

还原型谷胱甘肽预防表阿霉素心脏毒性的观察

宫艳丽, 张清媛

[摘要] 目的 观察外源性还原型谷胱甘肽(GSH)预防表阿霉素心脏毒性的疗效。方法 60 例乳腺癌术后患者随机分为治疗组和对照组,各 30 例。治疗组接受连续 6 个周期 CEF 方案化疗 + GSH 治疗;对照组仅采用 CEF 方案化疗。化疗前、化疗 3 个周期及 6 个周期后,利用心电图、心肌酶、肌钙蛋白 I (cTnI)、常规超声心动图及组织多普勒超声技术评价两组患者化疗后的心脏毒性。结果 化疗 3 个周期后,两组患者的心电改变、cTnI 损伤情况、左心室射血分数(EF)、左心室短轴缩短率(FS)、二尖瓣舒张早期流速峰值/舒张晚期流速峰值(E/A)、E 峰流速时间(DT)、心肌肌酸激酶(CK)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)、乳酸脱氢酶(LDH)等无显著性差异($P > 0.05$),舒张功能参数 Em/Am 有非常显著性差异($P < 0.01$)。化疗 6 个周期后,两组患者的 EF、FS、心肌酶 CK、CK-MB、LDH 无显著性差异($P > 0.05$);心电改变、cTnI 损伤情况有显著性差异($P < 0.05$);舒张功能参数 E/A、DT、Em/Am 有非常显著性差异($P < 0.01$)。结论 GSH 对表阿霉素引起的心脏毒性有防治作用,机制可能与 GSH 的抗氧化及抑制钙超载有关。

[关键词] 还原型谷胱甘肽;表阿霉素;心脏毒性;预防作用

Prophylactic Effect of Reduced Glutathione on Cardiotoxicity Induced by Epirubicin GONG Yan-li, ZHANG Qing-yuan. Tumor Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150040, Heilongjiang, China

Abstract: **Objective** To explore the efficacy and mechanism of exogenous reduced glutathione (GSH) on cardiotoxicity induced by epirubicin (EPI). **Methods** 60 postoperative patients with breast cancer were randomly divided into the treatment group and control group with 30 cases in each group. The treatment group received 6 cycles of chemotherapy with CEF regimen plus the reduced GSH. The control group also received 6 cycles of chemotherapy only with CEF alone. The cardiotoxicity of all patients were estimated by the ECG, myocardial enzymes, troponin I (cTnI), ultrasoundcardiogram and tissue Doppler technique before chemotherapy and after 3 cycles and 6 cycles of chemotherapy. **Results** After 3 cycles of chemotherapy, there were no significant differences in ECG, cTnI, left ventricle ejection fraction (EF), fraction shortening (FS), E/A, decline time (DT) and myocardial creatine kinase (CK), isoenzyme of creatine kinase containing M and B subunits (CK-MB), lactate dehydrogenase (LDH) between two groups ($P > 0.05$); While, there was a significant difference in Em/Am between two groups ($P < 0.01$). After 6 cycles of chemotherapy, there were also no significant differences in EF, FS, myocardial CK, CK-MB, LDH between two groups ($P > 0.05$); there were significant differences in ECG, cTnI, E/A, DT and Em/Am between two groups ($P < 0.01$). **Conclusion** The reduced GSH can prevent the cardiotoxicity induced by EPI, which may be related with the ability of GSH against the oxidant injury and inhibiting calcium overload.

Key words: reduced glutathione; epirubicin; cardiotoxicity; prophylactic effect

[中图分类号] R730.53 [文献标识码] A [文章编号] 1006-9771(2008)08-0754-03

[本文著录格式] 宫艳丽,张清媛. 还原型谷胱甘肽预防表阿霉素心脏毒性的观察[J]. 中国康复理论与实践, 2008, 14(8): 754-756.

表阿霉素(epirubicin, EPI)是临床最常用的一种蒽环类抗肿瘤药物(anthracycline, ATC),用于治疗多种恶性肿瘤。但由于该药有剂量累积心脏毒性,故不能广泛和长期使用。近年来,国内外在预防 ATC 心脏毒性方面进行了一定的探索,尤其注重研究和开发保护心脏的药物,取得了一定的成效。本研究旨在探讨还原型谷胱甘肽(reduced glutathione, GSH)作为一种氧自由基清除剂和钙拮抗剂,对 ATC 引起的心脏毒性的保护作用。

1 资料与方法

作者单位:哈尔滨医科大学附属肿瘤医院,黑龙江哈尔滨市 150040。作者简介:宫艳丽(1970-),女,黑龙江牡丹江市人,主治医师,硕士研究生,主要研究方向:恶性肿瘤化疗。通讯作者:张清媛。

1.1 临床资料 哈尔滨医科大学附属肿瘤医院 2007 年 8 月~2008 年 2 月住院患者 60 例,均为女性,经病理学检查证实为乳腺癌,其中浸润性导管癌 39 例、小叶癌 6 例、髓样 10 例、单纯癌 5 例;行乳腺癌根治术或改良根治术后需要辅助化疗;卡氏行为状态评分法(Karnofsky Performance Status, KPS)评分平均 80 分。患者纳入标准:经病理检查证实为乳腺癌,需要并同意进行以 EPI 为主的联合化疗;无化疗禁忌证;既往未进行过含蒽环类药物的化疗,无胸部放射治疗史,无心脏病史;化疗前心电图、心肌肌钙蛋白 I (troponin I, cTnI)、超声心动图、肝、肾、骨髓功能均正常;完成 6 个周期化疗。随机将患者分为治疗组和对照组,各 30 例。两组患者的年龄、身高、体质量等差异无统计学意义($P > 0.05$)(见表 1)。

1.2 方法 对照组采用环磷酰胺 + EPI + 5-氟尿嘧啶方案化疗,环磷酰胺 0.8 g,第 1 天静脉推注;EPI 90 ~ 100 mg/m²,第 1 天、第 8 天等分静脉滴注;5-氟尿嘧啶 500 mg/m²,第 1 天、第 8 天静脉滴注。治疗组在上述方案化疗基础上给予 GSH 1 500 mg/m² + 5%葡萄糖 250 ml,静脉滴注 15 min,从化疗第 1 天起,1 次/d,连用 8 d。全部患者均连续化疗 6 个周期,21 d 为 1 个周期。EPI 月累积剂量 540 ~ 600 mg/m²。

表 1 两组患者一般情况比较 ($\bar{x} \pm s$)

参数	治疗组	对照组	<i>t</i>	<i>P</i>
年龄(岁)	50.9 ± 5.9	51.1 ± 5.9	0.11	0.91
身高(cm)	161.0 ± 4.9	160.9 ± 4.6	0.06	0.95
体重(kg)	61.3 ± 5.5	60.9 ± 5.4	0.25	0.08
心率(次/min)	78.1 ± 10.9	78.4 ± 11.3	0.10	0.92
收缩压(mmHg)	122 ± 10	120 ± 12	0.51	0.61
舒张压(mmHg)	77 ± 6	78 ± 7	0.59	0.56

1.3 观察指标及评价标准 所有研究对象均于化疗前、化疗 3 个周期及 6 个周期后做下列检查评价心脏毒性:①心电图:异常心电图的诊断以黄宛主编第 5 版《临床心电图学》为标准;②心肌酶谱检测:包括肌酸激酶(creatine kinase,CK)、肌酸激酶同工酶(isoenzyme of creatine kinase containing M and B subunits,CK-MB)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase,LDH);③cTnI 测定:cTnI 分级标准根据国际联合化学与世界标准化委员会建议的临界值^[1]:cTnI 正常值 < 0.15 ng/ml,0.15 ~ 0.5 ng/ml 表示轻度心肌损伤,≥0.15 ng/ml 表示严重心肌损伤;④常规超声心动图组织多普勒超声技术:包括左室收缩功能参数左心室射血分数(ejection fraction,EF)、左心室短轴缩短率(fraction shortening,FS);舒张功能参数二尖瓣舒张早期流速峰值/舒张晚期流速峰值(E/A)、E 峰流速时间(decline time,DT)、二尖瓣环舒张早期运动速度峰值/心房收缩期运动速度峰值(E m/A m)。

1.4 统计学处理 所有资料均采用 SPSS 10.0 统计软件进行统计学处理。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,两组间均数比较采用 *t* 检验;计数资料采用 χ^2 检验或 Fishers 检验。

2 结果

2.1 失访率 治疗组 1 例患者因严重骨髓抑制未按时进行治疗而失访,1 例因经济状况而失访;对照组 2 例因其他非心脏毒性原因而失访,失访率 6.66%。

2.2 心电图变化 化疗前两组患者的心电图无显著性差异($\chi^2 = 0.53, P > 0.05$);化疗 3 个周期后,两组亦无显著性差异($\chi^2 = 0.90, P > 0.05$);化疗 6 个周期后,两组患者有显著性差异($\chi^2 = 3.90, P < 0.05$) (见表 2)。

2.3 心肌酶变化 化疗前与化疗后两组患者的心肌

酶检测结果均无显著性差异($P > 0.05$) (见表 3)。

表 2 两组患者化疗前后心电图比较 (n)

参数	治疗组			对照组		
	治疗前	化疗 3 个周期	化疗 6 个周期	治疗前	化疗 3 个周期	化疗 6 个周期
心动过缓	1	1	1	1	1	1
心动过速	1	1	0	2	1	2
房性早搏	0	1	0	0	0	0
室性早搏	0	0	0	0	0	1
室性心动过速	0	0	0	0	0	1
低电压	1	1	1	2	2	2
ST-T	0	1	3	1	2	3
Q-T 间期延长	0	0	1	0	1	1

表 3 两组患者化疗前后心肌酶的改变 (U/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	时间	CK	CK-MB	LDH
治疗组	治疗前	111.00 ± 30.18	3.28 ± 1.26	138.57 ± 16.90
	化疗 3 个周期后	116.68 ± 29.07	3.36 ± 1.24	143.07 ± 15.60
	化疗 6 个周期后	123.93 ± 27.46	3.51 ± 1.28	149.00 ± 17.92
对照组	治疗前	112.21 ± 30.44	3.23 ± 1.21	133.75 ± 14.6
	化疗 3 个周期后	121.32 ± 28.13	3.37 ± 1.23	139.39 ± 16.36
	化疗 6 个周期后	136.32 ± 30.80	3.62 ± 1.32	151.68 ± 19.53

2.4 cTnI 分级评估情况 两组患者化疗前及化疗 3 个周期后的 cTnI 比较无显著性差异($P > 0.05$),但化疗 6 个周期后有显著性差异($\chi^2 = 4.67, P < 0.05$) (见表 4)。

表 4 两组患者化疗前后的 cTnI 分级评估情况 (n)

参数	治疗组			对照组		
	治疗前	化疗 3 个周期	化疗 6 个周期	治疗前	化疗 3 个周期	化疗 6 个周期
正常	28	28	28	28	28	22
轻度损伤	0	0	0	0	0	6 ^a

注:a.与治疗组比较, $P < 0.05$ 。

2.5 超声心动图心功能指标比较 两组患者化疗前各项指标无显著性差异($P > 0.05$);化疗 3 个周期后,EF、FS、E/A、DT 无显著性差异($P > 0.05$),E m/A m 有非常显著性差异($P < 0.01$);化疗 6 个周期后,EF、FS 无显著性差异($P > 0.05$),E/A、DT 和 E m/A m 有非常显著性差异($P < 0.01$) (见表 5)。

3 讨论

由于 ATC 与心肌的亲合力明显高于身体其他组织,因此使心肌更易受到其损害。其发生机制可能与下列因素有关:①自由基产生与过氧化:目前,一般认为 ATC 诱发的心脏毒性与自由基大量形成有关^[2,3],ATC 具有强大的诱生自由基的作用,正常情况下,人体细胞可通过超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)、谷胱甘肽还原酶和 GSH 及时清除或还原自由基及其超氧化物,这些酶在清除自由基、抗脂质过氧化中具有重要的作用,ADM 可使这些酶减少,活性降低^[4];②钙超载:ATC 作用于心肌细胞,造成细胞内钙超载,导致心脏收缩和舒张功能障碍^[5];③促进细胞凋亡:ATC 能够促进抑制凋亡的 Bcl-2 表达下调和促进凋亡的 Bax 表达上调,从而引起心肌细胞凋亡;

Wang 在正常牛主动脉内皮细胞和成年小鼠心肌细胞中发现了阿霉素诱导的凋亡^[3]; ④能量代谢失调:ATC 使心肌细胞钙超载,线粒体消耗大量 ATP 以摄取胞浆

内过多的游离 Ca^{2+} ,细胞内 ATP 的水平降低使肌浆网 Ca^{2+} -ATP 酶供能不足,导致摄取 Ca^{2+} 的能力下降,进一步加重钙超载,形成恶性循环^[6]。

表 5 两组患者化疗前后不同时期超声心动图心功能指标比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	时间	EF(%)	FS(%)	DT	E/ A	Em/ Am
治疗组	治疗前	64.78 ±6.18	35.61 ±3.96	193.43 ±10.56	1.24 ±0.09	1.25 ±0.10
	化疗 3 个周期	61.82 ±6.31	33.86 ±3.45	196.86 ±10.55	1.14 ±0.07	1.20 ±0.09
	化疗 6 个周期	58.50 ±5.78	32.43 ±2.94	201.75 ±11.53	1.10 ±0.11	1.10 ±0.10
对照组	治疗前	64.50 ±5.73	35.00 ±3.43	190.71 ±8.74	1.26 ±0.09	1.28 ±0.07
	化疗 3 个周期	61.96 ±5.78	33.21 ±3.25	197.07 ±10.41	1.11 ±0.07	1.12 ±0.07 ^a
	化疗 6 个周期	56.85 ±4.68	31.39 ±2.74	210.89 ±12.71 ^a	0.98 ±0.07 ^a	0.97 ±0.07 ^a

注:a.与治疗组比较, $P < 0.01$ 。

GSH 是人类细胞质中自然合成的一种肽,由谷氨酸、半胱氨酸和甘氨酸组成,含有巯基(SH),对维持细胞的生物功能有重要作用。病理状态下,内源性 GSH 减少,当存在心肌毒性时 GSH-Px 显著降低。及时补充外源性 GSH 能恢复 GSH 酶系活性,阻断氧自由基对心肌的损害,可以预防、减轻、终止组织细胞损伤,改变病理过程,在保护心肌细胞方面有良好治疗作用。本研究应用 GSH 的治疗组在化疗 3 个周期后与对照组各项指标的比较显示,Em/Am 有非常显著性差异($P < 0.01$);化疗 6 个周期后两组的心电改变、cTnI 损伤情况及舒张功能参数 E/A、DT、Em/Am 亦有非常显著性差异($P < 0.01$),GSH 能减小 E/A、Em/Am 下降幅度,缩短 DT 的延长,降低心肌损伤机率,减轻 EPI 的心肌毒性。根据本研究结果推测,GSH 可能通过以下途径抑制 ATC 的心脏毒性:①清除自由基,抗氧化损伤:GSH 含有的 SH 是其发挥主要功能的基团,能结合亲电子基与自由基等有害物质,它可以在没有 GSH-Px 存在的条件下,以非酶促反应的形式直接与氧自由基结合;和白细胞在氧化应激中产生的次氯酸、氯胺等反应,可阻止其进一步参与氧自由基生成的反应^[7];GSH 可在 GSH-Px 作用下发生自身氧化,从而阻断羟自由基生成;②抑制钙超载:近年来,研究发现 GSH 尚有钙拮抗作用,GSH 通过对收缩装置中巯基结合簇的作用,导致后者对 Ca^{2+} 作用敏感性降低,从而减少超载 Ca^{2+} 对效应器过度作用造成的损伤;Archer 等认为,GSH 通过调节其他离子通道对抗钙超载,GSH 增加可使钾通道开放减少,降低细胞去极化活性,抑制胞浆内 Ca^{2+} 超载^[8];③促进抗凋亡基因的表达:细胞内 GSH 可通过促进抗凋亡基因 Bcl-2 和 Bcl-xl 的表达与膜脂质过氧化产物等多种途径和机制抑制细胞凋亡的发生,Armstrong 等发现,GSH 含量的降低是一种潜在的凋亡早期激活信号,随后产生的氧自由基促使细胞发生凋亡,其数量减少成为心肌

细胞修复氧化代谢损伤的限制因素^[9]。
总之,补充外源性 GSH 不影响化疗药物抗肿瘤效果,但能减低其毒性,提高化疗药物用量。相信通过对 GSH 心脏保护机制的进一步研究,可使 GSH 更好地应用于临床,造福于患者。

[参考文献]

[1] Huang CY, Shen ZY. Vascular endothelial growth factor fundamental research and experimental study in plastic surgery[J]. Chian J Reconstr Surg,2002,16(1):64—69.
[2] Szulawska A, Czvz M. Molecular mechanisms of anthracycline action[J]. Postepy Hif Med Dosw,2006,214(6):78—100.
[3] Wang S, Konover EA, Kotamraju S, et al. Doxorubicin induces apoptosis in normal and tumour cells via distinctly different mechanisms intermediacy of H_2O_2 and p53-dependent pathways[J]. J Biol Chem,2004,279(24):25535—25543.
[4] 程时,丁海勤. 谷胱甘肽起抗氧化作用今日谈[J]. 生理科学进展,2002,33(1):85—90.
[5] Natele RB, Cody RL, Simon MS, et al. An in vivo and in vitro trial of aclarubicin in metastatic breast cancer: a novel approach to the study of analogs[J]. Cancer Chemother Pharmacol,1993,31(6):485—488.
[6] Rodrigo GC, Standen NB. Role of mitochondrial re-energization and Ca^{2+} influx in reperfusion injury of metabolically inhibited cardiac myocytes[J]. Cardiovasc Res, 2005, 67(2):291—300.
[7] Leichtweis S, Ji LL. Glutathione deficiency intensifies chagema reperfusion induced cardiac dysfunction and oxidative stress[J]. Acta Physiol Scand,2001,172(1):1—10.
[8] Areher SL, Weir EK, Rceve HL, et al. Molecular identification of O_2 sensors and O_2 Sensitive potassium channels in the pulmonary circulation[J]. Adv Exp Med Biol,2000,475:219—240.
[9] Armstrong JS, Steinauer KK, Hornung B, et al. Role of glutathione depletion and reactive oxygen species generation in apoptotic signaling in a human B Lymphoma cell line[J]. Cell Death Differ,2002,9(3):252—263.

(收稿日期:2008-03-31 修回日期:2008-05-18)