论著

文章编号:1000-5404(2006)22-2216-03

罗勒水提物对阿霉素引起的大鼠心肌毒性的影响

依巴代提·托乎提,玛依努尔·吐尔逊,苏巴提·吐尔地,艾尼瓦尔·吾买尔 (新疆医科大学药学院药理学教研室,乌鲁木齐 830054)

提 要:目的 探讨罗勒水提物(OBL)对阿霉素(ADR)所致大鼠心肌损伤的保护作用。**方法** 选用Wistar大鼠50只,随机分为5组,分别为正常组、ADR模型组和OBL 75、150、300 mg/kg 3个剂量治疗组。腹腔注射ADR(5 mg/kg,隔日1次共5次)造成心肌损伤模型,测定心肌超氧化物歧化酶(SOD)活性;谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性及丙二醛(MDA)含量。电镜检查心肌细胞超微结构的改变。**结果** 腹腔注射ADR后可致大鼠心肌明显损害,心肌SOD及GSH-Px活性下降,MDA含量升高,同时出现心肌组织超维结构的损伤。OBL(75、150、300 mg/kg)能增加SOD及GSH-Px活性($P<0.05$),降低MDA($P<0.05$)含量,减轻心肌超微结构的损伤。**结论** OBL对ADR所引起的心脏毒性有一定的保护作用,其机制可能与保护心肌SOD、GSH-Px活性及清除自由基,防止脂质过氧化有关。

关键词: 罗勒水提物;阿霉素;丙二醛;超氧化物歧化酶;谷胱甘肽过氧化物酶;心肌损伤

中图法分类号: R285.5;R542.2;R329.24 **文献标识码:** A

Protective effect of aqueous extracts of Ocimum basilicum L. against adriamycin-induced cardiotoxicity in rats

TOHTI Ibadet, TURSUN Maynur, TURDI Subat, UMAR Anwar (Department of Pharmacology, Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China)

Abstract: Objective To investigate protective effect of aqueous extracts of Ocimum basilicum L. (OBL) on adriamycin-induced cardiotoxicity. Methods Fifty Wistar rats were divided into five groups randomly receiving intragastric normal saline (control group and ADR group), 75, 150, 300 mg/kg OBL (OBL groups) once a day for 11 d. Simultaneously, ADR group and three OBL groups were intraperitoneally administered with 5 mg/kg ADR every other day, totally five times. Two hours later after the last dosage, the rat hearts were surgically removed, then myocardial glutathione peroxidase (GSH-Px) activity, superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) content were determined and the myocardial ultrastructure was observed under electron microscope. Results Compared with control, MDA was increased ($P<0.05$), while myocardial GSH-Px and SOD activities were decreased by ADR ($P<0.05$), respectively. Pathologic changes of myocardial ultrastructure were also observed in ADR group. In contrast, administration of OBL significantly increased myocardial GSH-Px and SOD activities and decreased MDA content ($P<0.05$), in addition, caused less ultrastructural changes of heart. Conclusion OBL can protect the heart against ADR cardiotoxicity caused by ADR, which mechanism is associated with antioxidant deficit.

Key words: Ocimum basilicum L.; adriamycin; SOD; GSH-Px; malondialdehyde; myocardial damage

阿霉素(adriamycin, ADR)是常见的抗肿瘤药,临床上常用于治疗乳腺癌、肺癌以及白血病等恶性肿瘤[1]。如其他抗肿瘤药一样,ADR具有各种毒性作用,其中最为常见的是ADR呈剂量依赖性的心脏毒性反应[2]。目前认为,自由基作用是ADR心脏毒性的重要机制[1]。罗勒(Ocimum basilicum L.)是维吾尔医药常用药材,具有强心、祛痰、止泻、活血等功效。我们前期研究发现,罗勒具有抗血小板聚集及降脂作用[3];

基金项目:新疆维吾尔自治区教育厅基金资助项目(XJEDUI20)
Supported by the Funds of Education Bureau of Xinjiang Uighur Autonomous Region (XJEDUI20)

作者简介:依巴代提·托乎提(1950-),女,新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市人,副教授,主要从事心血管药理学方面的研究。电话:(0991)4362421, E-mail: ibadettohti@126.com

收稿日期:2006-06-29;修回日期:2006-09-13

另据文献[4-6]报道,罗勒具有较强的抗氧化作用。本研究探讨新疆地产罗勒水提物对 ADR 引起的大鼠心脏毒性的影响,以进一步探讨其作用机制。

1　材料与方法

1.1　动物

Wistar 大鼠 50 只,雌雄各半,体质量 220 ~ 250 g,由新疆医科大学实验动物中心提供。

1.2　药品及试剂

罗勒水提物(OBL)为新疆医科大学药学院天然药物化学教研室提供,主要成分为甲基萎叶酚、对甲基苯丙烯、樟脑、丁香酚、麝香草粉及丹宁酸等;阿霉素为 Sigma 产品,SOD、MDA、GSH-Px 试剂盒均购自南京建成医学生物研究所。

1.3　动物分组与给药

将大鼠随机分为 5 组,每组 10 只:①正常对照组:生理盐水 20 ml/kg;②ADR 组:生理盐水 20 ml/kg;③OBL Ⅰ组:OBL 75 mg/kg;④ OBL Ⅱ 组: OBL150 mg/kg; ⑤ OBL Ⅲ 组: OBL 300 mg/kg。以上各组大鼠均灌胃给药,每日 1 次,连续给药 11 d。ADR 组、OBL Ⅰ组、OBL Ⅱ组、OBL Ⅲ组于给药第 2 天开始腹腔注射 ADR 5 mg/kg,隔日 1 次共 5 次;正常对照组注射等体积生理盐水。末次给药后 2 h,各组大鼠用戊巴比妥钠 30 mg/kg 腹腔注射麻醉;打开胸腔,取出心脏,用冰生理盐水冲洗 3 次,滤纸吸干表面水分,用 0.2 mol/L 磷酸缓冲液(pH 8.6)在冰水浴中制备 10% 匀浆液,离心,3 500 r/min,30 min,取上清液测定生化指标。每组另取 3 只大鼠,取心脏制作电镜观察标本。

1.4　生化指标的测定

心肌组织中超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的活性,丙二醛(MDA)的含量均按照试剂盒说明测定。采用 Bradford 法测定匀浆上清液的蛋白质含量。

1.5　心肌组织的电镜检查

取心尖部采用 4% 戊二醛和 1% 锇酸双重固定,丙酮脱水,Epon812 包埋,铅铀电子染色,JEM-100CX Ⅱ 透射电镜观察。

1.6　统计学处理

实验所得数据以 $x \pm s$ 表示,采用 SPSS 11.0 统计软件进行单因素方差分析。

2　结果

2.1　OBL 对 ADR 损伤心肌生化指标的影响

与正常对照组比较,ADR 模型组其 SOD 活性和 GSH-Px 活性明显降低($P < 0.05$),MDA 含量明显升高($P < 0.05$);与 ADR 模型组比较,OBL 组 SOD 与 GSH-Px 活性升高,而 MDA 含量明显降低($P < 0.05$),见表 1。

表 1　罗勒水提物对 ADR 引起的大鼠心肌 SOD、MDA 和 GSH-PX 水平的影响($n = 10$, $x \pm s$)

组别	剂量 (mg/kg)	SOD (μg·mg)	MDA (nmol·mg)	GSH-Px (μg·mg)
对照组	–	261.74 ± 41.46	3.20 ± 1.24	103.81 ± 26.29
ADR 组	5	183.27 ± 31.93[a]	6.15 ± 1.04[a]	88.40 ± 17.01[a]
OBL Ⅰ组	75	190.94 ± 47.78	4.21 ± 1.63	103.36 ± 16.90[b]
OBL Ⅱ组	150	219.23 ± 28.37[b]	2.17 ± 0.82[b]	90.93 ± 16.04
OBL Ⅲ组	300	237.37 ± 28.72[b]	5.28 ± 1.48	103.81 ± 26.29[b]

a: $P < 0.05$,与对照组比较; b: $P < 0.05$,与 ADR 组比较

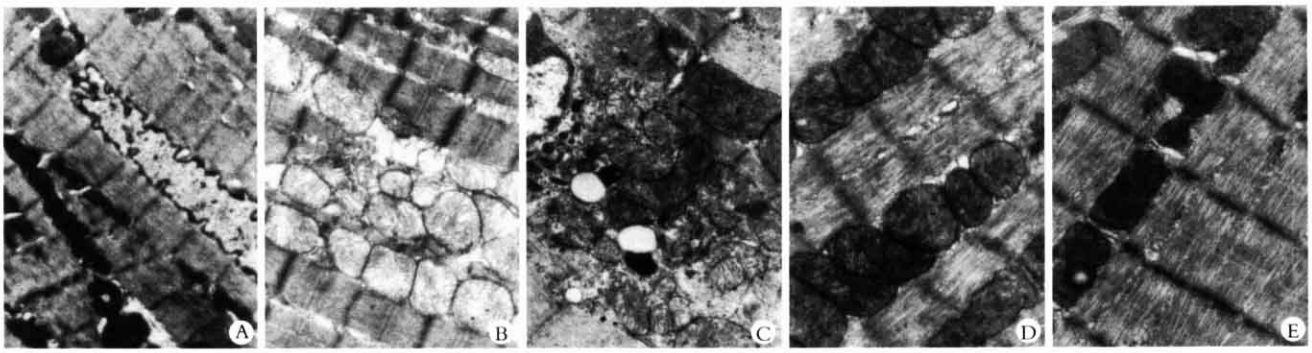
2.2　大鼠心肌的电镜检查

对照组心肌纤维肌膜完整,肌原纤维排列有序,肌节各带结构清晰,线粒体排列整齐,结构正常(图 1A)。

ADR 组心肌细胞肿胀,细胞质内肌节增长,明带增宽,部分区域出现异常收缩带,Z 线物质增多。线粒体弥漫性肿胀、增生,嵴排列稀疏,有断裂,空泡变性。核体积增大,核周隙增宽(图 1B)。

OBL Ⅰ组心肌纤维肿胀有所减轻。肌节结构基本正常,但肌节仍较对照组宽。线粒体肿胀有所减轻,基质密度增强,嵴密度增高,个别线粒体嵴仍有改变,细胞质内次级溶酶体增多(图 1C)。

OBL Ⅱ、OBL Ⅲ组心肌纤维结构基本恢复正常。肌原纤维排列整齐,肌节结构正常,线粒体结构恢复正常(图 1D,E)。



A: 对照组(×6 700); B: ADR 组(×6 700); C: OBL 75 mg/kg (×13 000); D: OBL 150 mg/kg (×13 000); E: OBL 300 mg/kg (×13 000)

图 1　各组大鼠心肌组织电镜观察(TEM)

3 讨论

ADR 属蒽醌类抗生素，具有抗肿瘤谱广、作用强的特点。然而长期应用或其剂量过大会导致药源性心肌病，从而限制了其临床应用。ADR 引起心肌毒性的机制，主要是产生过多的活性氧自由基。ADR 与心肌组织亲和力明显高于其他组织，进入心肌细胞后转变为半醌 ADR，作用于氧分子使其转变为超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)，同时伴有过氧化氢生成(H_2O_2)。$O_2^{\cdot-}$ 与 H_2O_2 通过 haiber-weiss 反应或 Fenton 反应产生羟自由基(OH·)。$O_2^{\cdot-}$ 与 OH· 大量蓄积，可造成组织、细胞膜发生脂质过氧化反应，引起生物大分子损伤[7-9]。

实验中观察到，给大鼠一定剂量的 ADR 后，大鼠心肌自由基清除酶 SOD、GSH-Px 活性显著降低，脂质过氧化产物 MDA 含量明显升高。电镜下呈现心肌超微结构损伤，表现为线粒体明显肿胀，嵴断裂，空泡变性，基质密度降低，肌浆网扩张等。OBL 各剂量组均能提高 ADR 损伤大鼠心肌中自由基清除酶 SOD、GSH-Px 活性，降低 MDA 含量。提示 OBL 通过提高机体内自由基清除酶的活性而减少 ADR 诱导产生的脂质过氧化损伤。OBLⅡ、OBLⅢ组显著保护心肌纤维的超微结构不受 ADR 的损害。我们利用现代生物化学发光技术检测，发现 OBL 在体外能有效清除活性氧自由基，其中对 $O_2^{\cdot-}$ 的清除作用非常显著(文章待发表)。提示 OBL 能清除半醌 ADR 在心肌中诱导产生的 $O_2^{\cdot-}$，从而中断了自由基链锁反应，起到脂质过氧化链的阻断剂作用。其详细机制有待于进一步研究。

参考文献：

[1] BLUM R H, CARTER S K. Adriamycin. A new anticancer drug with significant clinical activity[J]. Ann Intern Med, 1974, 80(2): 249-259.

[2] KOJIMA S, ICHO T, HAYASHI M, *et al*. Inhibitory effect of 5, 6, 7, 8- tetrahydroneopterin on adriamycin-induced cardiotoxicity[J]. J Pharmacol Exp Ther, 1993, 266(3): 1699-1704.

[3] TOHTI I, TURSUN M, UMAR A, *et al*. Aqueous extracts of Ocimum basilicum L. (sweet basil) decrease platelet aggregation induced by ADP and thrombin in vitro and rats arterio-venous shunt thrombosis *in vivo*[J]. Thromb Res, 2006, Feb 7, [epub, ahead of print].

[4] JAYASINGHE C, GOTOH N, AOKI T, *et al*. Phenolics composition and antioxidant activity of sweet basil (Ocimum basilicum L.)[J]. J Agric Food Chem, 2003, 51(15): 4442-4449.

[5] JAVANMARDI J, STUSHNOFF C, LOCKE E, *et al*. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian Ocimum accessions[J]. Food Chem, 2003, 83(4): 547-550.

[6] DASGUPTA T, RAO A R, YADAVA P K. Chemomodulatory efficacy of basil leaf (Ocimum basilicum) on drug metabolizing and antioxidant enzymes, and on carcinogen-induced skin and forestomach papillomagenesis[J]. 2004, 11(2-3): 139-151.

[7] MURAOKA S, MIURA T. Free radicals mediate cardiac toxicity induced by adriamycin[J]. Yakugaku Zasshi, 2003, 123(10): 855-866.

[8] SALTIEL E, MCGUIRE W. Doxorubicin (Adriamycin) Cardiomyopathy--A Critical Review[J]. West J Med, 1983, 139(3): 332-341.

[9] ABD-EL-AZIZ M A, OTHMAN A I, AMER M, *et al*. Potential protective role of angiotensin-converting enzyme inhibitors captopril and enalapril against adriamycin-induced acute cardiac and hepatic toxicity in rats[J]. J Appl Toxicol, 2001, 21(6): 469-473.

(编辑 陈聪连)

关于医学符号的使用

统计学符号不论用哪种字母，也不论大写或小写一律都用斜体。要注意区分拉丁字母和希腊字母。例如均数的符号是字母 x，卡方的符号是希腊字母 χ^2，自由度的符号是希腊文"υ"，不是拉丁文"V"。相关系数是英文"r"，不能误为希腊文"γ"。

化学元素及核素在医学写作时一般多采用符号，即是拉丁字母正体大写。离子态是在右上角用数字加"-"或"+"表示。例如 Na^+、Ca^{2+}、P^{3-} 等等，不采用 Ca^{++}、P^{---}、Al^{+3}、O^{-2} 表示。核素的核子素(质量数)应写在元素符号的左上角，例如：^{131}I、^{32}P。表示激发状态的 m 写在右上角，例如：$^{99m}Tc^{m}$、$^{113}In^{m}$。在科技论文和专著中不应写核素的中文名称，即不能写成"^{131}碘"、"铟^{113m}"、"^{32}P"、"^{99m}Tc"。

近几年分子生物学发展很快，并已渗透到许多学科，大多数分子生物学名词术语的符号已有统一的确定形式，要对符号的来源及其内涵有深刻的了解，使用时不致发生错误，例如：RNA 有 rRNA(ribosomal RNA)、tRNA(transfer RNA)、mRNA(messenger RNA)3 类，r、t、m 是表示类型的符号应小写，RNA 应大写。

本刊编辑部