

辛伐他汀减轻舒张功能不全心力衰竭大鼠心肌纤维化

唐惠芳^{1,2}, 吴书林², 邓春玉²

(1. 南华大学附属第一医院心血管内科, 湖南省衡阳市 421001;
2. 广东省人民医院心内科 广东省心血管病研究所, 广东省广州市 510100)

[关键词] 辛伐他汀; 舒张功能不全; 心肌细胞; 心肌纤维化

[摘要] **目的** 探讨辛伐他汀对舒张功能不全心力衰竭(diastolic heart failure, DHF)大鼠心脏功能保护和心肌纤维化的影响。**方法** 雄性SD大鼠30只,随机分为阴性对照组、DHF组、辛伐他汀组。采用腹主动脉缩窄建立DHF模型,阴性对照组只开腹和分离腹主动脉。辛伐他汀组大鼠术后经灌胃给予辛伐他汀2 mg/(kg·d),阴性对照组和DHF组大鼠给予同等量的生理盐水。4周末心脏超声检测心功能,颈动脉插管记录血流动力学,HE染色和Masson染色观察心肌组织病理结构的变化。**结果** 心脏超声显示DHF组大鼠室间隔和左心室后壁厚度、E/A比值明显增高,血流动力学检测显示收缩压、舒张压、左心室收缩压、左心室舒张末压升高,左心室松弛时间常数延长,左心室内压最大下降速率下降,心脏指数和左心室质量指数增加。辛伐他汀使增加的室间隔和左心室后壁厚度、E/A、收缩压、舒张压、左心室收缩压、左心室舒张末压、心脏指数和左心室质量指数降低,左心室松弛时间常数缩短,左心室内压最大下降速率升高。HE染色和Masson染色显示,DHF组大鼠心肌组织间纤维组织和炎性细胞增多,心肌胶原面积与总面积的比值和壁内小动脉管腔周围胶原面积与管腔面积的比值在心肌组织中显著增加;辛伐他汀减轻DHF大鼠心肌组织间纤维化和炎性细胞浸润,降低心肌胶原面积与总面积的比值以及壁内小动脉管腔周围胶原面积与管腔面积的比值。**结论** 辛伐他汀改善DHF大鼠心脏功能,此作用可能与减轻心室纤维化有关。

[中图分类号] R363 [文献标识码] A

The Protective Effect of Simvastatin on Myocardial Fibrosis of Rats with Diastolic Heart Failure

TANG Hui-Fang^{1,2}, WU Shu-Lin², and DENG Chun-Yu²

(1. Department of Cardiovascular, The First Affiliated Hospital of University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China; 2. Department of Cardiology, Guangdong Provincial People's Hospital & Cardiovascular Institute of Guangdong Province, Guangzhou, Guangdong 510100, China)

[KEY WORDS] Simvastatin; Diastolic Heart Failure; Myocardial Cell; Myocardial Fibrosis

[ABSTRACT] **Aim** To study the effect of simvastatin on cardiac fibrosis of rats with diastolic heart failure (DHF). **Methods** 30 SD rats were randomly divided into three groups: control group, DHF group and simvastatin group. DHF model was produced by abdominal aortic coarctation in the rats. The rats in simvastatin group were given simvastatin 2 mg/(kg·d) by intragastric administration for 4 weeks, the others were treated with equal isotonic Na chloride. After 4 weeks, cardiac function and hemorheology were assessed by echocardiography and catheterization. HE and Masson stainings were applied to observe altered myocardial histopathology and myocardial fibrosis, respectively. **Results** In DHF group, IVS, LVPWT, LVMI, E/A ratio, SBP, DBP, LVSP, LVEDP, fiber tissue, ventricular perivascular collagen area (CA), inflammatory cell invasion and collagen volume fraction (CVF) were increased. Tau was prolonged and LV-dp/dt_{max} was decreased. While in simvastatin group E/A ratio, IVS, LVPWT, LVMI, SBP, DBP, LVSP, LVEDP, inflammatory cell invasion, fiber tissue, CA and CVF were significantly decreased, prolonged Tau was shortened, and LV-dp/dt_{max} was increased compared with DHF group. **Conclusion** Simvastatin improves cardiac diastolic function in rats with DHF by ameliorating myocardial fibrosis.

[收稿日期] 2012-03-30
[基金项目] 国家自然科学基金资助(30900625)
[作者简介] 唐惠芳,博士,副教授,研究方向为心力衰竭和心脏电生理,E-mail 为 tanghuifang999@163.com。吴书林,博士,教授,研究方向为心力衰竭和心脏电生理。邓春玉,博士,副研究员,研究方向为心力衰竭和心脏电生理。

充血性心力衰竭是临床上各种器质性心脏病导致心功能不全的一种综合征,包括舒收缩功能不全心力衰竭(systolic heart failure, SHF)和舒张功能不全心力衰竭(diastolic heart failure, DHF)两种类型。流行病学研究显示,DHF 患者占所有心衰患者的 50%,且年死亡率与 SHF 相近,可见 DHF 在临床上的重要地位^[1]。近年的研究认为,他汀类药物对 DHF 有保护作用,能有效改善左心室重构和保护心室舒张功能^[2-4]。本研究采用腹主动脉缩窄建立 DHF 大鼠模型,观察辛伐他汀对 DHF 大鼠心脏功能和心肌纤维化的影响,以期阐述辛伐他汀保护 DHF 大鼠心脏的机制。

1 材料和方法

1.1 DHF 模型的建立及实验分组

30 只雄性 SD 大鼠,4 周龄,体质量约 180 g,购自中山大学医学部实验动物部,随机分为三组:阴性对照组、DHF 组和辛伐他汀组。除阴性对照组大鼠外,参照 Kuwahara 等^[5]方法采用腹主动脉缩窄建立 DHF 模型,阴性对照组只开腹和分离肾上腹主动脉。术后连续 3 天腹腔注射青霉素预防感染。辛伐他汀组大鼠给予辛伐他汀 $2 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ ^[6];DHF 组和阴性对照组大鼠经灌胃给予等量的生理盐水,4 周后进行指标检测。辛伐他汀纯粉由杭州默沙东制药有限公司提供。

1.2 心脏超声心动图检测

采用意大利 ESAOTE 公司(TECHNOS MTX ULTRASOUND system)超声机进行检测,超声探头频率为 8.5 MHz。术后 4 周用氯胺酮 $80 \text{ mL}/\text{kg}$ 和地西泮 $3 \text{ mL}/\text{kg}$ 腹腔麻醉后,超声心动图检测 E/A 比值、左心室舒张期末内径(left ventricular end-diastolic dimension, LVEDD)、左心室收缩期末内径(left ventricular end-systolic dimension, LVESD)、室间隔(interventricular septum, IVS)和左心室后壁厚度(left ventricular posterior wall thickness, LVPWT)、左心室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)、左心室质量(left ventricular mass, LVM),计算左心室质量指数(left ventricular mass index, LVMI)。

1.3 血流动力学指标检测

采用 BL-420 生物机能实验系统测定(四川泰盟科技有限公司)。仰卧固定大鼠四肢,分离右颈总动脉 1.5 cm,远心端用线结扎,经颈动脉插入已准备好的充满生理盐水和肝素($250 \mu\text{g}/\text{L}$)的左心室导管并通过压力感受器与软件相连,稳定 5 min

后,将导管插入左心室腔,测左心室收缩压(left ventricular systolic pressure, LVSP)、左心室舒张期末压(left ventricular end-diastolic pressure, LVEDP)、平均左室内压最大上升和下降速率($\pm \text{dp}/\text{dt}_{\text{max}}$),同步记录心率。以 Weiss 公式计算左心室松弛时间常数(Tau)。

1.4 心脏病理结构观测

取心室横断面心肌组织常规固定、包埋、切片,分别行 HE 染色和 Masson 染色。在 HE 染色下,观察心肌组织病理结构的变化。Masson 染色后,心肌细胞呈红色,胶原呈蓝色;应用全自动图像分析系统测量胶原容积分数(collagen volume fraction, CVF)和心室血管周围胶原面积(collagen area, CA)。CVF 为胶原面积与心肌总面积的比值,其中胶原面积不包括血管周围胶原面积,每个标本随机取 5 个视野,取平均值;CA 选取呈横断面的壁内小动脉管腔周围胶原面积与管腔面积的比值,每一标本随机测量 5 支血管,取平均值。

1.5 统计学方法

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS10.0 软件进行单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 辛伐他汀对心功能的影响

心脏超声心动图检测显示,与阴性对照组大鼠比较,DHF 组大鼠 LVPWT 和 IVS 明显增厚,LVMI 增加,E/A 比值明显增高($P < 0.05$),LVEDD、LVESD 和 LVEF 无明显改变($P > 0.05$),提示 DHF 组大鼠左心室壁增厚,舒张功能受损但收缩功能正常。与 DHF 组比较,辛伐他汀减轻左心室壁厚度,改善大鼠舒张功能($P < 0.05$;表 1)。血流动力学检测显示,与阴性对照组比较,DHF 组大鼠收缩压、舒张压、LVSP 和 LVEDP 升高, Tau 延长, $\text{LV} - \text{dp}/\text{dt}_{\text{max}}$ 下降($P < 0.05$),心率和 $\text{LV} + \text{dp}/\text{dt}_{\text{max}}$ 无明显改变($P > 0.05$),提示 DHF 组大鼠血压上升,左心室舒张时间延长、舒张速度下降从而导致舒张末压上升。与 DHF 组比较,辛伐他汀降低升高的收缩压、舒张压、LVSP 和 LVEDP,缩短 Tau ,升高 $\text{LV} - \text{dp}/\text{dt}_{\text{max}}$,改善大鼠舒张功能($P < 0.05$;表 2)。

2.2 辛伐他汀对 DHF 大鼠心肌纤维化的影响

HE 染色显示,阴性对照组左心室心肌纤维排列紧密,组织间有少量纤维组织,未见炎性细胞浸润(图 1A);与阴性对照组比较,DHF 组大鼠心肌组织间纤维组织和炎性细胞增多(图 1B);与 DHF 组比较,辛

伐他汀减轻 DHF 大鼠心肌组织间纤维化和炎性细胞浸润(图 1C)。Masson 染色显示,与阴性对照组比较,DHF 组大鼠反应心肌组织间纤维化的指标 CVF 明显增加($P<0.05$),反应心肌小血管周围纤维化的指标 CA 在心肌组织中显著增加($P<0.05$);与 DHF 组比较,辛伐他汀明显降低心肌组织 CVF($P<0.05$)和 CA($P<0.05$;图 2 和 3 和表 3)。

表 1. 辛伐他汀对 DHF 大鼠心功能的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 1. Effect of simvastatin on cardiac function of DHF rats

项 目	阴性对照组	DHF 组	辛伐他汀组
IVS(mm)	1.28 ± 0.14	1.98 ± 0.16 ^a	1.75 ± 0.17 ^{ab}
LVPWT(mm)	1.79 ± 0.12	2.55 ± 0.21 ^a	2.33 ± 0.25 ^{ab}
LVESD(mm)	1.91 ± 0.24	1.93 ± 0.11	1.85 ± 0.09
LVEDD(mm)	4.83 ± 0.38	4.88 ± 0.16	4.86 ± 0.21
LVEF	0.78 ± 0.06	0.79 ± 0.06	0.82 ± 0.11
LVMI	0.035 ± 0.002	0.069 ± 0.008 ^a	0.054 ± 0.004 ^{ab}
E/A 比值	1.44 ± 0.08	2.58 ± 0.16 ^a	2.03 ± 0.10 ^{ab}

a 为 $P<0.05$,与阴性对照组比较;b 为 $P<0.05$,与 DHF 组比较。

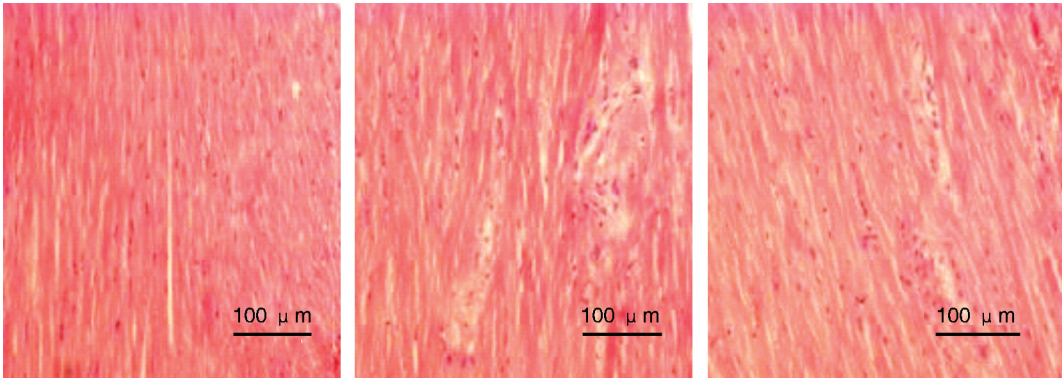


图 1. HE 染色观察辛伐他汀对 DHF 大鼠心室病理改变的影响 A 为阴性对照组,B 为 DHF 组,C 为辛伐他汀组。
Figure 1. Effect of simvastatin on ventricular pathological changes in DHF rats by HE staining

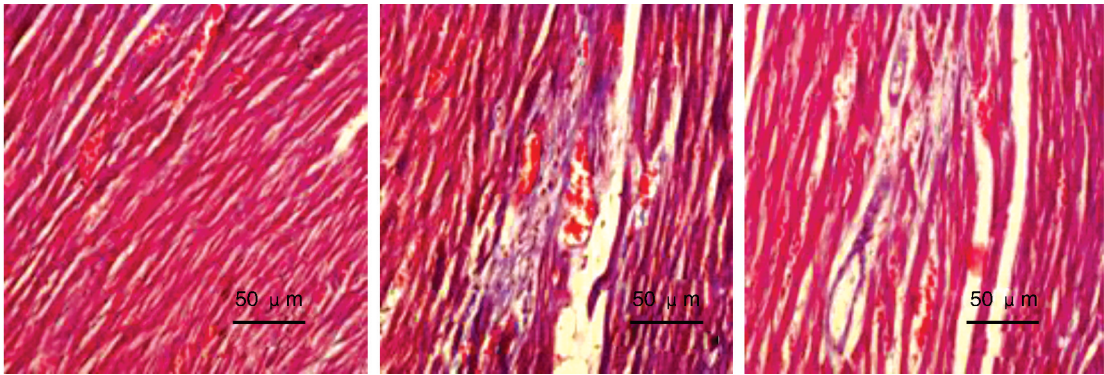


图 2. Masson 染色观察辛伐他汀对 DHF 大鼠心室肌组织 CVF 的影响 A 为阴性对照组,B 为 DHF 组,C 为辛伐他汀组。
Figure 2. Effect of simvastatin on ventricular CVF in DHF rats by Masson staining

表 2. 辛伐他汀对 DHF 大鼠血流动力学的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 2. Effect of simvastatin on hemorheology of DHF rats

项 目	阴性对照组	DHF 组	辛伐他汀组
心率(次/分)	355 ± 47	365 ± 30	358 ± 25
SBP(mmHg)	120 ± 12	187 ± 25 ^a	162 ± 21 ^{ab}
DBP(mmHg)	98 ± 15	157 ± 29 ^a	137 ± 18 ^{ab}
LVSP(mmHg)	123 ± 9	198 ± 27 ^a	176 ± 18 ^{ab}
LVEDP(mmHg)	10.7 ± 1.5	36.2 ± 3.3 ^a	26.9 ± 2.3 ^{ab}
LV + dp/dt _{max} (mmHg/s)	4205 ± 428	4178 ± 437	4243 ± 287
LV - dp/dt _{max} (mmHg/s)	4894 ± 311	1991 ± 220 ^a	2758 ± 325 ^{ab}
Tau(ms)	5.75 ± 0.24	18.20 ± 1.21 ^a	13.95 ± 1.98 ^{ab}

a 为 $P<0.05$,与阴性对照组比较;b 为 $P<0.05$,与 DHF 组比较。

表 3. 辛伐他汀对 DHF 大鼠心肌组织 CVF 和 CA 的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 3. Effect of simvastatin on cardiac CVF and CA in DHF rats

指 标	阴性对照组	DHF 组	辛伐他汀组
CVF	2.48% ± 0.18%	4.26% ± 0.27% ^a	3.54% ± 0.09% ^{ab}
CA	1.65% ± 0.04%	2.75% ± 0.27% ^a	2.19% ± 0.12% ^{ab}

a 为 $P<0.05$,与阴性对照组比较;b 为 $P<0.05$,与 DHF 组比较。

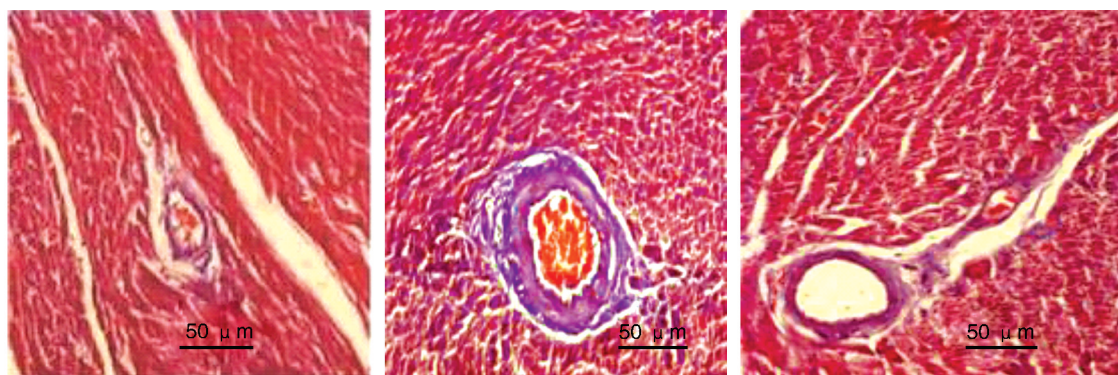


图 3. Masson 染色观察辛伐他汀对 DHF 大鼠心室肌组织 CA 的影响 A 为阴性对照组, B 为 DHF 组, C 为辛伐他汀组。

Figure 3. Effect of Simvastatin on ventricular CA in DHF rats by Masson staining

3 讨论

他汀是一类能有效降低患者血浆胆固醇和低密度脂蛋白的药物。近年来的研究显示,除调脂作用外,他汀类药物对 DHF 患者有明显的保护作用。Tehrani 等^[2]对 270 名 DHF 患者进行了长达 5 年的观察,结果显示,与未服用他汀类药物组比较,他汀类药物能明显增加 DHF 患者的生存率。Fukuta 等^[3]通过对 137 例 DHF 患者 21 ± 12 个月的观察发现,与对照组比较,他汀组患者的死亡率明显下降,生存率明显提高。Roik 等^[4]对 146 例 DHF 患者 1 年的研究同样证实,他汀能明显降低 DHF 患者的死亡率、再住院率、心血管因素再住院率和 1 年死亡率。本研究中,辛伐他汀减轻 DHF 大鼠左室壁厚度,降低 LVSP 和 LVEDP,缩短 Tau,升高 LV-dp/dt_{max},对 DHF 大鼠舒张功能有明显的保护作用。

目前研究认为, DHF 的发生与心肌纤维化有关^[7,8]。高血压作为 DHF 的重要病因,可以刺激成纤维细胞和心肌细胞分泌血管紧张素 II、TGF- β 1、内皮素 1 和 TNF- α 等细胞因子,引起心肌纤维化的发生,最终导致心脏硬化,影响舒张功能^[9]。本研究采用腹主动脉缩窄导致大鼠高血压,建立 DHF 大鼠模型,病理结果显示 DHF 大鼠 LVPWI、IVS、LVMI 增加,心室组织间纤维组织和炎性细胞增多, CVF 和 CA 在心肌组织中显著增加,证实心肌组织纤维化在大鼠舒张功能不全心衰发生中有着十分重要的促进作用。另外,本研究显示,辛伐他汀组处理 4 周后 DHF 大鼠心肌组织间纤维化和炎性细胞浸润明显降低,心室 CVF 和 CA 明显下降,表明辛伐他汀对 DHF 心脏功能的保护作用可能与改善心脏纤维化有关。这一结果与文献[10-14]研究结果一致。

Sung-A 等^[10]研究显示,瑞舒伐他汀能有效改善盐敏感性高血压大鼠心肌纤维化;Saka 等^[11]观察到匹伐他汀能抑制高血压大鼠心肌纤维化、改善心脏功能和提高大鼠生存率;高春恒等^[12]研究发现辛伐他汀能有效降低自发性高血压大鼠心肌间质胶原含量,改善心肌纤维化;白江涛等^[13]的实验证实阿托伐他汀对心肌肥厚大鼠细胞外基质重塑有抑制作用。以上结果证实多种他汀对于心肌纤维化有抑制作用,提示他汀减轻 DHF 心肌纤维化不仅仅是一个药物的作用,而是他汀类药物的特点。

他汀对 DHF 心脏的保护与他汀开始使用的时间有关。研究在建立 DHF 大鼠模型早期即使用辛伐他汀,结果证实他汀不仅能改善心肌纤维化,降低血压,同时能降低 LVPWI、IVS、LVMI、LVSP 和 LVEDP。Sung-A 等^[10]在建立左心室肥厚大鼠模型后使用瑞舒伐他汀,结果显示瑞舒伐他汀不降低大鼠血压、不改善左心室肥厚和左心室充盈压,仅降低心肌纤维化和改善左心室硬化。辛伐他汀降低 DHF 大鼠血压这一结果与文献[14-16]研究结果一致,具体机制不明,但是,对于高血压患者,早期使用他汀可能更有益于改善 DHF 患者的预后。

[参考文献]

- [1] Owan TE, Hodge DO, Herges RM, et al. Trends in prevalence and outcome of heart failure with preserved ejection fraction[J]. N Engl J Med, 2006, 355 (3): 251-259.
- [2] Tehrani F, Morrissey R, Phan A, et al. Statin therapy in patients with diastolic heart failure [J]. Clin Cardiol, 2010, 33 (4): E1-E5.
- [3] Fukuta H, Sane DC, Brucks S, et al. Statin therapy may be associated with lower mortality in patients with diastolic heart failure: a preliminary report[J]. Circulation, 2005, 112 (3): 357-363.

- [4] Roik M, Scisło P, Kochanowski J, et al. Tako-tsubo-like transient left ventricular dysfunction-a new cause of diastolic heart failure[J]. *Int J Cardiol*, 2008, 127 (2): e102-e104.
- [5] Kuwahara F, Kai H, Tokuda K, et al. Transforming growth factor-beta function blocking prevents myocardial fibrosis and diastolic dysfunction in pressure-overloaded rats[J]. *Circulation*, 2002, 106 (1): 130-135.
- [6] Bayorh MA, Ganafa AA, Eatman D, et al. Simvastatin and losartan enhance nitric oxide and reduce oxidative stress in salt-induced hypertension[J]. *Am J Hypertens*, 2005, 18 (11): 1 496-502.
- [7] Reed AL, Tanaka A, Sorescu D, et al. Diastolic dysfunction is associated with cardiac fibrosis in the senescence-accelerated mouse[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2011, 301 (3): H 824-831.
- [8] Karaahmet T, Tigen K, Dundar C, et al. The effect of cardiac fibrosis on left ventricular remodeling, diastolic function, and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide levels in patients with nonischemic dilated cardiomyopathy[J]. *Echocardiography*, 2010, 27 (8): 954-960.
- [9] Berk BC, Fujiwara K, Lehoux S. ECM remodeling in hypertensive heart disease[J]. *J Clin Invest*, 2007, 117 (3): 568-575.
- [10] Sung-A Chang, Yong-Jin Kim, Hye-Won Lee, et al. Effect of rosuvastatin on cardiac remodeling, function, and progression to heart failure in hypertensive heart with established left ventricular hypertrophy[J]. *Hypertension*, 2009, 54 (3): 591-597.
- [11] Saka M, Obata K, Ichihara S, et al. Attenuation of ventricular hypertrophy and fibrosis in rats by pitavastatin: potential role of the RhoA-extracellular signal-regulated kinase-serum response factor signalling pathway[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2006, 33 (12): 1 164-171.
- [12] 高春恒, 张平洋, 朱向明, 等. 辛伐他汀对 SHR 心肌组织 SOD、MDA、NOS、NO 及心肌间质胶原含量的影响[J]. *中华高血压杂志*, 2004, 12 (6): 537-541.
- [13] 白江涛, 陆凤翔, 徐迪, 等. 阿托伐他汀对心肌肥厚大鼠细胞外基质重塑的抑制作用[J]. *中华高血压杂志*, 2004, 12 (5): 447-451.
- [14] Kuklinska AM, Mroczko B, Musial WJ, et al. Influence of atorvastatin on blood pressure control in treated hypertensive, normolipemic patients-An open, pilot study[J]. *Blood Press*, 2010, 19 (4): 260-266.
- [15] Prandin MG, Cicero AF, Dormi A, et al. Prospective evaluation of the effect of statins on blood pressure control in hypertensive patients in clinical practice[J]. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2010, 20 (7): 512-518.
- [16] 汪念东, 杜礼兵, 王安才, 等. 阿托伐他汀逆转腹主动脉缩窄型高血压大鼠心肌重构的机制[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2010, 18 (3): 208-212.

(此文编辑 文玉珊)