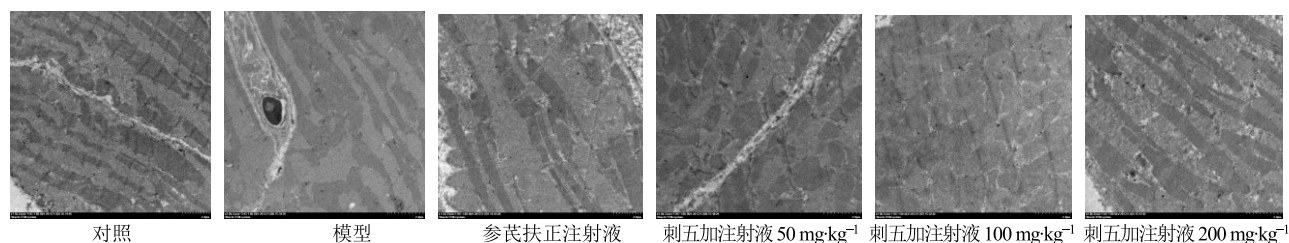
构模糊不清, 甚至消失, 线粒体脊排列紊乱。刺五加注射液 100、200 mg/kg 和阳性对照药参芪扶正注射液治疗后可不同程度改善这种病理改变。刺五加注射液 50 mg/kg 组心肌纤维排列紊乱, Z 线模糊或消失, 心肌细胞间隙部分增宽; 100 mg/kg 组病变比模型组较轻, Z 线模糊, 心肌纤维排列紊乱; 200 mg/kg 组肌纤维排列相对整齐, Z 线模糊, 肌小节结构相对完整。阳性对照药参芪扶正注射液组肌纤维排列相对整齐, 部分区域内 Z 线清晰可见。结果见图 2。

4 讨论

随着癌症化疗药物的效果不断提高, 癌症患者的预后也随之不断改善。然而, 由于化疗引起的心肌病变却成为癌症患者不良预后的重要因素之一。阿霉素^[17-18]属于蒽环类药物, 是目前临床常

表 5 刺五加注射液对阿霉素损伤大鼠氧化应激因子的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 5 Effect of Ciwujia Injection on oxidative stress factor of myocardial injured rats induced by adriamycin ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	MDA/(nmol·mL ⁻¹)	SOD/(U·mL ⁻¹)	LPO/(μmol·L ⁻¹)
对照	—	6.13 ± 1.86	156.4 ± 19.9	1.64 ± 0.56
模型	—	8.77 ± 2.11 ^{△△}	131.1 ± 17.5 ^{△△}	2.45 ± 0.53 ^{△△}
刺五加注射液	50	8.20 ± 1.87	134.3 ± 20.6	1.98 ± 0.57
	100	7.02 ± 1.64*	146.7 ± 14.1*	1.88 ± 0.76*
	200	6.79 ± 1.78*	152.8 ± 12.5**	1.70 ± 0.56**
参芪扶正注射液	25 mL·kg ⁻¹	7.10 ± 1.22*	148.2 ± 16.5*	1.87 ± 0.47*

图 2 刺五加注射液对阿霉素损伤大鼠心肌超微结构的影响 ($\times 2\ 000$)Fig. 2 Effect of Ciwujia Injection on myocardial ultrastructure of myocardial injured rats induced by adriamycin ($\times 2\ 000$)

用的癌症化疗药物，心脏毒性是其不良反应之一。阿霉素致心肌损伤的确切机制相对复杂，近期研究认为，氧化应激、线粒体损伤、钙超载和细胞遗传毒性是阿霉素造成心肌损伤的主要机制。自由基的生成引起膜脂质过氧化，可损害心肌细胞膜的完整性^[19-20]，心肌细胞膜通透性的增加或者破裂，心肌酶可不同程度地释放到血清中，各种酶的释放可加重心肌损伤^[21]，从而形成“损伤-酶释放-再损伤”恶性循环。严重的毒副作用也让很多患者望而止步^[22-23]，尽管大多数阿霉素制剂的治疗效果较好，但当其累积剂量达到 700 mg/m² 以上时，心衰发生率可达 48%^[24]。

有研究表明刺五加在保护心脑血管方面发挥作用的主要化学成分是皂苷类^[25]，睢大员等^[26]研究发现，刺五加叶皂苷通过减少自由基、增强心肌组织抗氧化酶活性，缩小心肌缺血再灌注引起的心肌梗死面积，改善大鼠心肌缺血再灌注引起的心律失常，改善急性血瘀模型大鼠的血液流变学的异常变化，抑制血小板聚集，推测心肌缺血的保护作用可能与其改善血流动力学有关。

本实验采用徐建虎等^[27]报道的方法进行造模，即大鼠 ip 阿霉素，每次 2.5 mg/kg，每周注射 1 次，共 6 周，累积总药量 15 mg/kg。各组大鼠给予阿霉素 3 周后，体质量陆续减轻，出现阿霉素中毒现象，表现为精神状态差、活动能力下降、进食减少、被

毛松软、脱毛、腹部膨隆，以及腹水严重、肝水肿变形、心功能明显下降等症状与体征。造模成功的大鼠给予刺五加注射液有明显的治疗作用，首先，一定程度上改善了模型大鼠的心脏收缩功能：刺五加注射液 50、100、200 mg/kg 治疗后，可使心脏收缩功能标志性指标 EF、FS、+LVdp/dt_{max} 分别增加 60% 左右。其次，纠正扩张的心脏构型，改善心脏重塑，刺五加注射液高剂量下可使增加的左心室收缩期心腔体积减小 78.5%。最后，刺五加注射液治疗后能明显减轻心肌组织的损伤，表现在可减轻心肌组织超微结构的病理改变方面。

刺五加注射液对化疗药物阿霉素诱导心脏收缩功能下降的改善作用，可能与调节氧化/抗氧化平衡有关。一方面刺五加注射液可能通过调节氧化应激因子相关酶表达及其状态，使抗氧化物质活性提高，使氧化损伤物质生成减少，促进自由基的清除。本研究发现，刺五加注射液使 MDA、LPO 的清除率显著增加，使 SOD 的活性显著提高，可见刺五加注射液在减轻“自由基-膜损伤”机制中，可发挥直接保护作用；另一方面可能通过调节 Bax/Bcl-2 凋亡相关调节酶的表达，抑制心肌细胞凋亡。本研究发现，刺五加注射液对 Bax/Bcl-2 最高抑制率可达 66.2%，对心肌细胞凋亡的最高抑制率可达 30.6%。可见刺五加注射液在减轻“氧化应激-线粒体”内源性细胞凋亡途径的凋亡机制中，可发挥间接保护作用。

本研究通过阿霉素累积给药,可诱导大鼠心脏收缩功能的显著下降,静脉给予刺五加注射液,发现能有效缓解阿霉素导致的大鼠心脏毒性,可增加心脏收缩功能、改善心脏构型,减轻心肌组织超微结构损伤,其机制可能与抗氧化应激、抑制细胞凋亡有关。刺五加注射液抗阿霉素心脏毒性的作用及更多方面的机制研究,以及未来临床应用的效果,仍有待深入探讨。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 孟祥才, 于冬梅, 孙 晖, 等. 不同产地种质和环境对刺五加药材质量影响的研究 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2010, 12(4): 610-613.
- [3] 杨晓丹, 井月娥, 卢 芳. 刺五加的化学成分研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2015, 2(33): 316-318.
- [4] 郑 婧, 张贵君. 刺五加的化学成分和药理作用的研究进展 [A] // 第四届中国中药商品学术大会暨中药鉴定学科教学改革与教材建设研讨会论文集 [C]. 北京: 中国商品学会, 2015.
- [5] 侯雅竹, 李志君, 毛静远, 等. 中药刺五加心血管药理研究进展 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2017, 15(20): 2546-2549.
- [6] 李文佳, 刘 强, 金丽华. 刺五加提取物对果蝇免疫功能的影响 [J]. 中草药, 2012, 43(10): 1997-2001.
- [7] 张旭东, 马 杰, 张淑慧. 刺五加制剂的临床应用进展 [J]. 中国药房, 2008, 19(3): 231-233.
- [8] 雷 挺. 刺五加注射液对于冠心病心绞痛患者血小板活化及血管功能状态的影响 [J]. 海南医学院学报, 2015, 21(5): 627-630.
- [9] 张珊珊. 阿霉素和 miR-21 抑制剂联用对胶质瘤协同抑制作用机制的研究 [D]. 天津: 天津大学, 2014.
- [10] 关红梅, 王宏娟, 周 莲, 等. 阿霉素治疗恶性肿瘤的疗效及心脏毒性观察 [J]. 心血管康复医学杂志, 2004, 13(4): 374-376.
- [11] 彭 琳, 唐小海, 严 伟, 等. 果胶阿霉素对大鼠心脏毒性的研究 [J]. 中国药理学通报, 2016, 32(8): 1075-1080.
- [12] 朱 梁, 裴茂炜, 沈 栋, 等. 阿霉素心脏毒性发生机制及其防治的研究进展 [J]. 健康研究, 2013, 33(2): 102-105.
- [13] 张 蕊, 马寅仲, 孙双勇, 等. 白藜芦醇对阿霉素诱导心脏毒性保护作用的研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2017, 32(4): 752-756.
- [14] 卢均坤, 王燕琴, 初而复, 等. 苦参碱对阿霉素诱导大鼠心肌损伤的保护作用及其机制研究 [J]. 现代药物与临床, 2016, 31(5): 572-576.
- [15] 黄 磊. SalB 对阿霉素诱导心脏毒性的保护作用及其机制研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2015.
- [16] 杨佩颖, 李小江, 孔凡铭, 等. 消岩汤对 Lewis 肺癌小鼠化疗后骨髓抑制的影响 [J]. 中草药, 2016, 47(9): 1567-1571.
- [17] 吴运香, 张 野, 谢春林, 等. SD 大鼠阿霉素慢性心力衰竭模型的建立与评价 [J]. 中国药理学通报, 2011, 27(8): 1170-1173.
- [18] 李世红, 王绍军. 阿霉素心脏毒性发病机制新进展 [J]. 临床心血管病杂志, 2005, 21(4): 249-252.
- [19] Lu L H, Wu W K, Yan J Y, *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.
- [20] 何晓华, 何并文, 唐步坚, 等. 阿霉素心脏毒性的药物防护 [J]. 中国癌症防治杂志, 2010, 2(1): 60-63.
- [21] Thangaiyan R, Chellam R, Selvaraj S, *et al.* Effect of ursolic acid on cardiac marker enzymes, lipid profile and macroscopic enzyme mapping assay in isoproterenol-induced myocardial ischemic rats [J]. *Food Chem Toxicol*, 2012, 50(11): 3971-3977.
- [22] Carvalho C, Santos R X, Cardoso S, *et al.* Doxorubicin: The good, the bad and the ugly effect [J]. *Curr Med Chem*, 2009, 16(25): 3267-3285.
- [23] Islamian J P, Aghaee F, Farajollahi A, *et al.* Combined treatment with 2-deoxy-D-glucose and Doxorubicin enhances the *in vitro* efficiency of breast cancer radiotherapy [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2015, 16(18): 8431-8438.
- [24] Swain S M, Whaley F S, Ewer M S. Congestive heart failure in patients treated with doxorubicin: A retrospective analysis of three trials [J]. *Cancer*, 2003, 97(11): 2869-2879.
- [25] 李 洋, 曲绍春, 于晓风, 等. 刺五加叶皂苷对麻醉犬器官血流的影响 [J]. 吉林大学学报: 医学版, 2006, 32(6): 1009-1012.
- [26] 睢大员, 于小风, 曲绍春, 等. 刺五加叶皂苷对大鼠心肌缺血再灌注心律失常的影响 [J]. 吉林大学学报, 2004, 30(4): 530-533.
- [27] 徐建虎, 张 琦, 杨子庆, 等. 阿霉素诱导大鼠慢性心衰模型的制备 [J]. 宁夏医科大学学报, 2016, 38(3): 348-351.