维普资讯 http://www.cqvip.com

论 著 文章编号:0253-3626(2007)04-0407-03

辛伐他汀抑制心肌梗死后心肌细胞凋亡及改善心功能的实验研究

叶 强,覃 数,雷 寒,胥雪莲,蒋正英

(重庆医科大学附属第一医院心内科,重庆 400016)

【摘 要】目的:观察辛伐他汀对心肌梗死后心肌细胞凋亡及心功能的影响。方法:结扎大鼠左冠状动脉前降支造成心肌梗死模型,实验组给予药物处理(辛伐他汀 40mg/kg),7 天后,TUNEL 法检测心肌组织中的凋亡心肌细胞,超声检测左心室功能参数,生化法检测血脂水平。结果:辛伐他汀组较心肌梗死组在梗死区、梗死周边区、远离梗死区凋亡心肌细胞显著减少($P<0.05$),左心室功能改善($P<0.05$),血脂水平没有显著性差异($P>0.05$)。结论:辛伐他汀抑制心肌梗死后心肌细胞凋亡,改善心功能。

【关键词】辛伐他汀;心肌梗死;凋亡

【中国图书分类法分类号】R542.22 【文献标识码】A 【收稿日期】2006-07-10

Experimental study of inhibited cardiomyocyte apoptosis and improved cardiac function by simvastatin after myocardial infarction

YE Qiang, et al

(*Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the effect of simvastatin on cardiomyocyte apoptosis and cardiac dysfuction after myocardial infarction. *Method*: Simvastatin was administrated to the rats with myocardial infarction which was modeled by left anterior descending coronary artery ligation. After 7days, the apoptotic myocyte cells were quantified by TUNEL staining; left ventricular function index was measured by echocardiography and the level of serum lipid was measured by biochemical method. *Results*: Compared with infarction group, apoptotic myocyte cells in simvastatin group significantly decreased in infarction zone, border zone and non-infarction zone ($P<0.05$), and left ventricular function was improved significantly ($P<0.05$). There was no difference in the level of serum lipid between the groups ($P>0.05$). *Conclusion*: Simvastatin inhibits cardiomyocyte apoptosis and improves cardiac function after myocardial infarction.

【Key words】 Simvastatin; Myocardial infarction; Apoptosis

心肌细胞凋亡是心肌梗死后心肌死亡的形式之一,细胞凋亡所致心肌细胞丢失在心肌梗死后心力衰竭的发生发展中具有重要作用。近来实验研究发现,羟甲基戊二酰辅酶 A 还原酶抑制剂,即他汀类药物,具有非降脂心肌保护作用[1,2],但其对心肌梗死后心肌细胞凋亡的影响尚不清楚。本实验旨在观察辛伐他汀对心肌梗死后心肌细胞凋亡的影响。

1 材料和方法

1.1 实验动物和试剂

Wistar 雄性大鼠,体重 180~200g,购于第三军医大学实验动物中心,辛伐他汀(默沙东公司),In Situ Cell Death Detection Kit POD(德国罗氏公司),血脂检测试剂盒(日本 WAKO 公司)。

1.2 方法

本实验分为假手术组(Sham)、心肌梗死组(MI)、辛伐他汀组(Sim)。实验模型制备按文献介绍的方法[3],麻醉动物开胸,在左心耳下缘与肺动脉圆锥间距主动脉根部 3mm 处,结扎左冠状动脉前降支。假手术组除不结扎左冠状动脉前降支外其余操作相同。辛伐他汀组术后立即插胃管给辛伐他汀,剂量为每天 40mg/kg。心肌梗死和假手术组除不给予药物干预外,其余措施同辛伐他汀组。术后第 7 天,心脏超声检测左心室功能参数(左室短轴缩短率、射血分数、每搏输出量、心输出量),开胸后主动脉取血检测血脂,取出心脏,分离出左心室,在心室中部沿水平面切取 1.5~3.0mm 厚心肌浸泡于 10%多聚甲醛液固定 24h 后组织块常规脱水、石蜡包埋、切

作者介绍:叶 强(1978-),男,住院医师,博士生,主要研究方向:冠心病、心力衰竭。

维普资讯 http://www.cqvip.com

片,TUNEL 法检测心肌组织中的凋亡心肌细胞。在高倍镜下(10 倍目镜×40 倍物镜)检测,分别数梗死区、梗死周边区和远离梗死区各 5 个视野,以心肌凋亡阳性细胞占总心肌细胞数的百分比作为心肌细胞凋亡指数。

1.3 统计学处理

所有数据均以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,数据采用 SPSS12.0 软件处理,两组间行双侧 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有显著性。

2 结 果

2.1 心肌细胞凋亡的变化

辛伐他汀组心肌细胞凋亡较心肌梗死组明显降低,见表 1。

表 1 心肌梗死后各组心肌细胞凋亡指数(1/1000)

组别	样本数	梗死区	梗死周边区	远离梗死区
Sham	4	0	0	12.70±10.70
MI	7	56.34±15.15	96.42±28.65	31.20±6.50
Sim	8	49.54±19.76#	71.60±34.60#	22.33±7.80#

#$P<0.05$ vs MI group

2.2 左心室功能参数变化

辛伐他汀组较心肌梗死组左心室功能参数改善,见表 2。

表 2 心肌梗死后各组左心室功能参数变化

组别	左室短轴缩短率	射血分数	每搏输出量(ml)	心输出(l/min)
Sham	36.83 ± 6.65	72.33 ± 7.98	0.32 ± 0.11	0.139 ± 0.04
MI	27.93 ± 0.929	57.47 ± 4.95	0.26 ± 0.05	0.17 ± 0.04
Sim	37.06 ± 1.19#	69.8 ± 5.09#	0.26 ± 0.05#	0.21 ± 0.01#

#$P<0.05$ vs MI group

2.3 辛伐他汀对心肌梗死后大鼠血脂水平的影响

辛伐他汀组血脂水平较心肌梗死组有所降低,但统计显示三组间 TG、TC、LDL-C、HDL-C 均未达到显著性差异,见表 3。

表 3 辛伐他汀对心肌梗死后大鼠血脂水平的影响(mmol/L)

组别	Sham(n=4)	MI(n=7)	Sim(n=8)
TG	0.40±0.09	0.44±0.08*	0.38±0.10#
TC	1.20±0.21	1.20±0.18*	0.96±0.15#
LDL-C	0.29±0.07	0.29±0.07*	0.23±0.06#
HDL-C	0.56±0.09	0.59±0.11*	0.58±0.11#

*$P>0.05$ vs Sham group #$P>0.05$ vs MI group

3 讨 论

本实验观察到心肌梗死后心肌细胞凋亡明显,在梗死区、梗死周边区、远离梗死区均有大量凋亡心肌细胞存在,其中梗死周边区是凋亡率最高区域,与以往的研究结果一致[4]。辛伐他汀组较心肌梗死组在梗死区、梗死周边区、远离梗死区凋亡心肌细胞显著减少,同时也观察到辛伐他汀组左心室功能参数改善明显,两者均有统计学意义。本研究观察到各组血脂水平无统计学差异,提示辛伐他汀抑制心肌梗死后心肌细胞凋亡效应可能独立于其降脂作用。

他汀类药物逆转心室重构改善心功能的研究多集中于其抑制心肌肥大和凋亡两方面。Martin[5]研究缺氧对新生大鼠心肌细胞的影响,TUNEL 法检测到大量心肌细胞凋亡,同时发现复氧时加入美伐他汀和普伐他汀能抑制缺氧所致心肌细胞凋亡,Wolfrum[6]在研究缺血再灌注损伤时发现再灌注时静脉给予辛伐他汀能减少心肌细胞凋亡,减小梗死面积,改善心功能。而本研究则采用了与目前国内外不同的研究对象,即急性心肌梗死模型,得到了辛伐他汀减少心肌细胞凋亡、改善心功能这一相同的结论。

辛伐他汀抑制心肌细胞凋亡的可能机制为:①通过抗氧化抑制心肌凋亡。心肌梗死后,由于心功能急剧降低,左心室舒张末压升高,引起室壁张力增高,心脏舒张期机械负荷加重,致内源性过氧化产物增加,诱发心肌凋亡。辛伐他汀可能通过抑制 rac1、nox-1、$p22^{phox}$ 和激活过氧化氢酶(CAT)而减少氧活性物质(ROS)生成[8,9],减少氧化应激,抑制 JNK 活性,维持心肌细胞线粒体膜电位[10~12],防止心肌凋亡。②辛伐他汀可能通过激活磷脂酰肌醇-3 激酶(PI3K)和丝氨酸-苏氨酸激酶(Akt)进而激活 eNOS,促进 NO 合成,NO 通过 S-亚硝基化促凋亡蛋白 caspase-3 的半胱氨酸残基,产生一个亚硝基硫醇键而抑制其活性,减少凋亡[6,13~15]。

结扎冠状动脉左前降支所致急性心肌梗死模型不能完全模拟急性心肌梗死的病理生理过程,TUNEL 法检测凋亡心肌细胞,为半定量检测法,定量准确度有限,这些方法学的限制为本文的不足之处。

(通讯作者:覃 数,教授,主任医师,博士生导师,心内科主任,主要研究方向:冠心病、心力衰竭)

维普资讯 http://www.cqvip.com

参 考 文 献

[1] LuoJD,ZhangWW,ZhangGP,et al.Simvastatin inhibits cardiac hypertrophy and angiotensin-converting enzyme activity in rats with aortic stenosis[J].Clin Exp Pharmacol Physiol,1999;26:903-908.

[2] SuSF,HsiaoCL,ChuCW,et al.Effects of Pravasatin on left ventricular mass in patients with hyperlipidemia and essential hypertension[J].Am J Cardiol,2000;86:514-518.

[3] 覃 数,陈运贞.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;23:8-11.

[4] 陈跃峰,杨跃进.大鼠急性心肌梗死后的心肌细胞凋亡[J].中国临床康复,2004;36:8202-8203.

[5] Martin W,Bergmann,Cindy Rechner,et al.Statins inhibit reoxygeneration-induced cardiomyocyte apoptosis:Role for glycogen synthase kinase 3βand transcription factor β-catenin[J].Mol and Cel cardio,2004;37:681-690.

[6] Wolfrum S,Denderfer A,Schutt M,et al.Simvastatin acutely reduces myocardial reperfusio injury in vivo by activating the phosphatidylinositide 3-kinase/Akt pathway[J]. Cardiov Pharma,2004;44:348-355.

[7] Abraham S,Osorio C,Homma S,et al.Simvastatin preserves cardiac function in genetically determined cardiomyopathy[J].Cardiov Pharma,2004;43:454-461.

[8] Sven W,Ulrich L,Kirsten M,et al.Cellular antioxidant effects of atorvastatin in vitro and in vivo[J].Arteriosclr Thromb and Vasc Biol,2002;22:300.

[9] Maack C,Kartes T,Kilter H,et al. Oxygen free radical release in human failing myocardium is associated with increased activity of rac1-GTPase and represents a target for statin treatment[J].Circ Res,2003;108:1567-1574.

[10] WeiGL,Asgar Zr,Lawrence C,et al. Activation of JNK in the remote myocardium after large infarction in rats[J].Bioch and Biop Res Commu,1998;246:816-820.

[11] Pimentel DR,Amin JK,XiaoL,et al.Reactive oxygen species mediate amplitude-dependent hypertrophic and apoptotic responses to mechanical stretch in cardiac myocytes[J].Circ Res,2001;89:453-460.

[12] Jones SP,TeshimaY,Akao M,et al. Simvastatin attenuates oxidant-iduced mitochodrial dysfunction in cardiac myocytes[J].Circ Res,2003;93:697-699.

[13] Kureishi Y,Luo Z,Shiojima I,et al.The HMG-CoA reductase inhibitor simvastatin activates the protein kinase Akt and promotes angiogenesis in nomocholesterolemic animals[J].Nat Med,2000;6:1004-1010.

[14] Robert MB,MBBS BSc,Derek M,et al.Yellon Atorvastatin,administerd at the onset of reperfusion o,and independent of lipid lowering,protects the myocardium by up-regulating a pro-survival pathway[J].J Am Coll Cardiol,2003;41:508-515.

[15] Yasuhiro M,Sumusu A,Kino M,et al.Ntric oxide inhibits myocardial apoptosis by preventing caspase-3 activity via S-nitrosylation[J].J Mol and Cel Cardiol,2005;38:163-174.

(上接第 358 页)

for isolated heart muscle and the intact heart[J].Circ Res,1973;33:233-243.

[4] Grossman W,Stefadouros M A,McLaurin LP,et al.Quantitative assessment of left ventricular diastolic stiffness in man[J].Circulation,1973;47:567-574.

[5] Zheng Y.P,Mark A.F.T.Extraction of quasi-linear viscoelastic parameters for lower limb soft tissues from manual indentation ex periment[J].Journal of Biomechanical Engineering,1999;121:330-337.

[6] Han L,Nobel JA,Burcher M,et al.A novel ultrasound indentation system for measuring biomechanical properties of in vivo soft tissure[J].Ultrasound Med Biol,2003;29(6):813-823.

[7] 苟怀宇,黄 晶,张春晓,等.正常和肥厚兔离体心肌僵硬度的比较[J].重庆医科大学学报,2005;2:172-177.

[8] 冯元桢,主编. 生物力学—活组织的力学特性[M].第 1 版,湖南:湖南科学技术出版社,1986.57.

[9] 冯元桢,主编.生物力学[M].第 1 版,北京:科学出版社,1983.104.

[10] 沈 理,陈 丽,沈学东,等.彩色多普勒组织成像定量分析心肌梗塞面积的实验研究[J].中华超声影像学杂志,1996;5(4):180-184.

[11] 张 运.舒张性心力衰竭的研究进展[J].心肺血管病杂志,2004;2(23):51.

[12] Villars PS,Hamlin SK,Shaw AD,et al.Role of diastole in left ventricular function,I:Biochemical and biomechanical events[J].Am J Crit Care,2004;13(5):394-403.

[13] Hess OM,Grimm J,Krayenbuehl HP,et al.Diastolic simple elastic andviscoelastic properties of the left ventricle in man[J].Circulation,1979;59(6):1178-1187.

[14] Stroud J, Baicu C.F,Barnes M.A,et al.Viscoelastic properties of pressure overload hypertrophied myocardium:effect of serine protease treatment[J].Am J Physiol Heart Circ Physiol,2002;282(6):2324-2335.

[15] Forrester J S,Diamond G,Parmley W.W.Early increase in left ventricular compliance after myocardial infarction[J].J Clin Invest,1972;51:598-603.

[16] Tennant R,Grayzel D.M,Sutherland F.A,et al.Studies on experimental coronary occlusion: chemical and anatomical changes in the myocardium after coronary ligation[J].Am Heart J,1936;12:168.