

富硒麦芽对阿霉素致小鼠心脏毒性的保护作用

徐卓立 郭军华¹ 李盟军¹ 梁月琴¹ 魏树均(北京 100071 解放军北京军医学院;¹ 军事医学科学院附属医院临床药理学)

摘要 目的:探讨含硒制剂诱导金属硫蛋白在对抗阿霉素心脏毒性中的作用,比较无机硒制剂亚硒酸钠与有机硒制剂富硒麦芽。方法:不同时间给小鼠喂予硒制剂后取血分离血清,按常规查 GOT 和 CK 活性,按 DTNB 法测 GSH-Px 活性;取心、肝、肾组织按 Hg-Chellex 法测金属硫蛋白(MT)含量并做心脏病理学检查。结果:两种含硒制剂均能减轻阿霉素引起的体重下降、GOT 与 CK 酶升高及心脏病理损害,其中富硒麦芽的效果略优于亚硒酸钠。两者还能增加 GSH-Px 酶活性,诱导心脏中 MT 合成增加,连续使用硒制剂的整体效果优于先或后使用该制剂。结论:除升高 GSH-Px 外,硒制剂诱导合成 MT 很可能是减轻阿霉素心脏毒性的保护机制之一。两种硒制剂比较使用富硒麦芽较亚硒酸钠更为安全,且不降低原已证实的亚硒酸钠对心肌的保护作用。

关键词 金属硫蛋白;阿霉素;硒;心脏毒性

The protective action of Malt-Se to the cardiotoxicity of doxorubicin by Malt-Se

Xu Zhuoli(Xu ZL), Guo Junhua(Guo JH), Li Mengjun(Li MJ), *et al*(Beijing Medical College of PLA, Beijing 100071)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To study the effect of MT during Na_2SeO_3 and Malt-Se on the cardiotoxicity produced by doxorubicin, and to compare organic and inorganic compounds containing-Se. **METHODS:** The measurement of GOT and CK in blood serum and examination of the pathological heart damage was done with routine methods. The GSH-Px activity in blood serum was assayed by DTNB method. Hg-chellex method was used for determination of MT in heart, liver and kidney. **RESULTS:** Both of the compounds can resist the toxicities of doxorubicin, such as the body weight decreased, GOT and CK increased and pathological heart damage ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). They also increase the activity of GSH-Px ($P < 0.01$) and induce metallothionein (MT) in heart, liver and kidney ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). The effects of using the compounds continuously is better than that of preadministration or retroadministration. **CONCLUSION:** Those suggest that GSH-Px and MT may all have the cardiacprotective effects, and organic compound (Malt-Se) may be safer than inorganic one

金属硫蛋白(Metallothionein, MT)是一种能被诱导合成,并通过金属储存、自由基清除等环节对抗体内有害物质的特殊低分子非酶蛋白质。通过诱导 MT 这一特殊途径的生理保护机制,达到防病治病或减低某些药物毒副作用的目的,已成为目前基础与临床研究的热点课题^[1,2]。我国有不少研究表明:亚硒酸钠(Na₂SeO₃)能对抗阿霉素(Doxorubicin, Dox)的心脏毒性^[3],还能部分降低或逆转克山病的心肌损害^[4]。本文旨在探讨诱导 MT 在上述过程中所发挥的作用,并将其与有机硒制剂富硒麦芽(Malt-Se)进行比较。

1 材料与方法

1.1 药品及动物

富硒麦芽(北京食品工业研究所研制,大兴食品厂生产,批号 9303);亚硒酸钠(北京化工厂,批号 920212);阿霉素(上海华联制药厂,批号 941108);昆明种小鼠(18g±2g,♂性,合格证号:医动字 01-3023,购自军事医学科学院实验动物中心,军字 940001)。

1.2 动物分组

取昆明种小鼠 160 只,随机分为 8 组,每组 20 只。对照组与阿霉素组喂蒸馏水。其余 6 组用富硒麦芽和亚硒酸钠做保护剂。富硒麦芽分为三组,其中第一组预先给富硒麦芽 7500mg/kg·d×5d(Se-先给药组,简称 Se X 组),第二组从第 6 天起给相同剂量富硒麦芽 5d(Se-后给药组,简称 Se H 组),第三组自始至终给相同剂量富硒麦芽共 10d(Se-连续给药组,简称 Se L 组)。亚硒酸钠亦分为三组(分别称为 Na X 组、Na H 组与 Na L 组),喂药方式同上,剂量按富硒麦芽中硒含量等量折算为 2mg/kg·d。第 6 天起除对照组外均腹腔注射阿霉素 4mg/kg·d×3d。喂药后第 2 和 4 周分别在各组内取 10 只小鼠称重并采眼眶血分离血清,按常规测定 GOT 与 CK 酶含量,并按夏亦明等人的 DTNB 直接法^[5]测定谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性。其中第 2 周 10 只鼠中取血后任取 5 只活杀,取心脏做组织病理学检查。

1.3 MT 测定

取昆明种小鼠 35 只,随机分为 5 组,每组 7 只。除对照组喂等量蒸馏水外,其余各组预先给富硒麦芽、亚硒酸钠及肝脏 MT 诱导阳性对照药氯化镉 1.1mg/kg·d×5d,剂量同前。阿霉素组给予阿霉素 2.5mg/kg·d ip×5d。第 6 天活杀小鼠取心、肝及肾脏,按本室建立的 Hg-Chelex 法^[6]测定其 MT 含量。

1.4 统计学处理

采用国际通用 SAS 软件,各组比较时采用 *t* 检验,电脑计算。

2 结果

2.1 体重改变(见图 1)

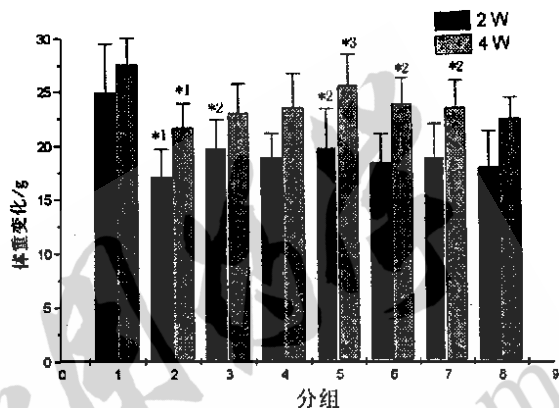


图 1 用硒制剂后小鼠体重的变化(g, $\bar{x} \pm s$, $n=10$) (用药前小鼠平均体重 18.65 ± 1.06 g)

1 - 对照组; 2 - 阿霉素组; 3 - Se X 组; 4 - Se H 组; 5 - Se L 组; 6 - Na X 组; 7 - Na H 组; 8 - Na L 组; 与对照组比较, *¹ $P < 0.01$; 与阿霉素组比较, *² $P < 0.05$, *³ $P < 0.01$

用药前小鼠的平均体重为 (18.65 ± 1.06) g, 用阿霉素组后体重明显下降 ($P < 0.01$), 用硒制剂后各组体重有不同程度的提高, 其中 Se L 组效果最好, 只有 Na L 组效果反而差。

2.2 血清 GOT、CK 及 GSH-Px 酶活性测定(见表 1)

结果显示, 阿霉素组 2 周时 GOT 与 CK 酶含量均显著高于对照组, 4 周时虽有降低, 但与对照组比差别仍有非常显著意义。而用硒制剂各组该酶含量均比阿霉素组降低, 其中富硒麦芽三个组及 Na L 组显示的保护作用更突出。GSH-Px 酶的活性阿霉素组 2 周后含量显著低于对照组, 4 周时略有回升。而用硒制剂各组该酶值在 2 周时显著升高, 其中亚硒酸钠三组略高于富硒麦芽三组。4 周时绝大部分组 GSH-Px 活性接近正常。

2.3 心、肝、肾等组织中 MT 含量测定(见表 2)

用阿霉素后对心脏中的 MT 有所抑制, 而肝脏 MT 诱导阳性对照药氯化镉对小鼠肝脏确有明显的 MT 诱导作用。用富硒麦芽与亚硒酸钠均可诱导心、肝、肾等组织中 MT 含量增加, 其中富硒麦芽在肝肾中诱导作用最明显。心脏中 MT 虽有所升高, 但仅与阿霉素组相比

表 1 血清 GOT、CK 及 GSH-Px 活性测定/ $\mu, x \pm s, n = 10$

分 组	时间/周	GOT	CK	GSH-Px
对照组	2	69.99 $\pm$ 14.64	535.76 $\pm$ 138.48	31.28 $\pm$ 2.81
	4	62.17 $\pm$ 12.21	439.24 $\pm$ 27.94	31.28 $\pm$ 4.88
阿霉素组	2	237.83 $\pm$ 59.54 ^{*1}	1096.78 $\pm$ 295.55 ^{*1}	21.43 $\pm$ 1.43 ^{*1}
	4	108.60 $\pm$ 17.75 ^{*1}	843.18 $\pm$ 216.71 ^{*1}	26.05 $\pm$ 2.50
Se X 组	2	128.49 $\pm$ 19.66 ^{*2}	668.89 $\pm$ 165.33 ^{*2}	42.06 $\pm$ 4.19 ^{*2}
	4	80.60 $\pm$ 10.68 ^{*2}	398.83 $\pm$ 68.75 ^{*2}	31.17 $\pm$ 3.97
Se H 组	2	105.88 $\pm$ 24.91 ^{*2}	745.76 $\pm$ 259.47 ^{*3}	40.05 $\pm$ 4.46 ^{*2}
	4	68.45 $\pm$ 12.37 ^{*2}	629.60 $\pm$ 145.24 ^{*3}	29.04 $\pm$ 6.00
Se L 组	2	88.90 $\pm$ 17.24 ^{*2}	623.93 $\pm$ 126.91 ^{*2}	42.94 $\pm$ 3.60 ^{*2}
	4	71.85 $\pm$ 29.77 ^{*2}	333.50 $\pm$ 130.81 ^{*2}	29.76 $\pm$ 2.37
Na X 组	2	170.67 $\pm$ 57.21	809.10 $\pm$ 107.47 ^{*3}	56.45 $\pm$ 3.92 ^{*2}
	4	97.00 $\pm$ 6.36	910.00 $\pm$ 148.50	33.47 $\pm$ 2.30 ^{*3}
Na H 组	2	211.68 $\pm$ 95.73	789.80 $\pm$ 232.53 ^{*3}	49.00 $\pm$ 7.56 ^{*2}
	4	91.23 $\pm$ 18.40 ^{*3}	703.05 $\pm$ 254.48	27.14 $\pm$ 2.55
Na L 组	2	158.20 $\pm$ 60.51 ^{*3}	611.60 $\pm$ 104.09 ^{*2}	63.83 $\pm$ 9.01 ^{*2}
	4	81.50 $\pm$ 6.082	639.95 $\pm$ 184.06 ^{*2}	37.70 $\pm$ 5.18 ^{*3}

注:与对照组比较,^{*1} $P < 0.01$;与阿霉素组比较,^{*2} $P < 0.01$;与阿霉素组比较,^{*3} $P < 0.05$

表 2 给予不同药物及含硒制剂后小鼠组织中 MT 含量测定/ $x \pm s, n = 7$

分 组	MT(Hg-Bound nmol/g)		
	心 脏	肝 脏	肾 脏
对照组	5.8 $\pm$ 3.4	16.9 $\pm$ 9.9	11.4 $\pm$ 4.7
阿霉素组	3.6 $\pm$ 1.4	12.4 $\pm$ 9.6	12.6 $\pm$ 5.5
氯化镉组	7.2 $\pm$ 1.0 ^{*1}	37.9 $\pm$ 10.7 ^{*2}	14.4 $\pm$ 1.7
富硒麦芽组	8.3 $\pm$ 3.4 ^{*1}	64.7 $\pm$ 10.9 ^{*2}	25.3 $\pm$ 8.4 ^{*3}
亚硒酸钠组	9.1 $\pm$ 4.7 ^{*1}	35.6 $\pm$ 3.71	25.3 $\pm$ 17.8 ^{*3}

注:与阿霉素组比较,^{*1} $P < 0.01$;与对照组比较,^{*2} $P < 0.01$;与对照组比较,^{*3} $P < 0.05$

$P < 0.01$ 。

2.4 光镜形态学病理检查

发现对照组小鼠的心肌组织排列整齐,结构完整,细胞核明显,呈圆形或类圆形,心肌间小血管丰富,心肌间质无异常改变。使用阿霉素后心肌有明显损伤,大部分心肌细胞排列紊乱,失去正常形态,并见较明显的心肌溶解、断裂、空泡样变或间隙加宽,部分伴有心肌内出血或间质炎细胞浸润。使用含硒制剂后这种心肌损害均有不同程度的改善,可见大部分心肌细胞排列整齐,结构完整,仅部分细胞有水肿、脂肪变性及空泡样变等,少数有心肌溶解、断裂或间隙加宽。其中连续用药组保护作用最好,两种含硒制剂的病理改变相似。

3 讨 论

亚硒酸钠减轻并部分逆转克山病等引起的心肌损害已明确,其作用机制主要与硒促使人体重要的含硒抗氧化酶 GSH-Px 的合成增加,降低机体内过氧化物的堆积有关^[3]。但其中有无其它机制参与尚不清楚。同时由于亚硒酸钠毒性大,中毒剂量小,临床使用的安全性受到限制。

文献报道^[7,8],预先给镉、锌、铜等金属元素,能诱导动物体内 MT 增加,并将它以无害方式封存,当再遇到有害物时可以起到解毒作用。国内外不少学者正是利用该途径,为临床提供了新的减低药物毒性,特别是抗癌药物毒性的方法。文献还报道^[9]使用次硝酸铋诱导 MT 可有效降低顺铂及阿霉素的致死毒性,该药对两者的心、肾和骨髓毒性也有明显的保护作用。笔者曾在顺铂减毒的研究中发现有机与无机硒制剂可诱导 MT 升高呈现上述同样的保护作用^[10]。在该基础上本文做了硒诱导 MT 对抗阿霉素心肌损害的研究,并选用有机硒制剂富硒麦芽与亚硒酸钠做了比较,希望为临床使用新的硒制剂进行阿霉素减毒或心肌保护提供实验依据。

本文结果表明:含硒制剂,无论是有机硒或无机硒,都能明显减轻阿霉素的心脏毒性,用阿霉素 2 周及 4 周时引起的 GOT 与 CK 酶明显升高与体重下降在使用硒制剂后可显著减轻(大部分与阿霉素组比 $P <$

0.05或 $P < 0.01$),其中富硒麦芽组作用较亚硒酸钠组好,4周时CK酶已基本正常或接近正常,连续使用富硒麦芽组效果最好,病理改变也基本与此相符。

为了探讨其减毒机制中除GSH-Px外有无其它因素参与,分别测定用硒后血清GSH-Px活性和预先用硒诱导后心、肝、肾等组织中MT含量。发现两种硒制剂均明显升高GSH-Px活性,而阿霉素却使其降低(均 $P < 0.01$),这与文献报道一致^[4]。预先使用两种硒制剂可诱导心、肝、肾等组织中MT含量增加,其中肝肾中MT升高更为明显($P < 0.05$),尤其是富硒麦芽组肝脏中MT升高最明显($P < 0.01$)。心脏中MT亦有升高(与阿霉素组比 $P < 0.01$)。提示含硒制剂在减轻阿霉素心脏毒性中,除了使GSH-Px的合成增加外,诱导MT升高也在其中起了重要作用。

为了证实这一推测试验中使用了不同的给药时间观察药物的保护作用。结果显示:无论是预先用硒诱导MT或后使用硒(即只通过使GSH-Px增加的途径而无MT诱导作用),其效果都不如连续使用硒制剂。这亦从另一角度说明GSH-Px的合成增加与诱导MT升高可能同时参与了硒减轻阿霉素心脏毒性的保护作用。值得注意的是连续使用硒制剂时,亚硒酸钠组虽GSH-Px的合成增加最明显,但富硒麦芽组显示出来的保护作用却优于亚硒酸钠,这可能与长期用亚硒酸钠毒性大和富硒麦芽中富含维生素A、E等抗氧化剂有关^[11]。因此用有机硒制剂-富硒麦芽来替代临床应用较多的心肌保护剂亚硒酸钠既安全也不降低原已证实的亚硒酸钠的保护作用,建议最好使用预先用药的方式。

参考文献

1 王夔主编.生命科学中的微量元素.下卷.中国计量出版

社,1992:98.

- 2 Basu A, Lazo JS. Suppression of dexamethasone-induced metallothionein expression and cisdiaminedichloroplatinum (II) resistance by v-mos. *Cancer Research*, 1991, 51: 893.
- 3 杨晓萍,李明,于维汉,等.微量元素硒、锌、铜对阿霉素心脏毒性的拮抗作用. *中华心血管杂志*, 1988, 16(3): 164.
- 4 陈君石.口服亚硒酸钠预防克山病发病的研究. *营养学报*, 1982, 4(3): 243.
- 5 夏亦明,朱莲珍.血和组织中谷胱甘肽过氧化物酶活力的测定方法. *卫生研究*, 1987, 16(4): 29.
- 6 徐卓立,郭军华,宋三泰,等.甘草锌对顺铂毒性及抗癌效果的影响. *药学报*, 1993, 28(8): 567.
- 7 Shamberger RJ, Tytko SA, Millis CE. Antioxidants and cancer. *Arch Environ Health*, 1976, 31: 231.
- 8 Kagi JHR, Vallee BL. Metallothionein: a cadmium and zinc-containing protein from equine renal cortex. *J Biol Chem*, 1961, 236: 2435.
- 9 Naganuma A, Satoh M, Imura N. Protective effect of metallothionein inducing metals on lethal toxicity of cisdiaminedichloroplatinum in mice. *Toxicology Letters*, 1985, 24: 203.
- 10 徐卓立,郭军华,宋三泰,等.硒对顺铂毒性和肿瘤生长的影响及其与金属硫蛋白的关系. *中华肿瘤杂志*, 1994, 16(4): 280.
- 11 Thompson HJ, Meeker LD, Becci JP. Effect of combined selenium and retinyl acetate treatment on mammary carcinogenesis. *Cancer Res*, 1981, 41: 1413.

收稿日期:1999-03-01