

· 老年人心肾疾病专栏 ·

他汀类药物对异丙基肾上腺素致心功能不全大鼠的心肾保护作用

赵 华, 周必业, 叶 平

(解放军总医院南楼心血管二科, 北京 100853)

【摘要】目的 研究他汀类药物对心、肾损害的防治作用, 同时探讨心、肾交互影响的病理机制。方法 24只 Wistar 大鼠分为3组: 空白对照组($n=4$), 他汀组($n=10$), 异丙肾组($n=10$)。空白对照组生理盐水 2ml/d 灌胃; 他汀组瑞舒伐他汀 4mg/(kg·d) 灌胃; 异丙肾组生理盐水 2ml/d 灌胃; 两周时, 空白对照组腹腔注射生理盐水 2ml, 他汀组与异丙肾组给予异丙肾(85mg/kg)腹腔注射 2d。15周后用心脏超声评价大鼠心脏功能, 测定肾素-血管紧张素-醛固酮系统、抗氧化系统、炎症因子部分相关生化指标, 心、肾组织行病理切片检查脏器损害情况。结果 他汀组大鼠的心功能明显优于异丙肾组[左室射血分数: (73.18 ± 7.89)% vs (58.58 ± 6.41)%, $P < 0.05$]; 他汀组的血管紧张素水平显著低于异丙肾组[(928.50 ± 536.87) vs (1886.80 ± 718.89) pg/ml, $P < 0.05$]; 他汀组的丙二醛[(10.10 ± 0.74) vs (12.36 ± 2.11) nmol/ml, $P=0.073$]及白介素-6[(44.46 ± 24.57) vs (76.31 ± 20.79) ng/ml, $P=0.058$]水平与异丙肾组相比下降, 但两组间的差异没有统计学意义; 他汀组大鼠的心脏、肾脏病理异常改变明显轻于异丙肾组。结论 在异丙基肾上腺素致心功能不全大鼠模型中, 瑞舒伐他汀可以改善心脏功能, 减轻心脏和肾脏的结构改变。可能通过抑制 RAAS 系统激活、活性氧损伤和抗炎症的机制削弱心肾之间的不良交互作用。

【关键词】 瑞舒伐他汀; 心功能不全; 异丙基肾上腺素; 大鼠; 心肾保护

【中图分类号】 R592

【文献标识码】 A

【DOI】 10.3724/SP.J.1264.2012.00007

Cardiorenal protective effects of statins on isoproterenol-induced cardiac insufficiency in rat models

ZHAO Hua, ZHOU Biye, YE Ping

(Department of Geriatric Cardiology, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China)

【Abstract】 Objective To investigate the cardiorenal protective effects of statins, and the pathophysiologic mechanism between cardiac insufficiency and renal insufficiency was also discussed. **Methods** Twenty-four Wistar rats were divided into three groups: blank control group ($n=4$), statins group ($n=10$), and isoproterenol (ISO) group ($n=10$). Rats in blank control group and ISO group received normal saline (2ml/d) by intragastric administration. Rats in statins group received rosuvastatin [4mg/(kg·d)] by intragastric administration. Two weeks later, rats in ISO group and statins group received isoproterenol injection twice [85 mg/(kg·d)] intraperitoneally, while rats in blank control group received normal saline (2ml/d). After 15 weeks, the heart function of the rats was evaluated by cardiac ultrasound; a series of blood detections on renin angiotensin aldosterone system (RAAS), antioxidase, and inflammation factors were performed; additionally, heart and kidney tissues were also examined histopathologically to analyze the organ damage. **Results** Compared with ISO group, rats in statins group exhibited a significant improvement in heart function [LVEF: (73.18 ± 7.89)% vs (58.58 ± 6.41)%, $P < 0.05$] and reduction in serum Ang level [(928.50 ± 536.87) vs (1886.80 ± 718.89) pg/ml, $P < 0.05$]. In addition, rats in statins group showed a decrease in serum malondialdehyde [(10.10 ± 0.74) vs (12.36 ± 2.11) nmol/ml, $P=0.073$], and interleukin-6 [(44.46 ± 24.57) vs (76.31 ± 20.79) ng/ml, $P=0.058$] levels compared with rats in ISO group, but not reaching statistical significance. Histopathological examination showed significant protective effect of rosuvastatin on heart and kidney. **Conclusion** Rosuvastatin could protect cardiac and renal structure and function in ISO-induced cardiac insufficiency rats, possibly through RAAS inhibition and anti-oxidation or anti-inflammation.

【Key words】 rosuvastatin; cardiac insufficiency; isoproterenol; rats; cardiorenal protection

心肾综合征是合并了心功能不全和肾功能不全的一种病理状态, 且在心功能不全与肾功能不全之间存在着复杂的相互影响机制, 因此, 其治疗非常

复杂和棘手。研究心功能不全和肾功能不全之间在交互影响的病理生理机制, 寻找能够阻断心肾之间的不良交互影响、对心肾结构和功能具有保护作

用的药物就成为心肾综合征治疗中的首要问题。他汀类药物 (HMG-CoA 还原酶抑制剂) 可通过降低胆固醇发挥心血管保护作用, 这已为人们所熟知。越来越多的研究证实, 他汀类药物除通过降脂保护心血管以外, 尚具有抗炎症、抗氧化等多种降脂以外的作用, 从而对心脏和肾脏发挥多效性保护作用^[1, 2]。但他汀类药物能否在病理状态下发挥心肾联合保护作用及其作用机制尚少有研究涉及。本研究以异丙基肾上腺素 (isoproterenol, ISO) 诱导的心功能不全大鼠为模型, 探讨瑞舒伐他汀在心功能不全状态下对心脏和肾脏的保护作用及其机制。

1 材料与方法

1.1 试验动物

试验已通过解放军总医院动物试验伦理委员会审批。健康雄性 Wistar 大鼠 24 只, 由解放军总医院医学动物试验中心代购, 体质量 500g 左右。

1.2 药品

ISO 为日本东京化成工业株式会社产品。瑞舒伐他汀钙片, 商品名可定, 由阿斯利康制药有限公司生产; 心脏、肾脏病理检查由解放军总医院病理科完成; 全部血液指标的检测由北京中同蓝博临床检验所完成。

1.3 试验流程

大鼠被分为 3 组: 空白对照组 4 只, 他汀组 10 只, ISO 组 10 只。首先给予他汀组瑞舒伐他汀 4mg/(kg·d) 灌胃; 给予空白对照组和 ISO 组生理盐水 2ml/d 灌胃。两周后, 给予他汀组、ISO 组每只大鼠 ISO 腹腔注射 (85mg/kg), 空白对照组腹腔注射生理盐水 2ml。24h 后, 按前一日剂量重复注射 ISO 一次。此后每日均按照相应分组分别给予生理盐水 2ml、瑞舒伐他汀灌胃 (4mg/kg)。在第 15 周时, 对大鼠行心脏超声检查, 测左室缩短分数 (fraction of shortening, FS), 计算左室射血分数 (left ventricular ejection fraction, LVEF), 测定值为 5 个心动周期的平均值。

1.4 血液取材及检测

用 10% 的水合氯醛溶液麻醉大鼠, 麻醉后采用腹主动脉取血采集血液样本, 同时处死大鼠, 送检项目: 血常规、血生化、血浆肾素活性 (plasma renin activity, PRA)、血管紧张素 (angiotensin- I , Ang I)、醛固酮 (aldosterone, ALD)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA)、髓过氧化物酶 (myeloperoxidase, MPO)、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px)、

超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、白细胞介素-1 (interleukin-1, IL-1)、IL-6、IL-17。

1.5 心、肾组织取材及病理学检测

大鼠处死后立即取出心脏和肾脏, 在生理盐水中清洗, 后切成厚度 3mm 左右的组织块, 浸泡于 4% 的甲醛溶液中固定 72h 以上。心肾标本送解放军总医院病理科做石蜡包埋、切片, 心脏切片做 HE 染色, 肾脏切片做 PAS 染色, 行组织病理学观察。

1.6 统计学处理

所有数据由一人录入后另一人校对。采用 SPSS13.0 对数据进行统计分析, 多组计量资料的两两比较采用方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对 ISO 大鼠心功能的影响

从各组大鼠心功能指标的下降程度可以看出, 瑞舒伐他汀对大鼠的心功能具有明显的保护作用。ISO 组大鼠的 LVEF 与空白对照组相比有显著下降; 而他汀组较 ISO 组显著改善 LVEF (表 1)。

表 1 瑞舒伐他汀对 ISO 大鼠心功能的保护作用
Table 1 Protective effect of rosuvastatin on heart function in ISO rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	LVEF(%)	FS(%)
空白对照组	4	82.00 ± 6.67	45.53 ± 6.15
他汀组	5	73.18 ± 7.89*	38.06 ± 6.54*
异丙肾组	5	58.58 ± 6.41**	27.30 ± 3.99**

注: LVEF: 左室射血分数; FS: 左室缩短分数。与异丙肾组比较, * $P < 0.05$; 与空白对照组比较, ** $P < 0.01$

2.2 对 ISO 大鼠肾素-血管紧张素-醛固酮系统 (renin-angiotensin-aldosterone-system, RAAS) 的影响

他汀组与空白对照组比较, 三项指标均无显著差异, 但与 ISO 组比较, Ang I 水平下降, 具有统计学意义的显著性, PRA 也有所下降, 但未达到统计学意义的显著性 (表 2)。

表 2 瑞舒伐他汀对 ISO 大鼠 RAAS 的影响
Table 2 Effect of rosuvastatin on RAAS in ISO rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	PRA(ng/ml)	Ang (pg/ml)	ALD(ng/ml)
空白对照组	3	2.51 ± 2.71	1007.70 ± 408.11	1.15 ± 0.35
他汀组	5	3.60 ± 4.66	928.50 ± 536.87*	1.15 ± 0.40
异丙肾组	5	14.38 ± 14.74	1886.80 ± 718.89	0.97 ± 0.31

注: PRA: 血浆肾素活性; Ang I: 血管紧张素 I; ALD: 醛固酮。与异丙肾组比较, * $P < 0.05$

2.3 对 ISO 大鼠抗氧化酶及 MDA 的影响

他汀组与空白对照组比较, 四项指标均无显著差异; 与 ISO 组比较, MDA 有较大幅度的降低 ($P=0.073$), 其它指标也均有改善, 但未达到统计学意义的显著性 (表 3)。

2.4 对 ISO 大鼠炎症因子的影响

他汀组与空白对照组比较, 炎症因子的三项指标均无显著差异; 与 ISO 组比较, IL-1 和 IL-17 无显著差异, 但 IL-6 有较大幅度的降低 ($P=0.058$; 表 4)。

2.5 对 ISO 大鼠心脏、肾脏组织病理的影响

ISO 组大鼠的心脏有片状坏死, 心肌纤维排列紊乱, 炎性细胞浸润明显; 他汀组大鼠的心脏有点状和小灶性心肌坏死, 心肌纤维较空白对照组略显紊乱, 也存在炎性细胞浸润, 但明显轻于 ISO 组 (图 1)。ISO 组大鼠的肾脏在皮质、髓质和皮髓质交界区均存在大量粗大管型, 肾小管上皮细胞存在较多空泡变性; 他汀组大鼠的肾脏在皮髓质交界区存在少量管型, 可见散在的肾小管上皮细胞空泡变性和颗粒变性, 但明显轻于 ISO 组 (图 2)。

表 3 瑞舒伐他汀对 ISO 大鼠抗氧化酶及 MDA 的影响
Table3 Effect of rosuvastatin on antioxidase and MDA in ISO rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	SOD (U/ml)	MPO (U/ml)	GSH-Px (U/ml)	MDA (nmol/ml)
空白对照组	3	97.17 ± 13.18	9.13 ± 5.89	1.15 ± 0.35	10.35 ± 0.36
他汀组	5	86.48 ± 11.52	10.55 ± 6.51	1.15 ± 0.40	10.10 ± 0.74
异丙肾组	5	75.61 ± 11.60	5.38 ± 0.74	0.97 ± 0.31	12.36 ± 2.11

注: SOD: 超氧化物歧化酶; MPO: 髓过氧化物酶; GSH-Px: 谷胱甘肽过氧化物酶; MDA: 丙二醛

表 4 瑞舒伐他汀对 ISO 大鼠炎症因子的影响
Table4 Effect of rosuvastatin on inflammatory factors in ISO rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IL-1(ng/ml)	IL-6(ng/ml)	IL-17(ng/L)
空白对照组	3	0.080±0.026	35.39±33.72	3.52±0.28
他汀组	5	0.086 ± 0.046	44.46 ± 24.57	3.49 ± 0.69
异丙肾组	5	0.114 ± 0.044	76.31 ± 20.79	5.08 ± 2.80

注: IL-1: 白细胞介素-1; IL-6: 白细胞介素-6; IL-17: 白细胞介素-17

图 1 大鼠心脏病理检查

Figure 1 Histopathological examination of cardiac tissue (HE ×400)
A: 空白对照组; B: 异丙肾组; C: 他汀组

图 2 大鼠肾脏病理检查

Figure 2 Histopathological examination of renal tissue (PAS ×400)
A: 空白对照组; B: 异丙肾组; C: 他汀组

3 讨论

大剂量 ISO 会引起心内膜下心肌缺血、缺氧、坏死, 心肌纤维化, 心脏顺应性下降, 抑制收缩和

舒张功能, 这种大鼠模型的心脏病理生理和形态变化与发生在人类身上的心肌梗死较为类似^[3], 符合本研究的需要。本研究中, ISO 组大鼠的 LVEF 与空

白对照组相比有显著下降,心脏和肾脏的组织病理学与空白对照组相比也有较明显的损害,模型的建立是成功的。

在心功能不全和肾功能不全的交互影响中,心功能不全引起的血流动力学改变是始动因素,RAAS 过度激活处于核心地位。心功能不全引起肾脏血流灌注下降,从而引起肾内交感神经和 RAAS 过度激活。RAAS 过度激活本身可以加重心功能不全,使心输出量进一步下降,引起心、肾功能恶化,同时还能通过激活氧化应激反应^[4]和炎症反应间接损伤心肾组织。氧化应激反应可导致收缩功能增强和内皮功能障碍、心肌细胞凋亡和坏死、间质重建^[5]; Ang 还可通过促炎因子^[6]、促进成纤维细胞分裂、合成胶原,增加成纤维细胞生长因子的表达^[7],发挥促纤维化作用,加重心肾组织的损伤。反之亦然,活性氧能与 Ang 相互促进^[8],一些炎症细胞可合成和分泌能够裂解 Ang 产生 Ang 的丝氨酸蛋白酶,中性粒细胞含有的组织蛋白酶 G 也具有产生 Ang 的能力^[9]。

本研究中,他汀组的左心功能指标,心、肾病理结果较 ISO 组有显著改善,具有统计学差异,说明了瑞舒伐他汀对心、肾的保护作用。机制方面,ISO 组与空白对照组比较,Ang 水平有一定程度的上升,SOD、GSH-Px 及 IL-6 水平有较明显的下降,差异均属于临界统计学显著性,提示在 ISO 大鼠中,同时存在着一定程度的 RAAS 激活、氧化应激反应和炎症反应,共同损伤心脏、肾脏的结构和功能。由前述机制推论,损伤过程中或许存在着三种机制的相互促进作用。而他汀组与 ISO 组比较,Ang 水平下降有统计学意义,提示他汀对 RAAS 系统的激活具有抑制作用;他汀组大鼠的 SOD、MPO、GSH-Px 三项指标的水平与 ISO 组相比,有一定程度的上升;MDA 水平和 IL-6 水平下降,差异临界统计学显著性,提示瑞舒伐他汀在 ISO 大鼠模型中可能具有抗炎症反应、抗氧化作用,与文献报道的结果相似^[10]。由此可见,瑞舒伐他汀可在一定程度上抑制上述三种机制、尤其是抑制 RAAS 过度激活对心脏和肾脏的损伤作用,阻断心肾间的不良交互影响。但鉴于本研究结果中他汀组与 ISO 组比较仅 Ang 水平下降最为显著,且 RAAS 系统在心肾交互影响中处于核心地位,瑞舒伐他汀是否通过抑制 RAAS 过度激活间接发挥抗氧化、抗炎症作用,或是否对三种机制的交互促进具有抑制作用尚有待于进一步实验研究。本研究中部分数据组间差异为临界统计学显著性可能与本组动物数量少有关。

本研究提示,ISO 心功能不全大鼠模型中,在原发心脏损伤发生后,存在 RAAS 激活、氧化应激反应、炎症损伤的共同作用和交互影响,使心脏的结构和功能进一步受损,并引起肾脏组织损伤,最终可能发展为心肾综合征。瑞舒伐他汀干预可在一定程度上抑制上述三种机制对心脏和肾脏的损伤作用,减轻心脏和肾脏的组织损伤,阻断心肾间的不良交互影响。这一结论为心肾综合征的防治提供了新思路,但对高危患者使用他汀治疗的时机、剂量及临床疗效尚有待于进一步试验研究。

【参考文献】

- [1] Yang J, Li XP, Zhao SP, *et al.* The effect of different doses of fluvastatin on inflammatory markers in the early phase of acute coronary syndrome[J]. *Clin Chim Acta*, 2006, 368(1-2): 183-187.
- [2] Moriyama T, Kawada N, Nagatoya K, *et al.* Fluvastatin suppresses oxidative stress and fibrosis in the interstitium of mouse kidneys with unilateral ureteral obstruction[J]. *Kidney Int*, 2001, 59(6): 2095-2103
- [3] Karthikeyan K, Bai BR, Devaraj SN. Cardioprotective effect of grape seed proanthocyanidins on isoproterenol-induced myocardial injury in rats[J]. *Int J Cardiol*, 2007, 115(3): 326-333.
- [4] Garrido AM, Griendling KK. NADPH oxidases and angiotensin II receptor signaling[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2009, 302(2): 148-158.
- [5] Grieve DJ, Shah AM. Oxidative stress in heart failure: more than just damage[J]. *Eur Heart J*, 2003, 24(24): 2161-2163.
- [6] 蒋小英,高广道,周娟,等.血管紧张素 2 型受体对 AngII 诱导成年大鼠心肌成纤维细胞分泌 TNF- α 和 IL-1 β 的作用[J]. *南方医科大学学报*, 2007, 27(9): 1307-1309.
- [7] Rosenkranz S. TGF-beta1 and angiotensin networking in cardiac remodeling[J]. *Cardiovasc Res*, 2004, 63(3): 423-432.
- [8] Bendall JK, Cave AC, Heymes C, *et al.* Pivotal role of a gp91(phox)-containing NADPH oxidase in angiotensin II-induced cardiac hypertrophy in mice[J]. *Circulation*, 2002, 105(3): 293-296.
- [9] Owen CA, Campbell EJ. Angiotensin II generation at the cell surface of activated neutrophils: novel cathepsin G-mediated catalytic activity that is resistant to inhibition[J]. *J Immunol*, 1998, 160(3): 1436-1443.
- [10] Lee TM, Su SF, Tsai CH. Effect of pravastatin on proteinuria in patients with well-controlled hypertension[J]. *Hypertension*, 2002, 40(1): 67-73.