

# 阿托伐他汀对急性心肌梗死大鼠边缘带心肌 IL-8 表达与室性心律失常的影响\*

徐标<sup>1</sup> 吴秀华<sup>1</sup> 吴梦琴<sup>1</sup>

**[摘要]** 目的:探讨阿托伐他汀对急性心肌梗死后室性心律失常的抑制作用及机制。方法:45 只雄性急性心肌梗死大鼠随机均分为高、低剂量阿托伐他汀组及急性心肌梗死组(每组 15 只)。另取 10 只大鼠作为假手术组。高、低剂量阿托伐他汀组每日分别给予阿托伐他汀  $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 、 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  灌胃 1 周,假手术组和急性心肌梗死对照组不予治疗。第 1 周末以程序电刺激诱发各组大鼠室性心律失常后,假手术组取位于左心室游离壁心肌组织,心肌梗死各组取位于左心室梗死边缘带心肌组织检测白细胞介素(IL)-8 表达。结果:急性心肌梗死组梗死边缘带 IL-8 表达水平及室性心律失常诱发率均高于假手术组( $P < 0.01$ ),低剂量阿托伐他汀组梗死边缘带 IL-8 表达水平及室性心律失常诱发率显著低于急性心肌梗死组( $P < 0.05$ )。高剂量阿托伐他汀组梗死边缘带 IL-8 表达水平及室性心律失常诱发率显著低于低剂量组( $P < 0.05$ )。结论:阿托伐他汀可能通过抑制 IL-8 过度表达来降低室性心律失常发生率,其作用呈剂量依赖性。

**[关键词]** 急性心肌梗死;阿托伐他汀;白细胞介素-8;梗死边缘带;室性心律失常

doi:10.13201/j.issn.1001-1439.2014.07.021

[中图分类号] R542.2 [文献标志码] A

## Effect of atorvastatin on the expression of IL-8 in border zone myocardium and ventricular arrhythmia after acute myocardial infarction in rats

XU Biao WU Xiuhua WU Mengqin

(Department of Emergency, Puai Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, 430035, China)

Corresponding author: WU Xiuhua, E-mail:1142060437@qq.com

**Abstract Objective:** To investigate the effect of atorvastatin on the inhibition of ventricular arrhythmia after acute myocardial infarction(AMI). **Method:** Forty-five male AMI rats induced by left anterior descending branch ligation were randomly divided into AMI control group, high dose atorvastatin treatment group and low dose atorvastatin treatment group equally. Another ten rats were taken as the sham operation group. The high and low dose group were respectively treated at volume of  $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  and  $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  with atorvastatin for 1 weeks by gavage, whereas the sham operation group were not given with any treatment. At 1st week, programmed electrical stimulus was imposed on the rat hearts to induce ventricular arrhythmia. Then the left ventricle free wall tissue in the sham operation group and the border zone myocardium in the rest of rats were preserved. The expression of myocardial IL-8 was determined. **Result:** Compared with the sham operation group, there were higher expression of myocardial IL-8 and greater induce ratio of ventricular arrhythmia in the AMI group. Compared with the AMI group, low dose atorvastatin treatment reduced the expression of myocardial IL-8 and the induced ratio of ventricular arrhythmia( $P < 0.05$ ). Compared with the low dose atorvastatin group, high dose atorvastatin treatment reduced the expression of myocardial IL-8 and the induce ratio of ventricular arrhythmia ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Atorvastatin may reduce the incidence of ventricular arrhythmia by inhibiting the over-expression of myocardial IL-8 after AMI and the effect is dose dependent.

**Key words** acute myocardial infarction; atorvastatin; interleukin-8; border zone; ventricular arrhythmia

近年研究发现,阿托伐他汀除具有调脂作用外还具有其他的心血管保护作用,包括改善内皮功能失调、抑制炎症反应、抗血栓形成、稳定斑块等作用<sup>[1]</sup>,其抑制心律失常的作用成为近期研究热点。

炎症因子在急性心肌梗死(AMI)后室性心律失常中发挥了重要作用<sup>[2]</sup>。白细胞介素(IL)-8是目前对中性粒细胞趋化活性最强的细胞因子,在AMI炎症过程中起直接介导作用<sup>[3]</sup>。AMI时血清IL-8表达显著增高,其表达水平与室性心律失常发生率呈正相关<sup>[4]</sup>。本研究选择AMI后大鼠为研究对象,观察不同剂量阿托伐他汀对梗死边缘带心肌组织中IL-8的表达以及室性心律失常诱发率的影响。

\* 基金项目:武汉市卫生局科研项目(编号:WX12D06)

<sup>1</sup> 华中科技大学同济医学院附属普爱医院(西区)急诊部(武汉,430035)

通信作者:吴秀华,E-mail:1142060437@qq.com

响,探讨阿托伐他汀对 AMI 后室性心律失常的抑制机制。

## 1 材料与方 法

### 1.1 动物、药物与试剂

清洁级雄性 SD 大鼠(动物许可证号:HBDW NO:2008-1015),体重(250±30)g,购自同济医学院动物实验中心。阿托伐他汀,20 mg/片,辉瑞制药有限公司产品。兔抗大鼠 IL-8 单克隆抗体、过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG 抗体、FITC 标记的山羊抗兔 IgG、BCA 蛋白定量试剂盒均购自武汉博士德生物工程有限公司。ECL 试剂盒购自美国 PIERCE 公司。

### 1.2 模型建立及实验分组

按 Yu 等<sup>[5]</sup>提供的方法结扎大鼠左冠状动脉(冠脉)前降支制作 AMI 模型,术后 24 h 存活 45 只大鼠,随机均分成 AMI 对照组和高、低剂量阿托伐他汀干预组,每组 15 只。高、低剂量阿托伐他汀干预组术后第 2 天起灌胃给药 1 周,剂量分别为 10 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>、20 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>(剂量参考文献<sup>[6]</sup>)。另设假手术组 10 只,仅在左冠脉前降支穿线不结扎。假手术组和 AMI 组对照组每日给予等量 0.9%氯化钠灌胃。第 1 周末 AMI 对照组、高、低剂量阿托伐他汀干预组、假手术组大鼠分别存活 10 只、12 只、11 只、10 只。第 1 周末大鼠称重后,3%戊巴比妥 30 mg/kg 腹腔麻醉,迅速开胸,以程序电刺激诱发各组大鼠室性心律失常后取出心脏。假手术组取位于左心室游离壁心肌组织,心肌梗死各组取位于左心室梗死边缘带(以结扎线为标志,梗死苍白区边缘至边缘 3 mm 以内),心肌组织行 Western blot 检测。

### 1.3 程序电刺激诱发各组大鼠室性心律失常变化

腹腔麻醉后固定、气管插管。连接肢体导联心电图后于左前胸第 3、4 肋间开胸,暴露心脏,以双极针形电极刺入左室心尖部作为刺激电极,进行程序电刺激诱发室性心律失常并同步记录心电图,电生理参数采用 BL-420F 生物信号采集与处理系统记录。程序电刺激 S1S1 周长为 100 ms,波宽 2 ms,电压 5 mV,脉冲数为 8 个;S2 强度为 5 mV,波宽为 2 ms,脉冲数为 1 个,步长为-2 ms,直至 S2 后不再出现 R2,即不应期或诱发出室性心律失常。如果未能诱发室性心律失常,将 S1S2 间期设为不应期加 10 ms,并加用期前刺激 S3,以 2 ms 递减刺激直到不应期或诱发出室性心律失常。此处室性心律失常特指连续出现 6 个及 6 个以上宽 QRS 波的室性心动过速(室速)或者心室颤动(室颤)。

### 1.4 Western blot 检测心肌组织 IL-8 表达

每组大鼠随机抽取 10 份样本,取大鼠心肌组织 50 mg/份,匀浆后加入适量组织蛋白裂解液,离心后吸取上清,按照 BCA 蛋白定量试剂盒说明进行蛋白定量测定。在电泳仪上用等量蛋白质样品经 15% SDS-PAGE 分离后,转移于硝酸纤维素膜(PVDF)膜上。以 1:1 000 的兔抗大鼠 IL-8 单克隆一抗 4℃静置孵育过夜,再以 1:10 000 过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG 二抗室温孵育 2 h,在暗室用 ECL 试剂盒发光显影,同时检测 β-actin 的表达作为内参对照。图片经光密度图像扫描仪(HP)扫描,以 Quantity One 软件对结果进行分析,检测各组大鼠心肌组织 IL-8 与 β-actin 表达灰度的比值。

### 1.5 统计学处理

采用 SAS 软件行方差分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组均数间的比较采用 *t* 检验。率的比较采用  $\chi^2$  检验。

## 2 结果

### 2.1 大鼠心律失常诱发结果

假手术组室性心律失常诱发率为 0(0/10)。AMI 组对照组、高、低剂量阿托伐他汀组室性心律失常诱发率分别为 80%(8/10)、25%(3/12)、45%(5/11)( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ),而高剂量阿托伐他汀组较低剂量阿托伐他汀组心律失常诱发率明显降低( $P < 0.05$ )。

### 2.2 大鼠心肌 IL-8 表达变化

假手术组、AMI 组对照组、高、低剂量阿托伐他汀组大鼠心肌 IL-8 表达分别为 0.040±0.001、0.315±0.028、0.115±0.032、0.192±0.031。AMI 对照组较假手术组心肌 IL-8 表达明显增强( $P < 0.01$ );与 AMI 对照组相比,高、低剂量阿托伐他汀组中大鼠心肌 IL-8 表达明显减弱( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ )。高剂量阿托伐他汀组与低剂量组比较,IL-8 表达明显减弱( $P < 0.05$ )。

## 3 讨论

冠脉阻塞后形成的心肌梗死区周围往往存在一层功能异常但尚未坏死的心肌,即所谓边缘带或边缘层。随着梗死时间的延长,边缘带不断向外扩展,在各种因素的综合作用下形成特殊的心肌病理状态。边缘带心肌病理生理状态与 AMI 后出现的心律失常等密切相关<sup>[7]</sup>。心肌梗死后周围边缘带出现交感神经神经再生,交感神经密度和活性的增加导致动作电位时程(APD)延长和细胞间 APD 的异步性,增加发生室速、室颤等严重心律失常的可能性<sup>[8]</sup>。边缘带中的细胞离子通道异常也是心律

失常发生重要原因之一。边缘带钠通道功能发生改变、快钠电流密度降低、失活后恢复缓慢,导致心肌兴奋性和传导性异常,极易出现室性心律失常。

目前认为炎症因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  等在炎症反应中的作用很大程度上是通过诱导 IL-8 来介导完成的。IL-8 在冠心病并发的心房颤动(房颤)、室性期前收缩、室速等心律失常发生过程中发挥重要作用,是预测缺血性心脏病并发心律失常的独立危险因素<sup>[9-10]</sup>。

近年研究表明,他汀类药物具有独立于调脂作用外的抗心律失常作用。他汀类药物能明显降低心脏手术后房颤及孤立性房颤的发生率<sup>[11]</sup>。阿托伐汀对血脂正常的大鼠缺血再灌注损伤时发生室性心律失常有明显的抑制作用<sup>[12]</sup>。本研究发现 AMI 后室性心律失常的诱发率随边缘带心肌 IL-8 表达增高而升高,表明 AMI 后边缘带心肌中炎症细胞因子的升高与室性心律失常的发生密切相关。阿托伐汀能降低 AMI 后室性心律失常的诱发率,随着给药剂量的增加,边缘带心肌 IL-8 表达下降程度呈明显差异,室性心律失常的诱发率亦明显不同,表明阿托伐汀降低 AMI 后室性心律失常诱发率的作用与抑制边缘带心肌 IL-8 过度表达有关,其作用呈剂量依赖性。

综上所述,阿托伐他汀独立于调脂作用外的抗炎作用在抑制 AMI 后室性心律失常中发挥重要作用,随着研究的进一步深入,其临床作用及其机制将更加丰富,更加成功地应用于 AMI 的治疗中。

#### 参考文献

[1] 张艳丛,张永进.阿托伐他汀的临床应用及研究进展[J].医学综述,2012,18(16):2616-2618.

[2] ELMAS E, POPP T, LANG S, et al. Sudden death: do cytokines and prothrombotic peptides contribute to the occurrence of ventricular fibrillation during acute myocardial infarction? [J]. Int J Cardiol, 2010, 145: 118-119.

[3] RAGINO I I, KUIMOV A D, POLONSKAIA I V, et al. Dynamics of changes of blood inflammatory-oxidative biomarkers in acute coronary syndrome[J]. Kardi-

ologiia, 2012, 52:18-22.

- [4] ELMAS E, HÖLZER L, LANG S, et al. Enhanced proinflammatory response of mononuclear cells to in vitro LPS-challenge in patients with ventricular fibrillation in the setting of acute myocardial infarction[J]. Cytokine, 2011, 43:138-142.
- [5] YU F X, ZHANG Y, TRAN N, et al. Effects of myocardial platelet rich plasma injection on rats with acute myocardial infarction: (99) Tc(m)-MIBI gated SPECT imaging evaluation results[J]. Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi, 2012, 40: 392-396.
- [6] SONG Y, QIU R, KUANG J, et al. Effect of atorvastatin on cardiac function and TGF- $\beta$ 1 signaling pathway after acute myocardial infarction in rats[J]. Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao, 2012, 32:202-206.
- [7] RUBENSTEIN J C, LEE D C, WU E, et al. A comparison of cardiac magnetic resonance imaging peri-infarct border zone quantification strategies for the prediction of ventricular tachyarrhythmia inducibility[J]. Cardiol J, 2013, 20:68-77.
- [8] WANG Y, XUAN Y L, HU H S, et al. Risk of ventricular arrhythmias after myocardial infarction with diabetes associated with sympathetic neural remodeling in rabbits[J]. Cardiology, 2012, 121:1-9.
- [9] GUO Y, LIP G Y, APOSTOLAKIS S. Inflammation in atrial fibrillation[J]. J Am Coll Cardiol, 2012, 60: 2263-2270.
- [10] ASIMAKI A, TANDRI H, DUFFY E R, et al. Altered desmosomal proteins in granulomatous myocarditis and potential pathogenic links to arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy[J]. Circ Arrhythm Electrophysiol, 2011, 4:743-752.
- [11] ABUISSA H, O'KEEFE J H, BYBEE K A. Statins as antiarrhythmics: a systematic review part I: effects on risk of atrial fibrillation[J]. Clin Cardiol, 2009, 32:544-548.
- [12] 任勇,刘文卫,汤永谦,等.阿托伐他汀和辛伐他汀对心肌缺血再灌注电生理参数及室性心律失常的影响[J].中国心脏起搏与心电生理杂志,2012,26(5): 431-433.

(收稿日期:2013-06-14)