

氟伐他汀对心肌梗死大鼠心室重构及 MMP-9、MMP-10 表达的影响

王士凯¹, 褚亚丽¹, 徐娟娟¹, 梁江久²

(1. 宁阳县第一人民医院, 山东省泰安市 271400; 2. 山东大学附属千佛山医院保健科, 山东省济南市 250014)

[关键词] 心肌梗死; 心室重构; 氟伐他汀; 基质金属蛋白酶 9; 基质金属蛋白酶 10

[摘要] **目的** 研究氟伐他汀对心肌梗死(AMI)大鼠基质金属蛋白酶(MMP-9、MMP-10)表达的影响,以探讨他汀类药物改善急性心肌梗死后心室重构的机制。**方法** Wistar 雄性大鼠随机分为假手术组、心肌梗死组、氟伐他汀组各 12 只,后两组均建立左冠状动脉前降支心肌梗死模型,氟伐他汀组于制模成功后予氟伐他汀灌胃 6 周,测左心室血流动力学参数、左心室重构指数及 MMP-9、MMP-10 表达的变化。**结果** 与假手术组比较,心肌梗死组和氟伐他汀组大鼠左心室收缩压、左心室压最大上升速率及左心室压最大下降速率均明显下降($P < 0.05$),且心肌梗死组较氟伐他汀组下降更明显($P < 0.05$)。与假手术组比较,心肌梗死组和氟伐他汀组左心室舒张期末内径(LVEDD)和左心室收缩期末内径(LVESD)均显著增加,左心室射血分数(LVEF)均显著降低($P < 0.05$),心脏组织 MMP-9、MMP-10 表达明显增强($P < 0.01$);与心肌梗死组相比,氟伐他汀组 LVEDD、左心室质量指数(LVMI)均降低,心脏组织 MMP-9、MMP-10 表达明显降低($P < 0.01$),LVEF 显著增加($P < 0.05$)。**结论** 氟伐他汀能逆转心室重构,其作用机制可能与抑制 MMP-9、MMP-10 的表达有关。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Effect of Fluvastatin on Ventricular Remodeling and Expression of MMP-9 and MMP-10 in Acute Myocardial Infarction Rats

WANG Shi-Kai¹, CHU Ya-Li¹, XU Juan-Juan¹, and LIANG Jiang-Jiu²

(1. Ningyang First People's Hospital, Taian, Shandong 271400, China; 2. Department of Health, Qianfoshan Hospital Affiliated to Shandong University, Jinan, Shandong 250014, China)

[KEY WORDS] Acute Myocardial Infarction; Ventricular Remodeling; Fluvastatin; Matrix Metalloproteinase-9; Matrix Metalloproteinase-10

[ABSTRACT] **Aim** To study the effect of fluvastatin on cardiac remodeling and cardiac function, and to investigate the effect of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and MMP-10. **Methods** 36 Wistar rats were randomly divided into acute myocardial infarction (AMI) group, AMI + fluvastatin group and the sham-operated group. AMI was established by ligation of the anterior descending coronary artery in rats, fluvastatin was fed to AMI + fluvastatin group by 20 mg/(kg · d) for 6 weeks. After 6 weeks treatment, then the hemodynamic parameters and mass index of left ventricular and the expression of MMP-9 and MMP-10 were detected. **Results** Compared with the sham-operated group, left ventricular systolic pressure(LVSP) and the maximal rate of rise and fall ($\pm dp/dt_{max}$) of left ventricular pressure in the AMI group and AMI + fluvastatin group were all decreased($P < 0.05$), moreover, these indexes decreased significantly in AMI group than those in AMI + fluvastatin group($P < 0.05$). Compared with the sham-operated group, left ventricular end-diastolic diameter (LVEDD), left ventricular end systolic diameter (LVESD), left ventricular mass index (LVMI), MMP-9, MMP-10 were significantly increased in the AMI group and AMI + fluvastatin group; moreover, these indexes decreased in AMI + fluvastatin group than those in AMI group($P < 0.05$). **Conclusion** Fluvastatin could prevent the cardiac remodeling, the mechanisms may be by reducing the levels of MMP-9 and MMP-10.

[收稿日期] 2013-09-13

[基金项目] 山东省自然科学基金(ZR2010HM116)

[作者简介] 王士凯, 硕士研究生, 主要研究方向为心血管疾病的诊断和治疗, E-mail 为 shikaiwang@sina.com。通讯作者梁江久, 博士研究生导师, 主要从事冠心病、心律失常的临床及基础研究, E-mail 为 liangjiangjiu@163.com。

临床及基础资料证实,他汀类药物可改善心室重构降低心肌梗死风险^[1],而且发现他汀类药物具有调节细胞增殖和凋亡以及心肌保护等调脂外作用^[2]。急性心肌梗死后心室重构(ventricular remodeling, VR)是发生慢性心功能不全的主要病理基础,预防心肌梗死后心室重构是改善心功能的重要措施。近来研究^[3]发现,常规剂量他汀类药物能够有效抑制心室重构,但机制尚未完全明确。本实验用常规剂量氟伐他汀喂饲心肌梗死大鼠,观察急性心肌梗死后 MMP-9、MMP-10 水平及对心室重构的影响,探讨氟伐他汀对急性心肌梗死后心功能的保护机制,为临床应用提供新的实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康成年雄性 Wistar 大鼠 36 只,体重 250 ± 20 g,购自山东中医药大学实验动物中心。

1.2 实验试剂及仪器

HX-300 动物呼吸机;多道生理信号采集处理系统;MoticMed6.0 数码医学图像分析系统,氟伐他汀,ELISA 试剂盒,RT-PCR 试剂盒,心脏彩超仪,凝胶扫描成像系统。

1.3 实验分组及模型制备

实验动物随机分为假手术组($n=12$)、心肌梗死组($n=12$)和氟伐他汀组($n=12$)。大鼠急性心肌梗死模型建立方法:用 10% 水合氯醛(0.3 mL/kg)麻醉动物后,气管插管连接小动物呼吸机,逐层打开胸腔、心包,暴露心脏,5-0 丝线结扎冠状动脉左前降支近端,结扎后局部心室前壁变白,心电图肢体导联 ST 段明显抬高,假手术组只穿线不结扎。术后氟伐他汀组予氟伐他汀[20 mg/(kg·d)]灌胃,心肌梗死组和假手术组予等体积生理盐水灌胃,各组均灌胃 6 周。

1.4 血流动力学参数测定

10% 水合氯醛(0.3 mL/kg)腹腔麻醉大鼠,分离结扎游离颈总动脉远端,近端用动脉夹夹闭,靠近心端结扎线处用眼科剪剪一“V”形小口,向心插入与压力换能器连接并充满肝素盐水的 PE-50 管约 2.5 cm。经多导生理记录仪测量左心室舒张期末压(left ventricular end-diastolic pressure, LVEDP)、左心室收缩压(left ventricular systolic pressure, LVSP)、左心室压最大上升速率($+dp/dt_{max}$)及左心室压最大下降速率($-dp/dt_{max}$)。

1.5 左心室质量指数的测定

6 周后称量大鼠体重,处死取出心脏,冰生理盐

水洗净,吸干后沿房室环剪去心房及右心室,称取左心室(包括室间隔)质量,计算左心室质量指数(left ventricular mass index, LVMI):左心室质量/体重(mg/g)。

1.6 心脏超声心动图检测

灌胃结束后,10% 水合氯醛腹腔注射麻醉(0.3 mL/kg),小动物高频超声探头(12 MHz)行心脏形态和功能检测。在 3 个连续的心动周期中测量取平均值,计算左心室舒张期末内径(left ventricular end-diastolic diameter, LVEDD)、左心室收缩期末内径(left ventricular end systolic diameter, LVESD)、左心室后壁厚度、室间隔厚度(IVS)及左心室射血分数(LVEF)。

1.7 血浆 MMP-9、MMP-10 的检测

麻醉动物后,于大鼠颈静脉窦取血 1 mL,以 1000 r/min 低温离心机离心 10 min,分离血清并置于 -80°C 冰箱中保存。采用 ELISA 试剂盒严格按照说明检测。

1.8 RT-PCR 检测心脏组织 MMP-9、MMP-10 mRNA 表达

无菌条件下取大鼠心脏组织 100 mg 抽提总 RNA。MMP-9 引物序列为上游 5'-CACCGCCAAC-TATGACCAGGA-3',下游 5'-AAGACGAAGGG-GAAGACGCAC-3'; β -actin 内参引物序列为上游 5'-AGCAGAGAATGGAAAGTCAAA-3',下游 5'-ATGCT-GCTTACATGTCTCGAT-3';MMP-10 引物序列为上游 5'-TTCCTTCAGGCTTAGATGCTGCCT-3',下游 5'-TC-CTCTTTGGGTAACCTGCTTGGA-3'。PCR 反应条件为 94°C 5 min,然后 94°C 45 s, 57°C 45 s, 72°C 45 s,循环 34 次,再 72°C 5 min。PCR 产物 $1 \times \text{TAE}$ 缓冲液中电泳,凝胶扫描成像系统进行成像处理。

1.9 统计学方法

采用 SPSS13.0 软件包进行统计学处理,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用 t 检验,多组比较用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 氟伐他汀对血流动力学的影响

与假手术组比较,心肌梗死组和氟伐他汀组大鼠 LVSP、 $+dp/dt_{max}$ 及 $-dp/dt_{max}$ 均显著下降($P < 0.05$),但氟伐他汀组显著高于心肌梗死组($P < 0.05$)。心肌梗死组和氟伐他汀组 LVEDP 显著高于假手术组($P < 0.05$),但氟伐他汀组显著低于心肌梗死组($P < 0.05$;表 1)。

表 1. 各组大鼠血流动力学参数比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1. Comparison of the hemodynamic parameters in different groups($\bar{x} \pm s$)

分 组	n	LVSP(mmHg)	LVEDP(mmHg)	+ dp/dt _{max} (mmHg/s)	- dp/dt _{max} (mmHg/s)
假手术组	12	158 ± 10.06	20 ± 1.08	6212 ± 232	5503 ± 165
心肌梗死组	7	107 ± 9.82 ^a	39 ± 1.21 ^a	4225 ± 245 ^a	3512 ± 155 ^a
氟伐他汀组	10	124 ± 8.71 ^{ab}	28 ± 1.35 ^{ab}	5206 ± 216 ^{ab}	4332 ± 178 ^{ab}
F 值		14.35	8.71	17.83	14.58

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

2.2 氟伐他汀对心室质量指数的影响

($P < 0.01$); 与心肌梗死组相比, 氟伐他汀组组 LVMI 显著降低($P < 0.05$; 表 2)。

与假手术组相比, 心肌梗死组 LVMI 显著增加

表 2. 各组大鼠心室质量及指数检测结果($\bar{x} \pm s$)

Table 2. Results of ventricular weight and index in different groups($\bar{x} \pm s$)

分 组	n	体重(g)	左心室质量(mg)	LVMI(mg/g)
假手术组	12	344.00 ± 16.01	735.33 ± 4.51	2.14 ± 0.15
心肌梗死组	7	243.70 ± 17.46 ^a	824.33 ± 2.08 ^a	3.38 ± 0.04 ^a
氟伐他汀组	10	288.00 ± 14.90 ^{ab}	794.00 ± 3.61 ^{ab}	2.78 ± 0.10 ^{ab}
F 值		9.41	6.51	6.05

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

2.3 氟伐他汀对心功能的影响

<0.05); 而氟伐他汀组 IVS、LVEDD 较心肌梗死组均显著降低($P < 0.05$), LVEF 较心肌梗死组显著增加($P < 0.05$; 表 3)。

与假手术组相比, 心肌梗死组 IVS、LVEDD 和 LVESD 均显著增加($P < 0.05$), LVEF 显著降低(P

表 3. 各组大鼠心脏彩超结果($\bar{x} \pm s$)

Table 3. Results of echocardiographic measurements in different groups($\bar{x} \pm s$)

分 组	n	LVEDD(mm)	LVESD(mm)	LVEF	IVS(mm)
假手术组	12	5.80 ± 0.69	2.75 ± 0.28	80.50% ± 5.11%	1.17 ± 0.12
心肌梗死组	7	8.05 ± 0.29 ^a	4.63 ± 0.31 ^a	55.21% ± 8.73% ^a	1.97 ± 0.08 ^a
氟伐他汀组	10	7.14 ± 0.14 ^{ab}	4.11 ± 0.61 ^a	64.08% ± 2.04% ^{ab}	1.47 ± 0.14 ^{ab}
F 值		9.01	5.73	12.75	5.07

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

2.4 MMP-9 和 MMP-10 mRNA 表达水平

0.01), 而氟伐他汀组 MMP-9 和 MMP-10 的 mRNA 表达水平低于心肌梗死组($P < 0.01$; 图 1)。

心肌梗死组、氟伐他汀组大鼠心脏组织 MMP-9 和 MMP-10 的 mRNA 表达水平高于假手术组($P <$

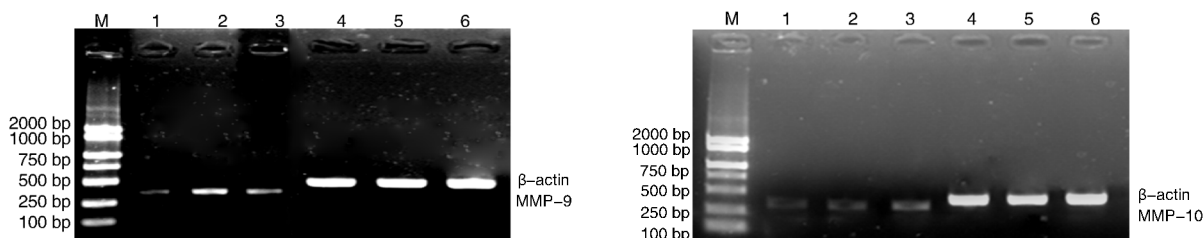


图 1. 大鼠心脏组织 MMP-9 和 MMP-10 的 mRNA 表达 1,4 为假手术组,2,5 为心肌梗死组,3,6 为氟伐他汀组。

Figure 1. Expression of MMP-9 and MMP-10 mRNA in cardiac tissue of different groups

2.5 血浆 MMP-9 和 MMP-10 的含量

与假手术组相比,心肌梗死组 MMP-9 和 MMP-10 含量显著增加($P < 0.01$),而氟伐他汀组 MMP-9 和 MMP-10 含量较心肌梗死组显著降低($P < 0.01$; 表 4)。相关分析表明 MMP-9 与 MMP-10 呈正相关($r = 0.72, P < 0.01$)。

表 4. 各组大鼠血浆 MMP-9 和 MMP-10 含量比较($\bar{x} \pm s$)
Table 4. Comparison of the serum levels of MMP-9 and MMP-10 in different groups($\bar{x} \pm s$)

分 组	n	MMP-9($\mu\text{g/L}$)	MMP-10($\mu\text{g/L}$)
假手术组	12	10.03 \pm 2.03	2.74 \pm 0.35
心肌梗死组	7	105.77 \pm 6.46 ^a	29.85 \pm 2.32 ^a
氟伐他汀组	10	53.70 \pm 3.54 ^{ab}	12.66 \pm 1.02 ^{ab}
F 值		46.22	33.36

a 为 $P < 0.01$, 与假手术组比较; b 为 $P < 0.01$, 与心肌梗死组比较。

3 讨 论

Wei 等研究显示,终末期心力衰竭患者伴有 MMP-10 和 MMP-7 的水平大量增加。该研究提示 MMP/TIMP 比例的失衡在心室重构过程中起着重要的作用。MMP-9 属于 MMP 中的明胶酶,主要作用是降解型胶原及副纤维蛋白、弹性蛋白等降解细胞外基质(ECM),解离整联蛋白,产生修复性的纤维化。

动物实验表明,MMP 在心肌梗死早期即开始激活,且在心肌梗死后心室重构期间 MMP-9 活性和表达均显著增高,从而降解细胞外基质,解离整联蛋白,产生修复性的纤维化^[4]。Kitaoka 等^[5]研究证实,MMP-2 和 MMP-9 与心肌重塑关系密切。本研究发现,心肌梗死后 MMP-9 表达明显增加,LVSP、+dp/dt_{max} 及 -dp/dt_{max} 均显著下降,LVEDP 显著升高,进一步证实了 MMP-9、MMP-10 参与梗死后心室重构的病理过程。

MMP-10 可能成为在心室重构研究领域除 MMP-2、MMP-9 以外的一个新的热点研究因子。MMP-10 与心力衰竭心室重构的关系目前国内外尚无报告。其过度表达可对心血管系统产生不利的影 响:可降解血管基质而引起血管重构并破坏血管的完整性^[6];可引起血管基质的破坏性重构而导致动脉瘤的发生。本研究发现,在心力衰竭心肌中 MMP-10 高度表达,提示 MMP-10 与心力衰竭后心室重构的发生和发展可能存在密切的关系。

罗森华等^[7]研究发现阿托伐他汀能够抑制急性心肌梗死后左心室重构改善心脏收缩和舒张功能,且增加剂量能够进一步增强其效用。康海等^[8]

研究发现,阿托伐他汀能够抑制急性心肌梗死后的左心室重构,改善心脏收缩和舒张功能。陈春红等研究发现,阿托伐他汀可以延缓动脉粥样硬化的进程,防止心室重构,改善患者心功能和远期预后。其作用机制可能有点: (1) 具有很强的抗炎作用,而心衰与很多炎症细胞因子有密切关系,如肿瘤坏死因子,白细胞介素 6。(2) 抑制肾素血管紧张素系统活性,减少血管紧张素的生成。(3) 抑制胞外信号调节激酶的磷酸化。(4) 改善内皮功能、抗氧化、抗炎以及减少血小板的激活与聚集,进一步稳定斑块、减少远段血栓栓塞以及微血管痉挛,从而改善冠状动脉血流和心肌灌注^[9]。

本研究发现,氟伐他汀使心肌梗死 6 周后大鼠 LVEDP 降低, LVSP 及 $\pm dp/dt_{max}$ 明显增加,心肌肥大和心肌纤维化减轻,进一步证实了氟伐他汀在心肌梗死后心室重构过程中和心功能改善中的作用,且氟伐他汀可明显减少 MMP-9 和 MMP-10 的表达水平,表明它逆转心室重构的机制可能与抑制心肌细胞 MMP-9 和 MMP-10 因子的表达有关。

[参考文献]

- [1] Bas JMP, Helmi P, Olaf HK, et al. Genetic variability within the cholesterol lowering pathway and the effectiveness of statins in reducing the risk of MI[J]. *Atherosclerosis*, 2011, 217: 458-467.
- [2] Tanaka S, Fukumoto Y, Nochioka K, et al. Statins exert the pleiotropic effects through small GTP-binding protein dissociation stimulator upregulation with a resultant Rac1 degradation[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2013, 33: 1 591-600.
- [3] 林泽鹏,舒平春,廖志坚,等. 瑞舒伐他汀对急性 ST 段抬高型心肌梗死患者经皮冠状动脉介入治疗后存活心功能及动脉粥样硬化的影响[J]. *南方医科大学学报*, 2011, 31(10): 1 789.
- [4] 王琦,柳兢,妖凤臣. 替米沙坦对心肌梗死大鼠心肌重构基质金属蛋白酶表达水平的影响[J]. *山西医药杂志*, 2007, 5(36): 406-409.
- [5] Kitaoka H, Kubo T, Okawa M, et al. Plasma metalloproteinase levels and left ventricular remodeling in hypertrophic cardiomyopathy in patients with an identical mutation[J]. *J Cardiol*, 2011, 58(3): 261-265.
- [6] Hudson MP, Armstrong PW, Ruzyllo W, et al. Effects of selective matrix metalloproteinase inhibitor (PG-116800) to prevent ventricular remodeling after myocardial infarction: results of the PREMIER (prevention of myocardial infarction early remodeling) trial[J]. *J Am Coll Cardio*, 2006, 48(1): 15-20.
- [7] 罗森华,丘睿业,黄伟胜. 阿托伐他汀防治急性心肌梗死后左心室重构的作用观察[J]. *广东医学院学报*, 2012, 30: 169-170.
- [8] 康海,杨军,方毅民,等. 大剂量阿托伐他汀对急性心肌梗死患者心室重构的远期影响[J]. *中国急救医学*, 2008, 28(2): 131-134.
- [9] 郑博,王新刚,龚艳君,等. 直接经皮冠状动脉介入治疗术前负荷剂量阿托伐他汀治疗对急性心肌梗死患者近期预后的影响[J]. *中国介入心脏病学杂志*, 2013, 21: 41-45.

(此文编辑 许雪梅)