

辛伐他汀抑制大鼠急性心肌梗死后氧化应激的实验研究

廖蓉

(重庆医科大学附属第一医院第一分院心内科 400015)

摘要:目的 建立大鼠心肌梗死的模型,观察不同剂量辛伐他汀抑制心肌梗死后氧化应激的作用,探讨不同剂量辛伐他汀改善大鼠心室重塑和心功能的潜在机制。方法 结扎大鼠冠状动脉前降支,形成急性心肌梗死模型,给予不同剂量辛伐他汀(20、40、60 mg·kg⁻¹·d⁻¹)干预。4周后,测定心脏心室重塑的各项指标,检测不同分组的大鼠心肌中总超氧化物歧化酶(SOD)、铜锌-超氧化物歧化酶(CuZn-SOD)活性、血液 H₂O₂ 水平,并与假手术组比较。结果 心肌梗死组大鼠心室重塑明显,左室心脏重量指数(LVWI)升高,心率增快,血流动力学紊乱($P<0.05$)。心肌中 SOD、CuZn-SOD 和血液中 H₂O₂ 水平升高($P<0.05$)。不同剂量辛伐他汀干预组均较心肌梗死组 LVWI 下降($P<0.05$),心肌中 SOD、CuZn-SOD 和血液中 H₂O₂ 水平下降,心率减慢,血流动力学改善($P<0.05$),尤其以高剂量他汀干预组(60 mg·kg⁻¹·d⁻¹)更明显。结论 辛伐他汀减少急性心肌梗死后氧化应激表达,可能是改善心室重塑和心功能的机制之一,并与剂量有一定的正相关性。

关键词:心肌梗死;辛伐他汀;氧化应激;心室重塑

中图分类号:R542.2

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)27-3596-03

Experimental study on simvastatin for inhibiting oxidative stress after acute myocardial infarction in rats

Liao Rong

(Department of Cardiology, First Branch Hospital, First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400015, China)

Abstract: Objective To establish the rat myocardial infarction model to observe the effects of different kinds of doses of simvastatin for inhibiting the oxidative stress after myocardial infarction, and to explore the potential mechanism of different doses of simvastatin for improving the rat ventricular remodeling and cardiac function. **Methods** The coronary artery anterior descending branch was ligated for establishing the myocardial infarction rat model and the different doses of simvastatin(20, 40, 60 mg·kg⁻¹·d⁻¹) were given for intervention. After 4 weeks, the cardiac ventricular remodeling indicators, superoxide dismutase(SOD) and copper zinc superoxide dismutase(CuZn-SOD) activity in myocardium, blood H₂O₂ level were detected and the detection results were compared with those in the sham operation group. **Results** The rat ventricular remodeling in the myocardial infarction group(M group) was significant, the left ventricular mass index(LVWI) was elevated, the heart rate was increased and the hemodynamics was disordered($P<0.05$). The SOD and CuZn-SOD expression in the myocardium and blood H₂O₂ expression were elevated($P<0.05$). The LVWI in different doses of simvastatin intervention groups were decreased compared with the myocardial infarction group($P<0.05$), the heart rate was decreased, SOD and CuZn-SOD expression and blood H₂O₂ expression were decreased, the hemodynamics was improved($P<0.05$), especially which in the high dose atorvastatin intervention group(60 mg·kg⁻¹·d⁻¹) were more significant. **Conclusion** Simvastatin reduces the expression of oxidative stress after acute myocardial infarction, which may be one of the mechanisms for improving the ventricular remodeling and heart function, and has certain positive correlation with dose.

Key words: myocardial infarction; simvastatin; oxidative stress; ventricular remodeling

持久而严重的心肌缺血致部分心肌急性坏死即心肌梗死。急性心肌梗死可刺激交感神经兴奋,释放过多儿茶酚胺,损害心肌细胞线粒体后使 ATP 生成减少,同时异常氧化应激参与心肌梗死后的整个异常病理生理过程,心肌细胞钙离子内流增加,增加心肌耗氧量,共同造成心肌缺氧进一步恶化加重,并相互促进形成恶性循环。后远期最终导致心肌重构,肌动蛋白向运动缓慢的异构体的转换,造成心肌收缩减缓及心肌功能障碍,显微状态观察则发现心肌细胞坏死和凋亡导致纤维化进一步加重重构^[1-2]。国内外研究表明,他汀类降脂药具有降脂以外的多种心血管保护作用^[3-4],本实验用不同剂量辛伐他汀干预大鼠急性心肌梗死,观察是否可抑制心肌梗死后氧化应激反应,探讨是否有利于改善心室重塑和心功能。为临床利用不同剂量辛伐他汀治疗急性心肌梗死提供新的实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料 动物实验中所用辛伐他汀(20 mg/片)购于默沙东公司,超氧化物歧化酶(SOD)及铜锌-超氧化物歧化酶(CuZn-SOD)活性测定试剂盒、H₂O₂测定试剂盒购于南京建成生物工程研究所。FA1104 电子天平购于上海精密科学仪器有限公司。体质量 200~250 g 的 Wistar 大鼠购于第三军医大学动物中心,雌雄不限。

1.2 方法

1.2.1 大鼠心肌梗死动物模型的建立及分组 参照文献^[4]的方法:麻醉大鼠,给予小动物呼吸机辅助呼吸,开胸后结扎左冠状动脉前降支(选择左心耳下缘与肺动脉圆锥间距主动脉根部约 3 mm 处为结扎点)。32 只大鼠随机分为 4 组,每组 8 只,分别为假手术组(S 组),心肌梗死组(M 组),心肌梗死+20 mg

· kg⁻¹ · d⁻¹ 辛伐他汀组(X1 组), 心肌梗死 + 40 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ 辛伐他汀组(X2 组), 心肌梗死 + 60 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ 辛伐他汀组(X3 组), 辛伐他汀溶解后经灌饲法喂给, M 组大鼠用生理盐水模拟灌饲, 4 周后摘取大鼠心脏, 分别送液氮保存, 血液离心后取上清测定 H₂O₂。

1.2.2 心脏重量指数测定 处死大鼠后取心脏, 清洗后吸干水分, 沿室间沟切开左室(包括室间隔), 左、右室分别测量, 用 FA1104 电子天平测量各部分重量。测量方法为: 右室心脏重量指数(RVWI) = 右室心脏重量/体质量(RVW), 左室心脏重量指数(LVWI) = 左室心脏重量/体质量(LVW), 按照公式分别计算出 LVWI、RVWI。

1.2.3 SOD 及 CuZn-SOD 活性、H₂O₂ 水平测定的实验方法 按照试剂盒说明书, 黄嘌呤氧化酶法测定心肌 SOD 及 CuZn-SOD 活性, 比色法测定血清 H₂O₂ 水平。

1.2.4 血流动力学测定 血流动力学测定在麻醉大鼠后进行, 暴露颈部动脉后经左颈总动脉插管, 连接 MPA-2000 生物信号分析系统压力换能器, 用多导记录仪记录大鼠的心腔内血流动力学参数。

1.2.5 病理形态学分析 将 10% 甲醛固定的组织石蜡包埋, 切片后行 HE 染色, 在光镜下分析梗死区及非梗死区心肌组织的形态学改变。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件进行统计分析, 计量数值采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较用方差分析, 进一步两两比较采用 LSD-*q* 检验。计数资料以率表示, 采用 χ^2 检验和秩和检验。P < 0.05 为差异具统计学意义。

2 结 果

2.1 光镜下组织形态学改变 心肌组织 HE 染色在光镜下显

示, S 组心肌细胞形态结构正常, 心肌纤维排列整齐, 偶可见少量炎性细胞浸润, 无心肌细胞坏死、肥大, 无胶原堆积、间质增生; 与 S 组比较, M 组梗死区心肌细胞数量减少, 大量炎性细胞浸润, 结构紊乱, 非梗死区的心肌细胞代偿性肥大, 间质增生、胶原堆积、粗乱。X 组与 M 组比较, 梗死区心肌细胞变性坏死减轻, 炎性细胞浸润减少, 在非梗死区的心肌细胞代偿性肥大、间质增生、胶原堆积较 M 组低, 尤其以 X3 组改善更明显。

2.2 不同剂量辛伐他汀对心室重塑的影响 M 组与 S 组相比, LVWI、RVWI 升高(P < 0.01); 与 M 组相比, X1、X2、X3 组 LVWI、RVWI 均降低(P < 0.01), 尤其以 X3 组降低更明显。见表 1。

2.3 不同剂量辛伐他汀对心肌 SOD、CuZn-SOD 和 H₂O₂ 水平的影响 M 组与 S 组相比, 梗死区心肌 SOD、CuZn-SOD、H₂O₂ 水平无明显变化(P > 0.05), 但是非梗死区心肌 SOD、CuZn-SOD 水平均降低, H₂O₂ 水平升高(P < 0.05); 与 M 组相比, X1、X2、X3 组梗死区心肌 SOD、CuZn-SOD、H₂O₂ 水平无明显变化(P > 0.05), X1、X2、X3 组非梗死区心肌 SOD、CuZn-SOD 水平则明显升高, H₂O₂ 水平下降(P < 0.05), 以 X3 组 SOD、CuZn-SOD 水平升高更明显、H₂O₂ 水平下降更明显, 但是 X2、X3 组间比较差异无统计学意义(P < 0.05)。见表 2。

2.4 辛伐他汀对血流动力学影响 心肌梗死组大鼠的心率增快, 左室收缩压(LVSP)和 +dp/dtmax、-dp/dtmax 下降(P < 0.05), 左室舒张期末压(LVEDP)升高(P < 0.05)。X1、X2、X3 组与 M 组比较, 心率减慢, LVSP、+dp/dtmax、-dp/dtmax 均回升(P < 0.05), LVEDP 降低(P < 0.05), X3 组改变更明显。见表 3。

表 1 不同剂量辛伐他汀对左室重塑的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

指标	S 组	M 组	X1 组	X2 组	X3 组
LVW(mg)	760.00 ± 35.00	878.00 ± 45.00 ^a	822.00 ± 56.00 ^b	818.00 ± 44.00 ^b	815.00 ± 42.00 ^b
RVW(mg)	202.00 ± 28.00	265.00 ± 24.00 ^a	231.00 ± 33.00 ^b	227.00 ± 28.00 ^b	225.00 ± 24.00 ^b
LVWI(mg/g)	2.09 ± 0.23	3.31 ± 0.21 ^a	2.32 ± 0.34 ^b	2.30 ± 0.19 ^b	2.26 ± 0.14 ^b
RVWI(mg/g)	0.56 ± 0.09	0.82 ± 0.06 ^a	0.71 ± 0.04 ^b	0.64 ± 0.02 ^b	0.59 ± 0.02 ^b

^a: P < 0.05, 与假手术组比较; ^b: P < 0.05, 与心肌梗死组比较。

表 2 不同剂量辛伐他汀对心肌 SOD、CuZn-SOD 和 H₂O₂ 水平的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

水平(pg/mL)	S 组	M 组	X1 组	X2 组	X3 组
非梗死区 SOD	445 ± 25	328 ± 25 ^a	402 ± 26 ^b	416 ± 27 ^b	419 ± 29 ^b
非梗死区 CuZn-SOD	185 ± 20	128 ± 25 ^a	143 ± 16 ^b	151 ± 28 ^b	155 ± 31 ^b
非梗死区 H ₂ O ₂	25 ± 4	58 ± 8 ^a	42 ± 4 ^b	40 ± 3 ^b	42 ± 5 ^b

^a: P < 0.05, 与 S 组比较; ^b: P < 0.05 与 M 组比较。

表 3 不同剂量辛伐他汀血流动力学变化($\bar{x} \pm s, n=8$)

参数	S 组	M 组	X1 组	X2 组	X3 组
HR(次/分)	352.00 ± 50.00	429.00 ± 80.00 ^a	394.00 ± 60.00 ^b	383.00 ± 63.00 ^b	378.00 ± 64.00 ^b
LVSP(mm Hg)	119.20 ± 11.30	93.00 ± 12.40 ^a	109.80 ± 11.80 ^b	111.20 ± 12.50 ^b	113.00 ± 13.00 ^b
LVDEP(mm Hg)	6.80 ± 1.12	8.78 ± 1.60 ^a	7.08 ± 1.21 ^b	7.04 ± 1.33 ^b	6.93 ± 1.26 ^b
+dp/dtmax(mm Hg/s)	4 021.00 ± 553.00	3 209.00 ± 473.00 ^a	3 751.00 ± 486.00 ^b	3 849.00 ± 543.00 ^b	3 853.00 ± 563.00 ^b
-dp/dtmax(mm Hg/s)	2 443.00 ± 202.00	1 864.00 ± 216.00 ^a	2 156.00 ± 204.00 ^b	2 253.00 ± 218.00 ^b	2 262.00 ± 261.00 ^b

^a: P < 0.05 与 S 组比较; ^b: P < 0.05, 与 M 组比较。

3 讨 论

随着社会发展和人口老龄化,冠心病发病率逐年增多,心肌梗死等心脏疾患发病率逐渐增高。心肌梗死后心室重塑也是导致慢性心力衰竭的主要病因之一。心室重构是复杂的病理生理过程,开始于心肌梗死的急性期,于随后的数月或数年继续进展,并激活异常的氧化应激反应,早期出现心室受损后的血流动力学改变、电生理不稳定性,随着病程进展,晚期发生心室重构、心功能损伤、慢性心力衰竭。梗死和非梗死心肌节段的左室大小、心脏几何形态、心肌厚度均发生异常变化。心室重构过程包括心室扩大和慢性持续的梗死扩展,二者均能影响心梗患者的左室功能和近远期预后。抑制梗死急性期的电紊乱、异常氧化应激,减少梗死后期的心肌梗死范围扩展和心室扩张的危险是治疗的重点。早期抗缺血、挽救濒死心肌等综合治疗措施,包括减少交感应激、减少氧化损伤、降低心室膨胀的压力,有利于减少梗死范围、保护缺血心肌,但是改善患者的心功能和远期预后则是更重要、更需要长期进行的工作。新近研究发现,不同种类的他汀类药物均具有独立于降脂作用外的心血管保护作用,已有研究证实可以明显改善心肌梗死患者的近远期预后,明显降低病死率^[2-3],对缺血性心力衰竭也有较好的治疗效果。

表型改变是心肌重构的基础,多由氧化应激等病理性刺激引起胚胎基因的重新表达所致,促使心肌快速生长,早期代偿心肌梗死后心肌负荷增加。但是基因表达改变的另一后果是胶原沉积,引起弥散性间质纤维化、血管周围纤维化和局灶性修复性纤维化。心肌细胞肥大还导致了线粒体密度的相对下降,造成能量生成不足和心肌功能障碍,而重构心肌内血管缺乏,进一步减少了对存活心肌细胞的氧和养分供应,并促使进行性的细胞死亡和重构^[4-5]。最终导致心肌顺应性下降、心肌功能障碍。血管周围性纤维化影响冠状动脉顺应性,降低冠状动脉储备,而造成心肌缺血的加重,使心肌不断死亡和心室收缩功能障碍。

心肌梗死后梗死部位的机械牵张、神经激活、血管紧张素 II (Ang II) 水平升高、原癌基因及胚胎型基因表达、细胞因子分泌增多等多种异常病理过程,可以通过激活许多病理途径激活异常氧化应激^[6]。本研究发现,心肌梗死组大鼠 LVWI、RVWI 也升高,表明大鼠的心肌梗死模型建立成功,辛伐他汀明显增加 SOD、CuZn-SOD 表达,减少 H₂O₂ 水平,同时改善大鼠的心室重量指数,表明辛伐他汀的非降脂心脏保护机制可能与增加 SOD、CuZn-SOD 表达,减少 H₂O₂ 水平,通过增强 SOD 活性,间接减少自由基、抑制氧化损伤有关,并且长期效应表现为控制心功能的恶化。并且发现他汀类药物对心肌梗死后的心肌结构和功能的保护作用与剂量有一定关系,使用 20、40、60 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ 3 种剂量进行干预,发现 60 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ 大剂量组的他汀保护作用更强。国内外研究表明他汀类药物也具有改善内皮功能、抗炎、改善心肌纤维化等作用,还可以提高心肌内皮型 NOS (eNOS) 活性、增加 NO 的释放,提高内皮功能,延缓或可能阻止动脉粥样硬化进程^[7-11]。本研究发现,心肌梗死组大鼠的 LVSP 和 +dp/dtmax、-dp/dtmax 下降, LVEDP 升高,辛伐他汀处理后,心率减慢, LVSP、+dp/dtmax、-dp/dtmax 均回升, LVEDP 降低,使心肌梗死大鼠的血流动力学明显改善。Mann 等^[8]报道,某些他汀类药物可以阻

断多种细胞内信号途径,抑制 Ang II 介导的异常氧化应激,尤其是抑制心肌梗死后异常氧化应激,通过稳定斑块等综合作用发挥血管保护作用,本实验与这一研究结果一致。

总之,本实验证实不同剂量辛伐他汀干预可增加大鼠心肌局部 SOD、CuZn-SOD 表达,减少血清 H₂O₂ 水平,并改善心室重塑和血流动力学;并且证实他汀类药物的心血管益处有一定剂量范围内量效相关。这为早期使用他汀类药物治疗急性心肌梗死、长期运用改善疾病的远期预后均提供了重要的实验依据。进一步的研究中,增加观察的时间点将得出更有意义的结论。

参考文献:

- [1] Rogers TB, Lokuta AJ. Angiotension signal transduction pathway in the cardiovascular system. Trends [J]. Trends Cardiovasc Med, 1994, 4(3): 110-116.
- [2] 赵钢, 刘闰男, 李志明. 阿托伐他汀对 LPS 诱导人血管内皮细胞 IκBα 表达的影响 [J]. 中国药理学通报, 2007, 23(3): 395-399.
- [3] 袁侨英, 覃数. 辛伐他汀抑制大鼠急性心肌梗死后血管紧张素 II 的生成和改善心室重塑的研究 [J]. 重庆医学, 2005, 34(1): 66-67.
- [4] 袁侨英, 覃数. 辛伐他汀改善急性心肌梗死后心室重塑与心功能的实验研究 [J]. 重庆医科大学学报, 2004, 29(4): 497-499.
- [5] Dechend R, Müller D, Park JK, et al. Statins and angiotensin I induced vascular injury [J]. Nephrol Dial Transplant, 2002, 17(3): 349-353.
- [6] Su SF, Hsiao CL, Chu CW, et al. Effects of pravastatin on left ventricular mass in patients with hyperlipidemia and essential hypertension [J]. Am J Cardiol, 2000, 86(5): 514-518.
- [7] 覃数, 陈运贞, 王志华. 大白鼠实验性心肌缺血再灌注模型制备与心电图改变的特点 [J]. 重庆医科大学学报, 1998, 23(1): 8-11.
- [8] Mann DL, Kent RL, Parsons B, et al. Adrenergic effects on the biology of the adult mammalian cardiocyte [J]. Circulation, 1992, 85(2): 790-804.
- [9] 刘云, 宋玉蓉, 乐国伟, 等. 葡寡糖对 LPS 诱导小鼠氧化应激与炎症反应调节作用的研究 [J]. 天然产物研究与方法, 2011, 23(2): 240-245.
- [10] Solomon SD, Appelbaum E, Manning WJ, et al. Effect of the direct Renin inhibitor aliskiren, the Angiotensin receptor blocker losartan, or both on left ventricular mass in patients with hypertension and left ventricular hypertrophy [J]. Circulation, 2009, 119(4): 530-537.
- [11] Delbosco S, Cristol JP, Descomps B, et al. Simvastatin prevents angiotensin II-induced cardiac alteration and oxidative stress [J]. Hypertension, 2002, 40(2): 142-147.