

丹参素钠果糖口服液对小鼠阿霉素诱导心脏毒性的影响

曾 坚¹, 许锦荣^{1*}, 苏成标¹, 郭英杰¹, 陈百通², 汤 政², 李森盛² (1. 广东医科大学附属第二医院心血管内科, 广东湛江 524003; 2. 广东医科大学, 广东湛江 524023)

摘要: **目的** 观察丹参素钠果糖口服液对小鼠阿霉素诱导心脏毒性的影响。**方法** 18只昆明小鼠随机分为对照组、模型组、干预组, 分别接受腹腔注射生理盐水、阿霉素及联合丹参素钠果糖口服液灌胃处理; 4周后用心脏彩超评价心功能, ELISA检测心肌酶、VEGF、受磷蛋白(PLN)、HS相关蛋白X-1(HAX-1)及肌质网钙离子ATP酶(SERCA2a)水平。**结果** 与模型组比较, 干预组身体质量、心脏质量、心脏射血分数、左心室短轴缩短率、血清SERCA2a水平升高, 而左室收缩/舒张末期内径及血清乳酸脱氢酶、谷草转氨酶、VEGF水平降低。**结论** 丹参素钠果糖口服液可能通过调节VEGF和SERCA2a表达减轻阿霉素诱导心肌毒性。

关键词: 丹参素钠; 果糖; 阿霉素; 心毒性; 小鼠

中图分类号: R 322.1^{†1}

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610(2020)05-0553-03

Effect of oral solution of Danshensu sodium-fructose on adriamycin-induced cardiotoxicity in mice

ZENG Jian¹, XU Jin-rong^{1*}, SU Cheng-biao¹, GUO Ying-jie¹, CHEN Bai-tong², TANG Zheng², LI Miao-sheng²
(1. Department of Emergency, Affiliated Second Hospital, Guangdong Medical University, 2. Guangdong Medical University, Zhanjiang 524003, China)

Abstract: **Objective** To observe the effect of oral solution of Danshensu sodium-fructose (DSSSF) on adriamycin-induced cardiotoxicity in mice. **Methods** Eighteen Kunming mice were randomly divided into control, model and intervention groups, each receiving intraperitoneal injection of normal saline, adriamycin and adriamycin+oral administration of DSSSF. Cardiac function and serum levels of myocardial enzymes, VEGF, phospholamban, HS-associated protein X-1 (HAX-1) and SERCA2a were detected by echocardiography and ELISA after 4 weeks, respectively. **Results** Compared with model group, body and heart weight, ejection fraction, left ventricular fractional shortening, and serum SERCA2a content were increased, while left ventricular end systolic/diastolic diameter, and serum levels of lactate dehydrogenase, aspartate aminotransferase and VEGF decreased. **Conclusion** Oral solution of DSSSF might mitigate adriamycin-induced cardiotoxicity through regulating VEGF and SERCA2a expression in mice.

Key words: Danshensu sodium; fructose; adriamycin; cardiotoxicity; mice

阿霉素是一种广谱的细胞毒类抗肿瘤药物, 然而, 它有严重的剂量依赖性的心脏毒性, 这大大限制了它在临床上的广泛应用。因此, 揭露阿霉素心肌毒性的机制, 寻找有效减轻其心肌毒性的药物具有重要的意义。丹参素是从传统中药丹参提取的酚性芳香酸类化合物, 具有良好的抗氧化、抗炎、心

肌保护和改善微循环等作用^[1-2]。本研究通过构建阿霉素慢性心毒性模型, 探讨丹参素钠联合果糖口服液对心毒性的影响及其作用机制。

1 实验材料

1.1 实验动物

雄性成年SPF级昆明小鼠18只, 8周龄, 身体质量20~22 g, 购自广西医科大学。

1.2 试剂

阿霉素(Sigma), 丹参素钠(天津万象恒远科技有限公司, 纯度≥98%), 果糖(广东永青生物科技有限公司)。丹参素钠果糖口服液则由广东医科大学海洋研究院研制而成。乳酸脱氢酶(LDH)、谷草转氨酶

基金项目: 湛江市财政资金科技专项竞争性分配项目
(No.2017A01029)

收稿日期: 2020-03-24; **修订日期:** 2020-06-03

作者简介: 曾 坚(1970-), 男, 学士, 副主任医师

通信作者: 许锦荣(1968-), 男, 学士, 主任医师,

E-mail: zjeyxjr@163.com

(AST)、血管内皮生长因子(VEGF)、受磷蛋白(PLN)、HS相关蛋白X-1(HAX-1)及肌质网钙离子ATP酶(SERCA2a)的水平均采用ELISA试剂盒检测,购自于南京建成生物科技有限公司或上海纪宁实业有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 动物建模、分组与给药 所有小鼠随机分为对照组、模型组和干预组,每组6只。对照组予生理盐水0.1 mL/10 g灌胃,每天1次,连续4周。模型组予生理盐水0.1 mL/10g灌胃,每天1次,连续4周;同时腹腔注射3 mg/kg阿霉素,每周1次。干预组在接受每周腹腔注射3 mg/kg阿霉素造模的基础上,予105 mg/kg丹参素钠和600 mg/kg果糖灌胃,每天1次,连续4周。实验结束后,所有小鼠禁食24 h,取血并分离血清,备用。

1.3.2 评价指标 采用心脏超声成像(VisualSonics, Vevo 2100)对动物心功能进行评价,测量左室收缩末期内径(LVIDs)和左室舒张末期内径(LVIDd),计算射血分数(EF)和短轴缩短率(FS)。每周记录小鼠身体质量1次,使用试剂盒检测血清中LDH、AST、VEGF、PLN、HAX-1和SERCA2a水平。

1.3 统计学处理

计量资料以均数±标准误($\bar{x} \pm sem$)表示,采用Kruskal-Wallis *H*检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 丹参素钠果糖口服液对阿霉素心毒性小鼠身体质量及心脏质量的影响

实验结束时,与正常组比较,模型组小鼠身体质量明显下降($P < 0.01$)。模型组与干预组小鼠的身体质量差异无统计学意义($P > 0.05$)。与正常组比较,模型组的心脏质量降低($P < 0.01$),干预组的心脏质量差异无统计学意义($P > 0.05$);干预组的心脏质量大于模型组($P < 0.01$)。见表1。

2.2 丹参素钠果糖口服液对阿霉素心毒性小鼠心功能的影响

表1 3组小鼠身体质量及心脏质量的比较

$(\bar{x} \pm s, n=6)$			
组别	初始身体质量/g	终末身体质量/g	心脏质量/g
正常组	35.65±0.66	42.07±0.93	0.170±0.007
模型组	35.57±1.39	33.17±1.16 ^a	0.110±0.006 ^a
干预组	36.27±0.80	35.94±3.43	0.150±0.008 ^b

与正常组比较: ^a $P < 0.01$; 与模型组比较: ^b $P < 0.01$

与正常组比较,模型组的EF、FS降低($P < 0.01$),而LVIDd和LVIDs增高($P < 0.01$ 或 0.05);与模型组比较,干预组的EF、FS增高($P < 0.01$),LVIDd和LVIDs降低($P < 0.01$),见表2。

2.3 丹参素钠果糖口服液对阿霉素心毒性小鼠心肌酶LDH和AST活性的影响

与正常组比较,模型组小鼠LDH和AST水平均增高($P < 0.01$)。与模型组比较,干预组小鼠的LDH和AST水平均降低($P < 0.01$ 或 0.05)。见表3。

2.4 丹参素钠果糖口服液对阿霉素心毒性小鼠VEGF和SERCA2a水平的影响

与正常组比较,模型组VEGF、PLN和SERCA2a水平升高($P < 0.01$ 或 0.05),HAX-1水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。与模型组比较,干预组小鼠VEGF和SERCA2a水平降低($P < 0.05$),但PLN和HAX-1水平差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表4。

3 讨论

研究发现,丹参素能够有效改善心肌的能量代谢和血流动力学、防治心肌肥大和动脉粥样硬化、抑制炎症反应、扩张冠脉及保护神经元等,因而被广泛用于治疗心脑血管疾病^[3-4]。然而,丹参素对阿霉素引起的心毒性的作用及其机制目前尚鲜见报道。果糖为细胞代谢葡萄糖过程中的重要中间产物,能调解多种生物酶活性,同时抑制氧自由基释放,改善心肌缺血和代谢功能。值得注意的是,果糖在临床上对阿霉素导致的心脏损害具有良好的改善作用,且无明显的不良反应^[5]。本研究结果显示,丹参素钠联合果糖能有效降低心肌酶的活性,减轻阿霉素的不良反应。

表2 3组小鼠心功能相关指标的比较

$(\bar{x} \pm s, n=6)$

组别	EF/%	FS/%	LVIDd/mm	LVIDs/mm
正常组	72.12±3.63	42.13±3.56	3.32±0.21	2.07±0.02
模型组	41.66±4.24 ^b	21.65±2.13 ^b	4.28±0.22 ^a	3.89±0.07 ^b
干预组	62.53±3.74 ^c	36.75±2.63 ^c	3.09±0.25 ^c	2.19±0.05 ^c

与正常组比较: ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$; 与模型组比较: ^c $P < 0.01$

越来越多的证据表明,阿霉素引起的心力衰竭可能与其改变机体 Ca^{2+} 稳态和激活 Ca^{2+} 信号通路相关。阿霉素能作用于心肌的细胞膜,解聚膜磷脂镶嵌蛋白,增加细胞膜通透性,并抑制 $\text{Na}^{+}\text{-K}^{+}\text{-ATP}$ 酶活性,减少 $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}$ 离子交换,从而增加钙离子内流,诱发钙超载^[6]。心肌细胞对 Ca^{2+} 的转运调节是维持心脏收缩和舒张功能的变化的基础。肌浆网 $\text{Ca}^{2+}\text{-ATP}$ 酶(SERCA2a)是调节心肌细胞内 Ca^{2+} 平衡的关

表4 3组小鼠VEGF、PLN、HAX-1、SERCA2a水平的比较

 $(\bar{x} \pm \text{sem}, n=6)$

组别	VEGF/(ng/L)	PLN/($\mu\text{g/L}$)	HAX-1/($\mu\text{g/L}$)	SERCA2a/(ng/L)
正常组	162.70 $\pm$ 6.99	4.42 $\pm$ 0.49	9.48 $\pm$ 0.68	883.70 $\pm$ 47.36
模型组	224.80 $\pm$ 7.64 ^b	6.65 $\pm$ 0.40 ^b	11.37 $\pm$ 0.85	686.10 $\pm$ 56.47 ^a
干预组	190.70 $\pm$ 7.36 ^c	6.30 $\pm$ 0.42	11.18 $\pm$ 1.02	866.60 $\pm$ 38.23 ^c

与正常组比较: ^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$; 与模型组比较: ^c $P<0.05$

键酶,通过摄取 Ca^{2+} 调控着胞内的游离 Ca^{2+} 浓度,并直接影响心肌细胞的舒缩性。衰竭心脏中SERCA2a的表达水平/活性降低,会使心肌细胞胞浆内的 Ca^{2+} 浓度不足,心脏收缩和舒张功能减退^[7]。值得注意的是,临床研究表明,转SERCA2a基因治疗,能够有效改善心衰动物和患者的心功能,可有效改善重度心衰患者的症状,并降低死亡率和防止心衰加重^[8-9]。本研究结果显示,阿霉素引起的心衰小鼠SERCA2a含量显著降低,而丹参素钠果糖口服液干预可有效维持住SERCA2a的水平,表明丹参素钠果糖口服液能够提高SERCA2a活性/水平,从而维持住心肌细胞 Ca^{2+} 平衡,提高心肌收缩力和改善舒张功能。

VEGF是促进血管再生的关键生长因子,可特异性地加速内皮细胞有丝分裂,不仅能直接调节内皮祖细胞的趋化、增殖,刺激缺血组织的血管新生,还能促进血管内膜的修复,改善心肌重塑。然而,有研究认为,心肌肌钙蛋白I及VEGF水平的升高可在一定程度上损害心肌细胞,进一步加剧心功能的恶化,加速病情进展。相似地,本研究结果显示,阿霉素心毒性小鼠的VEGF水平显著增加,进一步表明了阿霉素引起的心力衰竭可能也与VEGF高表达有关。值得注意的是,丹参素钠果糖口服液干预后,小鼠的VEGF水平明显降低,提示丹参素钠果糖口服液可抑制阿霉素心毒性小鼠VEGF的表达。

参考文献:

[1] 李湘海,向凝.丹参素对急性心肌梗死大鼠心肌纤维化的

表3 3组小鼠心肌酶LDH和AST活性的比较

 $(\bar{x} \pm \text{sem}, n=6)$

组别	LDH/(U/L)	AST/(U/L)
正常组	7544.0 $\pm$ 486.3	32.34 $\pm$ 2.165
模型组	10341.0 $\pm$ 252.9 ^a	69.26 $\pm$ 3.88 ^a
干预组	8794.0 $\pm$ 197.9 ^b	40.24 $\pm$ 3.499 ^c

与正常组比较: ^a $P<0.01$; 与模型组比较: ^b $P<0.05$, ^c $P<0.01$

影响[J]. 中药材, 2020(2): 473-477.

- [2] WANG T, FU F, HAN B, et al. Danshensu ameliorates the cognitive decline in streptozotocin-induced diabetic mice by attenuating advanced glycation end product-mediated neuroinflammation[J]. J Neuroimmunol, 2012, 245(1-2): 79-86.
- [3] 权伟,周丹,郭超,等.丹参素钠通过抑制炎症反应对心肌缺血-再灌注损伤的保护作用[J]. 中南药学, 2012, 10(12): 885-888.
- [4] YANG X, YANG R, LI X, et al. Danshensu attenuates aldosterone-induced cardiomyocytes injury through interfering p53 pathway[J]. Mol Med Rep, 2017, 16(4): 4994-5000.
- [5] 梁棕,陈昌南,林云笑,等.果糖干预治疗阿霉素类化疗心脏毒副作用的临床研究[J]. 中国热带医学, 2009, 9(9): 1739-1843.
- [6] 刘国平,黄丽,葛敏.绞股蓝总皂苷对阿霉素致急性心衰大鼠心功能的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2009, 20(2): 106-108.
- [7] LIU G, LI S Q, HU P P, et al. Altered sarco(endo)plasmic reticulum calcium adenosine triphosphatase 2a content: Targets for heart failure therapy[J]. Diab Vasc Dis Res, 2018, 15(4): 322-335.
- [8] ZSEBO K, YAROSHINSKY A, RUDY J J, et al. Long-term effects of AAV1/SERCA2a gene transfer in patients with severe heart failure: analysis of recurrent cardiovascular events and mortality[J]. Circ Res, 2014, 114(1): 101-108.
- [9] KHO C, LEE A, HAJJAR R J. Altered sarcoplasmic reticulum calcium cycling-targets for heart failure therapy[J]. Nat Rev Cardiol, 2012, 9(12): 717-733.