

利多卡因对缺血再灌注家兔心肌 NF- κ B 和血浆 ICAM-1 IL-8 的影响*

王友¹ 王立赞¹ 王保生¹ 张效鹏² 胡新远²

(¹ 济宁医学院基础学院;² 济宁医学院临床学院, 山东 济宁 272067)

摘要 目的 研究利多卡因对家兔缺血再灌注心肌 NF- κ B 表达及血浆 ICAM-1、IL-8 水平的影响。**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。测定各组家兔血浆 ICAM-1、IL-8 的水平,免疫组化方法观察心肌 NF- κ B 表达情况。**结果** 与缺血再灌注组比较,利多卡因后处理组再灌注后血浆 ICAM-1 和 IL-8 浓度明显低于缺血再灌注组($P < 0.01$),利多卡因可抑制心肌细胞 NF- κ B 的表达。**结论** 利多卡因可以抑制 ICAM-1、IL-8 的释放及 NF- κ B 的表达,减轻家兔心肌缺血再灌注后炎症反应。

关键词 利多卡因;心肌缺血再灌注损伤;ICAM-1;IL-8;NF- κ B

中图分类号:R542.2 **文献标志码**:A **文章编号**:1000-9760(2012)12-399-03

Effects of lidocaine on myocardial NF-kappa B expression and plasma ICAM-1, IL-8 levels following myocardial ischemia reperfusion in rabbits

WANG You, WANG Li-zan, WANG Bao-sheng, et al

(Academy of Basic Medicine, Jining Medical University, Jining 272067, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of lidocaine on myocardial NF- κ B expression and plasma ICAM-1, IL-8 levels following myocardial ischemia reperfusion in rabbits. **Methods** Eighteen rabbits were randomly divided into 3 groups ($n = 6$ each): sham operation group, ischemic reperfusion group and lidocaine group. The levels of ICAM-1 and IL-8 in plasma were measured, and the degree of myocardial NF- κ B expression was observed by immunohistochemical method. **Results** Compared with those of ischemic reperfusion group, ICAM-1 and IL-8 concentrations in lidocaine group were significantly lower ($P < 0.01$). Lidocaine also reduced myocardial NF- κ B expression. **Conclusion** Lidocaine could suppress plasma IL-8 and ICAM-1 levels and myocardial NF- κ B expression, and alleviate inflammatory response induced by myocardial ischemia reperfusion.

Key words: Lidocaine; Myocardial ischemia reperfusion; ICAM-1, IL-8, NF- κ B

心肌缺血再灌注损伤是心脏动脉搭桥术、PTCA及心脏移植等高难复杂心脏大血管手术后的常见病理生理变化,其中炎症反应是其发生的重要机制之一,严重影响了上述治疗手段的临床效果。已有报道利多卡因后处理可减轻中性粒细胞的浸润程度并抑制促炎因子,如 IL-6 的释放^[1],但其对炎症反应上游分子 NF- κ B 的作用有何影响,尚无定论,本研究拟观察利多卡因后处理对缺血再灌注家兔心肌 NF- κ B 表达及其他炎症因子 ICAM-1、IL-8 的影响。

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 ICAM-1、IL-8 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)。

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

* [基金项目]济宁市 2009 年科技局项目

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,以左心耳到心尖连线的中点为结扎点,使用带线缝合针(6~0)结扎左室支,其上放置一段硅胶管(长15mm,直径5mm),结扎硅胶管,可见心电示波ST段明显上抬(Ⅱ导联),表明心肌缺血。将家兔心肌缺血40min,剪去结扎线,恢复心肌灌注,可见心电示波ST段回落,再灌注120min。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120min;3)假手术组(sham组),手术同对照组,只穿线,不结扎。

1.3 血浆中 ICAM-1、IL-8 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,取血浆置于EP管,−20℃冻存备用。采用ELISA法检测血浆ICAM-1、IL-8水平,检测步骤严格按照试剂盒说明书操作。

1.4 心肌组织 NF-κB 的免疫组织化学检测

于实验终点,从心脏结扎点以下0.5cm横切取心肌标本,厚度约为0.6cm,4%多聚甲醛溶液固定,石蜡包埋。心肌组织制成5μm厚切片行免疫组织化学分析,40倍光学显微镜观察,拍照。免疫组化染色结果判定:NF-κB活化表现胞浆、胞核黄染。

1.5 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 利多卡因对家兔心肌缺血再灌注后血浆 IL-

8 水平的影响

缺血前各组IL-8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-8水平明显高于假手术组($P < 0.01$),且缺血再灌注组IL-8水平明显高于利多卡因组($P < 0.01$)。见表1。

表1 利多卡因对家兔心肌缺血再灌注后血浆 IL-8 水平的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	IL-8(pg/ml)	
	缺血前	再灌注120min
假手术组	106.8±20.5	114.7±24.3
缺血再灌注组	110.2±18.6	361.7±40.1**
利多卡因组	115.3±23.1	216.4±31.5***#

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

2.2 利多卡因对家兔心肌缺血再灌注后血浆 ICAM-1 水平的影响

缺血前各组ICAM-1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ICAM-1水平明显高于假手术组($P < 0.01$),且缺血再灌注组ICAM-1水平明显高于利多卡因组($P < 0.01$)。见表2。

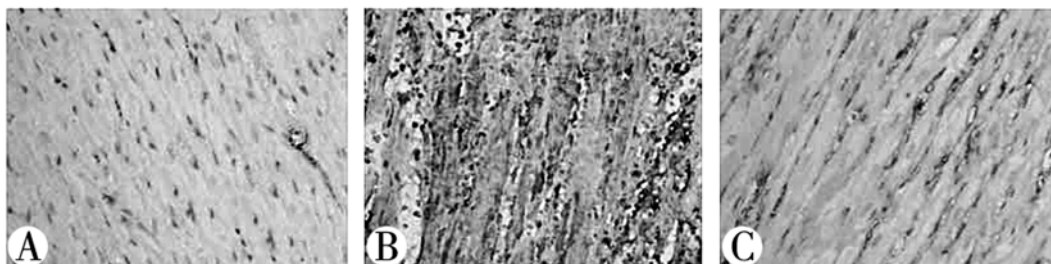
表2 利多卡因对家兔心肌缺血再灌注后血浆 ICAM 水平的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	ICAM(pg/ml)	
	缺血前	再灌注120min
假手术组	65.7±5.3	68.1±4.3
缺血再灌注组	66.2±4.6	86.4±5.5**
利多卡因组	63.3±3.1	76.3±2.9***#

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

2.3 利多卡因对家兔心肌缺血再灌注后心肌组织 NF-κB 表达的影响

假手术组(图1A)除血管内皮细胞有微弱表达,其余部位基本不表达。缺血再灌注组(图1B)心肌细胞内NF-κB呈强阳性(棕黄色)表达。利多卡因组(图1C)心肌细胞内阳性表达较弱。



A:假手术组;B:缺血再灌注组;C:利多卡因组

图1 利多卡因对家兔心肌缺血再灌注后心肌组织 NF-κB(p50)表达的影响(免疫组织化学染色×400)

3 讨论

近年来的研究表明,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^[2]。ICAM-1 属于黏附分子,存在于内皮细胞、白细胞、心肌细胞的表面,可使白细胞和内皮细胞发生稳定的黏附。IL-8 是最强的多形核白细胞和 T 淋巴细胞趋化因子,可使白细胞进一步与细胞外基质蛋白结合,并通过产生氧自由基和释放蛋白水解酶造成组织损伤。大量的研究表明,利多卡因可对心肌缺血再灌注损伤产生保护作用^[3-5]。通过本研究可知,利多卡因后处理可抑制血浆 ICAM-1 与 IL-8 的表达。心肌缺血可诱发心肌炎症反应,再灌注则使炎症反应加重且 I κ B 磷酸化和降解使 NF- κ B 移位,可能是急性炎症发生发展的最早启动的关键环节^[6]。NF- κ B 结合序列广泛存在于炎症介质、黏附分子如 ICAM-1、IL-8 等基因上游的启动子和增强子中,NF- κ B 活化会导致上述基因的表达。本研究发现心肌细胞在缺血再灌注时,NF- κ B 表达增加,且与 ICAM-1、IL-8 的表达呈正相关。通过免疫组化观察,NF- κ B 强阳性表达的区域其炎性

浸润严重,故推测,缺血心肌细胞再灌注时 NF- κ B 表达增加可上调炎症介质,如 ICAM-1、IL-8 合成释放增多,进而引起心肌炎症损伤。

综上所述,利多卡因可减少家兔心肌缺血再灌注时心肌组织 NF- κ B 的表达,抑制炎症介质释放反应,减轻心肌炎性损伤。

参考文献:

- [1] 王友,王保生,林丽文,等.利多卡因减轻家兔心肌缺血-再灌注炎症损伤的研究[J]. 济宁医学院学报,2012,35(2):100-102.
- [2] 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.
- [3] 雍文成,冷玉芳.利多卡因对家兔心肌缺血-再灌注损伤氧自由基及 Na⁺-K⁺-ATPase、Ca²⁺-Mg²⁺-ATPase 的作用[J]. 江西医药,2008,43(7):662-663.
- [4] 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.
- [5] 刘红亮,戴体俊,王钧,等.利多卡因对大鼠顿抑心肌 ATP 酶活性及丙二醛含量的影响[J]. 中华麻醉学杂志,2001,21(11):688-689.
- [6] 王云,渠川铮,王莉,等.抑制核转录因子减轻心肌缺血再灌注损伤[J]. 中华胸心血管外科杂志,2001,17(2):105-107.

(收稿日期 2012-10-12)

(上接第 391 页)

- [3] Calin GA,Sevignani C,Dumitru CD,et al. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2004,101(9):2999-3004.
- [4] Nelson KM,Weiss GJ. MicroRNAs and cancer: past, present, and potential future[J]. Mol Cancer Ther,2008,7(12):3655-3660.
- [5] Latronico MV,Catalucci D,Condorelli G. MicroRNA and cardiac pathologies[J]. Physiol Genomics,2008,34(3):239-242.
- [6] Guo Y,Chen Z,Zhang L,et al. Distinctive microRNA profiles relating to patient survival in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Cancer Res,2008,68(1):26-33.
- [7] Feber A,Xi L,Luketich JD,et al. MicroRNA expression profiles of esophageal cancer[J]. J Thorac Cardiovasc Surg,2008,135(2):255-260.
- [8] Luthra R,Singh RR,Luthra MG,et al. MicroRNA-196a targets annexin A1:a microRNA-mediated mechanism of annexin A1 downregulation in cancers[J]. Oncogene,2008,27(52):6667-6678.
- [9] Lee KH,Goan YG,Hsiao M,et al. MicroRNA-373(miR-373)

post-transcriptionally regulates large tumor suppressor, homolog 2(LATS2)and stimulates proliferation in human esophageal cancer[J]. Exp Cell Res,2009,315(15):2529-2538.

- [10] Hiyoshi Y,Kamohara H,Karashima R,et al. MicroRNA-21 regulates the proliferation and invasion in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Clin Cancer Res,2009,15(6):1915-1922.
- [11] Tian Y,Luo A,Cai Y,et al. MicroRNA-10b promotes migration and invasion through KLF4 in human esophageal cancer cell lines[J]. J Biol Chem,2010,285(11):7986-7994.
- [12] Matsushima K,Isomoto H,Kohno S,et al. MicroRNAs and esophageal squamous cell carcinoma[J]. Digestion,2010,82(3):138-144.
- [13] Wu BL,Xu LY,Du ZP,et al. MiRNA profile in esophageal squamous cell carcinoma: downregulation of miR-143 and miR-145[J]. World J Gastroenterol,2011,17(1):79-88.
- [14] Tian S,Huang S,Wu S,et al. MicroRNA-1285 inhibits the expression of p53 by directly targeting its 3' untranslated region[J]. Biochem Biophys Res Commun,2010,396(2):435-439.

(收稿日期 2012-12-07)