

doi:10.3969/j.issn.1000-9760.2012.02.005

利多卡因减轻家兔心肌缺血-再灌注炎症性损伤的研究*

王友^{1,2} 王保生² 林丽文² 林娜² 赵明耀^{1△}

(1 郑州大学基础医学院, 河南 郑州 450052; 2 济宁医学院基础医学与法医学院, 山东 济宁 272067)

摘要 **目的** 研究利多卡因的抗炎作用对心肌缺血-再灌注损伤的保护作用。**方法** 18只家兔随机分为3组(每组6只),假手术组、缺血-再灌注组和利多卡因组。监测家兔左室内压峰值(LVSP)、 $\pm dp/dt_{max}$,测定血浆IL-6的水平,光镜观察心肌损伤及中性粒细胞的浸润程度。**结果** 与缺血-再灌注组比较,利多卡因组LVSP及 $\pm dp/dt_{max}$ 再灌注后的恢复率均高于缺血-再灌注组($P < 0.01$),血浆IL-6浓度明显低于缺血-再灌注组($P < 0.01$),心肌损伤及中性粒细胞浸润程度较轻。**结论** 利多卡因可以提高心功能,抑制炎症反应,减轻家兔心肌缺血-再灌注损伤。

关键词 利多卡因;心肌缺血;再灌注损伤;白介素-6

中图分类号: R542.2 **文献标志码**: A **文章编号**: 1000-9760(2012)04-100-03

The study of lidocaine on reducing inflammatory injury during myocardial ischemia/reperfusion injury in rats

WANG You, WANG Bao-sheng, LIN Li-wen, et al

(Basic School of Basic Medical Science, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China)

Abstract: Objective To investigate the protective effects of lidocaine on myocardial ischemia/reperfusion injury. **Methods** Eighteen rabbits were randomly divided into 3 groups ($n = 6$ each): sham-operated group, ischemia/reperfusion group and lidocaine group. Left ventricular systolic pressure (LVSP) and $\pm dp/dt_{max}$ of the heart were determined, and the level of plasma IL-6 was also measured. The degree of myocardial injury and neutrophils infiltration were observed with microscope. **Results** Compared with those of ischemia/reperfusion group, LVSP and $\pm dp/dt_{max}$ of the heart were better recovered during reperfusion in lidocaine groups ($P < 0.01$). IL-6 concentration in plasma in lidocaine group were significantly lower than those in the ischemia/reperfusion group ($P < 0.01$) and the degree of myocardial injury and neutrophils infiltration were alleviated. **Conclusion** The results demonstrate that lidocaine could improve cardiac function, inhibit inflammatory response and attenuate reperfusion injury in ischemic heart.

Key words: Lidocaine; Myocardial ischemia; Reperfusion injury; IL-6

缺血性心脏病已成为我国患者死亡的主要原因。近年来,随着心脏动脉搭桥术、PTCA及心脏移植等高难复杂心脏大血管手术的开展和推广,缺血性心脏病得到了有效的防治,可是随之而来的是心肌缺血-再灌注损伤发病率的逐年增高,这严重影响了上述治疗手段的临床效果。本研究旨在探讨在体内情况下,利多卡因后处理对缺血-再灌注心肌心功能、中性粒细胞的浸润程度的影响及其抗

炎作用对心肌缺血-再灌注损伤的保护作用,为临床心肌缺血-再灌注损伤的防治探讨新的手段。

1 材料和方法

1.1 材料

选用健康大耳白兔(本校实验动物中心提供)18只,体重2.5~3 kg,雌雄不拘,随机分为3组,每组6只;一次性采血管(EDTA_{K2}抗凝,山东奥赛特)家兔IL-6的ELISA检测试剂盒(R&D美国),BL-420F生物机能实验系统(成都泰盟科技有限公司),全自动酶标分析仪(MK3 Thermo美国)。

* [基金项目] 济宁医学院2008年青年基金项目

△ [通信作者] 赵明耀, E-mail: zmy66@zzu.edu.cn

1.2 动物分组及处理

将 18 只家兔随机分成 3 组,1)缺血-再灌注(IR 组)家兔全身麻醉,以 20%乌拉坦 5ml/kg(1g/kg)耳缘静脉注射,将麻醉后的家兔固定于兔手术台,颈部正中切口,分离左侧颈总动脉,行左颈总动脉插管术,将导管插入左心室,监测其左室内压;在其四肢皮下插入针性电极,监测心电图(Ⅱ导联),紧贴其胸骨左缘切开皮肤,逐层结扎分离,暴露肋软骨,将 3、4 肋骨剪断开胸,暴露心脏,剪开心包,在冠状动脉前降支左室支下约 2mm 处穿过丝线,其上放置一段硅胶管(长 15mm,直径 2mm),结扎硅胶管,可见心电示波 ST 段上抬(Ⅱ导联),表明心肌缺血。将家兔心肌缺血 40 min,剪去结扎线,恢复心肌灌注,可见心电示波 ST 段回落,再灌注 120 min;实验过程中胸膜破裂、严重心律失常及死亡家兔随时补充;2)利多卡因组(L 组):手术同对照组,心肌缺血 40min,再灌注前静脉注射利多卡因 5mg/kg,再灌注 120 min;3)假手术组(sham 组),手术同对照组,只穿线,不结扎。

1.3 心肌收缩功能指标记录和测量

使用 BL-420F 生物机能实验系统监测和记录心电图(Ⅱ导联)、左室内压(LVP)曲线(测定左室内压峰值, LVSP),并将 LVP 进行微分描记左室 dp/dt 曲线。

1.4 心肌病理形态学观察

于实验终点,从心脏结扎点以下取心肌标本,4%多聚甲醛溶液固定,石蜡包埋,HE 染色后,观察心肌损伤及炎性浸润情况。

1.5 血浆中 IL-6 水平测定

缺血前于颈总动脉放血 5ml,再灌注 120min 后,于颈总动脉放血 5ml,均 3000r/min 离心 15min,取血浆, -20℃ 冻存备用。采用 ELISA 法

检测血浆 IL-6 水平,检测步骤严格按照试剂盒说明书操作。

1.6 数据处理

各组数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,使用 SPSS12.0 统计学软件进行单因素方差分析,组间差异比较采用 Student-Newman-Keuls multiple-range test, $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果

2.1 各组间心脏收缩功能

将各组动物缺血前左室内压峰值(LVSP)作为基础值(BV)。缺血 40 min 时假手术组的 LVSP(I 40min)与缺血前 LVSP 的比率(即恢复率)明显高于缺血-再灌注组和利多卡因组。再灌注 120 min 时,假手术组 LVSP(R 120min)的恢复率高于缺血-再灌注组和利多卡因组,且利多卡因组 LVSP 的恢复率高于缺血-再灌注组($P < 0.05$)。缺血 40min 时,假手术组 $\pm dp/dt_{max}$ 的恢复率高于缺血-再灌注组和利多卡因组,再灌注 120 min 时,假手术组 $\pm dp/dt_{max}$ 的恢复率高于缺血-再灌注组和利多卡因组($P < 0.05$),且利多卡因组高于缺血-再灌注组(表 1)。

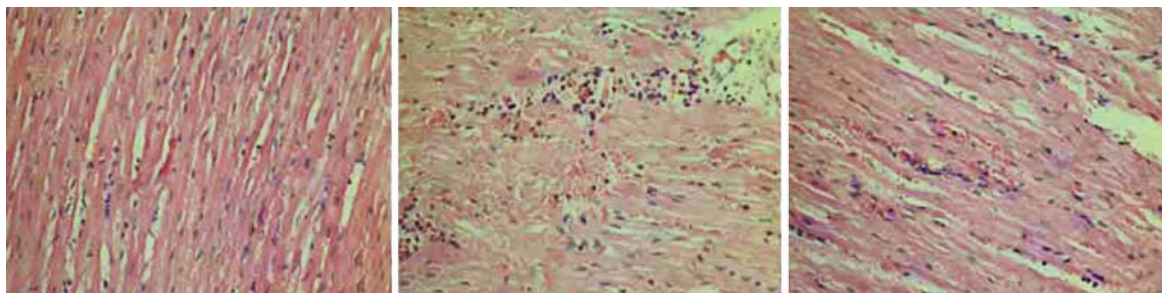
2.2 心肌组织病理形态学观察

假手术组(图 1)心肌结构正常,细胞边界清晰。缺血-再灌注组(图 1)心肌纤维排列紊乱,边界不清,心肌细胞间隙增宽,部分心肌纤维部分断裂,水肿明显,心肌纤维间毛细血管扩张充血,可见明显的出血和大量的炎性细胞浸润,心肌细胞损伤明显。利多卡因组(图 1)心肌纤维排列较为清楚,相对紧密,出血及炎性浸润明显少于缺血-再灌注组。

表 1 各组心肌缺血、再灌注时的 LVSP, $\pm dp/dt_{max}$ 及恢复率($\bar{x} \pm s, n=6$)

Group	LVSP(mmHg)			$\pm dp/dt_{max}$		
	BV	I 40min/BI	R 120min/BI	BV	I 40min/BI	R 120min/BI
Sham	136.3 $\pm$ 18.1	0.96 $\pm$ 0.04	0.92 $\pm$ 0.08	4.00 $\pm$ 1.45 -3.24 $\pm$ 0.67	0.92 $\pm$ 0.01 0.96 $\pm$ 0.04	0.99 $\pm$ 0.14 0.91 $\pm$ 0.03
IR	141.4 $\pm$ 21.2	0.86 $\pm$ 0.08*	0.72 $\pm$ 0.03**	5.37 $\pm$ 1.94 -3.50 $\pm$ 0.73	0.76 $\pm$ 0.11* 0.79 $\pm$ 0.11*	0.59 $\pm$ 0.15** 0.65 $\pm$ 0.10**
L	132.4 $\pm$ 16.4	0.84 $\pm$ 0.04**	0.80 $\pm$ 0.07*#	6.54 $\pm$ 2.54 -4.36 $\pm$ 1.25	0.68 $\pm$ 0.13** 0.72 $\pm$ 0.11**	0.77 $\pm$ 0.10*# 0.80 $\pm$ 0.11*#

与假手术组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与缺血-再灌注组比较 # $P < 0.05$



A:假手术组;B:缺血性灌注组;C:利多卡因组

图1 家兔心肌病理形态变化(HE染色×400)

2.3 各组血浆 IL-6 的水平比较

缺血前各组 IL-6 水平无显著性差异,再灌注 120min 后,缺血-再灌注组和利多卡因组 IL-6 水平明显高于假手术组 ($P < 0.01$),且缺血-再灌注组 IL-6 水平明显高于利多卡因组 ($P < 0.01$)。(表 2)

表2 各组血浆 IL-6 浓度($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	IL-6(pg/ml)	
	缺血前	再灌注 120min
假手术组	75±14.9	82±16.1
缺血-再灌注组	69±9.6	196.7±20.6**
利多卡因组	73±12.5	113.4±6.08**##

与假手术组比较 ** $P < 0.01$; 与缺血-再灌注组比较 ## $P < 0.01$

3 讨论

心肌缺血-再灌注损伤是临床上常见的病理生理改变,是指缺血的心肌细胞恢复血液供应后缺血性损伤进一步加重,临床主要表现为心肌舒缩功能降低、再灌注心律失常及心肌顿抑等。1955 年 Swell 等人发现心肌缺血-再灌注损伤以来, Murry^[1] 和 Zhao^[2] 先后提出了预处理及后处理的方法减轻缺血-再灌注损伤,相对于预处理来讲,缺血后处理的操作性更强,现已证实缺血和药物后处理都可以有效减轻缺血-再灌注损伤。近年来的研究表明,白细胞聚集、激活介导的微血管损伤及细胞损伤在脏器缺血-再灌注损伤的发生中起重要作用。心肌缺血-再灌注时,血管内皮细胞、白细胞和巨噬细胞的激活,导致多种炎症因子大量生成、释放,并介导组织细胞炎症损伤,可能是缺血-再灌注损伤的重要发病机制^[3]。IL-6 主要由 T、B 细胞和单核巨噬细胞分泌,可促进内皮细胞表达黏附分子,介

导中性粒细胞浸润,在心肌损伤过程中发挥重要作用^[4]。通过本研究可知,IL-6 的水平与心肌炎性浸润的程度呈正相关。

利多卡因在临床上常用作局部麻醉和抗心律失常,但是最近大量的研究表明,利多卡因还可通过作用于机体免疫系统而产生很强的抗炎作用,其对多种炎症因子的抑制作用已在各种疾病模型中得到证实,其抗炎作用甚至超过了传统的非甾体类抗炎药^[5]。本实验研究表明利多卡因后处理可提高心脏的收缩功能,减少炎症介质 IL-6 的表达,进而减轻心肌的中性粒细胞浸润程度。综上,利多卡因可通过其抗炎作用减轻缺血-再灌注心肌组织的炎性损伤,对于心脏有明显的保护作用,其抑制中性粒细胞激活、浸润的机制有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Murry CE, Jennings RB, Reimer KA, et al. Preconditioning with ischemia: A delay of lethal cell injury in ischemic myocardium[J]. Circulation, 1986, 74(5): 1124-1136.
- [2] Zhao ZQ, Corvum JS, Halkos ME, et al. Inhibition of myocardial injury by ischemic post-conditioning during reperfusion: comparison with ischemic pre-conditioning[J]. Am J Physiol, 2003, 285(2): 579-588.
- [4] 丁文惠, 吴付轩, 李大元, 等. 心肌梗死再灌注中血浆白细胞介素-6 的动态变化和单克隆抗体的保护作用[J]. 中华心血管病杂志, 1999, 27(1): 29-32.
- [3] 金惠铭, 王建枝. 病理生理学[M]. 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 147-149.
- [5] Azuma Y, Shinohara M, Wang PL, et al. Comparison of inhibitory effects of local anesthetics on immune functions of neutrophils[J]. Int J Immunopharmacol, 2000; 22(10): 789-796.

(收稿日期 2012-03-12)