

本文引用: 樊 腾, 李晓芳, 沈 丹, 等. 瑞马唑仑联合胸交感神经阻滞对心肌缺血再灌注大鼠的保护作用[J]. 中国动脉硬化杂志, 2024, 32(11): 955-962. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2024.11.005.

[文章编号] 1007-3949(2024)32-11-0955-08

• 实验研究 •

## 瑞马唑仑联合胸交感神经阻滞对心肌缺血再灌注大鼠的保护作用

樊 腾, 李晓芳, 沈 丹, 张红伟, 岳修勤

新乡医学院第一附属医院麻醉与围术期医学科, 河南省新乡市 453100

**[摘要]** **[目的]** 探究瑞马唑仑(Re)联合胸交感神经阻滞(TSNB)对心肌缺血再灌注(MI/R)大鼠的保护作用。**[方法]** 将大鼠随机分为对照组、MI/R组、Re组、TSNB组和Re+TSNB组, 每组12只。除对照组外, 其余大鼠采用冠状动脉左前降支(LAD)结扎术构建MI/R模型。Re组在大鼠缺血前30 min腹腔注射20 mg/kg的Re; TSNB组在大鼠缺血前30 min在胸段硬膜外导管注射0.2%罗哌卡因50  $\mu$ L; Re+TSNB组在大鼠缺血前30 min腹腔注射20 mg/kg的Re并在胸段硬膜外导管注射0.2%罗哌卡因50  $\mu$ L; 对照组和MI/R组只注射生理盐水。对各组大鼠进行心功能和梗死面积评估, HE染色、TUNEL染色观察心肌组织病理改变和心肌细胞凋亡, 检测血清心肌损伤标志物肌酸激酶(CK)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、心肌肌钙蛋白(cTnI)水平及心肌组织炎症因子白细胞介素8(IL-8)、肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )和氧化应激因子丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)水平, 免疫印迹法检测心肌组织IL-8、TNF- $\alpha$ 、B淋巴细胞瘤2相关X蛋白(Bax)和B淋巴细胞瘤2(Bcl-2)蛋白表达水平。**[结果]** 与对照组相比, MI/R组大鼠心肌细胞水肿, 心肌纤维紊乱, 左心室发展压力(LVDP)、最大左心室压上升速率( $+dp/dt_{max}$ )和最大左心室压下降速率( $-dp/dt_{max}$ )、SOD活性、Bcl-2水平显著降低, 心肌梗死面积、细胞凋亡率、cTnI、CK、AST、IL-8、TNF- $\alpha$ 、MDA、Bax水平显著升高(均 $P<0.05$ ); 与MI/R组相比, Re组、TSNB组、Re+TSNB组大鼠心肌纤维和心肌细胞形态明显改善, LVDP、 $\pm dp/dt_{max}$ 、SOD活性、Bcl-2水平显著升高, 心肌梗死面积、细胞凋亡率、cTnI、CK、AST、IL-8、TNF- $\alpha$ 、MDA、Bax水平显著降低(均 $P<0.05$ ); 相比于Re组和TSNB组, Re+TSNB组LVDP、 $\pm dp/dt_{max}$ 、SOD活性、Bcl-2水平显著升高, 心肌梗死面积、细胞凋亡率、cTnI、CK、AST、IL-8、TNF- $\alpha$ 、MDA、Bax水平明显降低(均 $P<0.05$ )。**[结论]** Re联合TSNB可能通过减少心肌细胞凋亡, 抑制炎症反应和氧化应激, 对MI/R损伤的心肌发挥保护作用。

**[关键词]** 瑞马唑仑; 胸交感神经阻滞; 心肌缺血再灌注; 心肌细胞凋亡; 氧化应激

**[中图分类号]** R5

**[文献标识码]** A

### The protective effect of remimazolam combined with thoracic sympathetic nerve block on myocardial ischemia/reperfusion rats

FAN Teng, LI Xiaofang, SHEN Dan, ZHANG Hongwei, YUE Xiuqin

Department of Anesthesiology and Perioperative Medicine, the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College, Xinxiang, Henan 453100, China

**[ABSTRACT]** **Aim** To investigate the protective effect of remimazolam (Re) combined with thoracic sympathetic nerve block (TSNB) on myocardial ischemia/reperfusion (MI/R) rats. **Methods** Rats were randomly separated into control group, MI/R group, Re group, TSNB group, and Re+TSNB group, with 12 rats in each group. Except for the control group, the remaining rats were subjected to left anterior descending coronary artery (LAD) ligation to construct an MI/R model. In the Re group, 20 mg/kg Re was intraperitoneally injected 30 min before ischemia. In TSNB group, 0.2% ropivacaine 50  $\mu$ L was injected into the thoracic epidural catheter 30 min before ischemia. In the Re+TSNB group,

**[收稿日期]** 2024-04-18

**[修回日期]** 2024-08-29

**[基金项目]** 新乡医学院第一附属医院青年培育基金项目(QN-2022-B05); 河南省医学教育研究项目(WjLx2021358)

**[作者简介]** 樊腾, 硕士, 主治医师, 研究方向为胸交感神经阻滞联合瑞马唑仑对大鼠心肌缺血再灌注损伤的影响, E-mail: b10qin@163.com. 通信作者岳修勤, 博士, 主任医师, 硕士研究生导师, 主要研究方向为围术期器官保护和临床麻醉教育, E-mail: o20hbo@163.com.

20 mg/kg Re was intraperitoneally injected and 0.2% ropivacaine 50  $\mu$ L was injected into the thoracic epidural catheter 30 min before ischemia. The control group and MI/R group were injected with normal saline only. Rats in each group were evaluated for cardiac function and infarct size. HE staining and TUNEL staining were applied to observe pathological changes in myocardial tissue and myocardial cell apoptosis. Serum myocardial injury markers creatine kinase (CK) and aspartate transaminase (AST), cardiac troponin (cTnI), myocardial inflammatory factors interleukin-8 (IL-8), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), and oxidative stress factors malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD) were detected. Western blot was applied to detect the expression of IL-8, TNF- $\alpha$ , B lymphoblastoma-2-associated X protein (Bax), and B-lymphoblastoma-2 (Bcl-2) in myocardial tissue.

**Results** Compared with the control group, the myocardial cells of rats showed edema and myocardial fiber disorder in the MI/R group, the left ventricular developmental pressure (LVDP), maximal left ventricular pressure rising rate ( $+dp/dt_{\max}$ ), maximal left ventricular pressure decreasing rate ( $-dp/dt_{\max}$ ), SOD activity, and level of Bcl-2 were significantly reduced, the myocardial infarction area, cell apoptosis rate, levels of cTnI, CK, AST, IL-8, TNF- $\alpha$ , MDA, and Bax were increased ( $P<0.05$ ). Compared with the MI/R group, the morphology of myocardial fibers and myocardial cells was significantly improved in the Re group, TSNB group and Re+TSNB group, the LVDP,  $\pm dp/dt_{\max}$ , SOD activity, and level of Bcl-2 were significantly increased, the myocardial infarction area, cell apoptosis rate, levels of cTnI, CK, AST, IL-8, TNF- $\alpha$ , MDA, and Bax were significantly decreased ( $P<0.05$ ). Compared with the Re group and TSNB group, the LVDP,  $\pm dp/dt_{\max}$ , SOD activity, and level of Bcl-2 were significantly increased in the Re+TSNB group, the myocardial infarction area, cell apoptosis rate, levels of cTnI, CK, AST, IL-8, TNF- $\alpha$ , MDA, and Bax were significantly decreased (all  $P<0.05$ ).

**Conclusion** The combination of Re and TSNB may protect against MI/R injury by reducing myocardial infarction and myocardial cell apoptosis, and inhibiting inflammatory response and oxidative stress.

[**KEY WORDS**] remimazolam; thoracic sympathetic nerve block; myocardial ischemia/reperfusion; myocardial cell apoptosis; oxidative stress

缺血性心脏病(包括急性心肌梗死)具有高发病率和死亡率高死亡的特点,是世界范围内的主要死亡原因之一<sup>[1]</sup>。及时有效地恢复缺血心肌细胞的再灌注,可显著降低心肌梗死的程度,恢复心功能,甚至改善患者预后。但再灌注也可导致进一步的心肌缺血再灌注(myocardial ischemia/reperfusion, MI/R)损伤,诱发心力衰竭和内皮微血管功能障碍,对其他心肌组织有更严重的不良影响<sup>[2]</sup>。目前 MI/R 损伤的发生率超过 30%,并直接导致不良心血管事件,其病理生理过程可能与氧化应激、细胞内钙超载和过度收缩、炎症、细胞凋亡、心肌代谢改变等有关<sup>[3]</sup>,其具体机制仍待深入研究,拮抗 MI/R 损伤的新策略仍待进一步探索,以改善缺血性心脏病患者的临床预后。瑞马唑仑(remimazolam, Re)是一种新型的超短效苯二氮卓类药物,具有可靠的应用安全性和较小的血流动力学影响,可以最大限度地减少呼吸抑制和血压紊乱<sup>[4]</sup>。Re 能够减轻多种疾病损伤,研究发现,Re 可通过抑制巨噬细胞炎症来减轻 MI/R 损伤<sup>[5]</sup>。但 Re 作为麻醉药物,治疗 MI/R 损伤的效果有限,且可能周期较长。因此,需联合其他方法共同拮抗 MI/R 损伤,以提高治疗效率。研究表明,交感神经的激活和周围循环儿茶酚胺释放的增加可阻碍心肌微血管的生长和灌注<sup>[6]</sup>。低浓度的局部麻醉剂经胸硬膜外注入可引起胸交感神

经阻滞(thoracic sympathetic nerve block, TSNB),减少心脏交感神经活动,降低心率和改善室功能障碍<sup>[7]</sup>。已有研究发现,高 TSNB 可改善慢性心力衰竭患者冠状动脉微循环障碍,有助于逆转心肌重构和功能障碍<sup>[8]</sup>。因此,推测 TSNB 可能对 MI/R 损伤有拮抗作用。本研究通过构建 MI/R 损伤大鼠,探究 Re 联合 TSNB 对 MI/R 损伤的影响,为缺血性心脏病的治疗提供新的方向。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料

选用 6~8 周龄雄性 Sprague-Dawley 大鼠,由郑州市惠济区华兴实验动物养殖场[生产许可 SCXK(豫)2019-0002]提供,饲养于环境温度为  $(25\pm 1)^{\circ}\text{C}$ ,湿度  $(55\%\pm 5\%)$ ,光照-黑暗循环 12 h,给大鼠喂食正常食物,并随意饮水。实验均在河南希诺谷生物科技有限公司动物护理与使用委员会监督下进行。本实验经河南希诺谷生物科技有限公司动物伦理委员会批准。

### 1.2 主要试剂与仪器

瑞马唑仑(宜昌人福药业有限责任公司);罗哌卡因(辰欣药业股份有限公司);TTC 染色液(上海神经化学科技有限公司);HE 试剂盒、二抗(武汉博

士德生物工程有限公司);TUNEL 试剂盒及丙二醛(malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)试剂盒(上海康朗生物科技有限公司);心肌肌钙蛋白(cardiac troponin, cTnI)试剂盒(武汉益普生物科技有限公司);白细胞介素 8(interleukin-8, IL-8)、肿瘤坏死因子  $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) ELISA 试剂盒(上海羽喏生物科技有限公司);一抗 IL-8、TNF- $\alpha$ 、B 淋巴细胞瘤 2 相关 X 蛋白(B lymphoblastoma-2-associated X protein, Bax)、B 淋巴细胞瘤 2(B lymphoblastoma-2, Bcl-2)和  $\beta$  肌动蛋白( $\beta$ -actin)(英国 Abcam 公司)。

多道生理信号采集处理系统(成都仪器厂);动物呼吸机(成都泰盟软件有限公司);光学显微镜(德国徕卡公司);电泳仪(上海天能科技公司);酶标仪(瑞孚迪生物医药公司)。

### 1.3 MI/R 模型构建

采用冠状动脉左前降支(left anterior descending, LAD)结扎术构建 MI/R 模型大鼠<sup>[9]</sup>, 50 mg/kg 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉大鼠,使用动物呼吸机插管对大鼠进行机械通气,在左侧胸骨边缘的第三和第四肋间打开胸腔,暴露心脏,打开心包,揭开脂肪垫。暴露左心耳后,用 6-0 丝线结扎冠状动脉左前降支,缺血 30 min 后,解除结扎再灌注 120 min。整个实验过程中通过心电图监测心脏活动,心电图显示 ST 段先升高后降低,表明模型建立成功。另随机选取对照组大鼠 12 只,只进行开胸手术,但不结扎。

### 1.4 干预方法

将造模成功的 MI/R 大鼠随机分为:MI/R 组、Re 组、TSNB 组和 Re+TSNB 组,每组 12 只。Re 组在大鼠缺血前 30 min 腹腔注射 Re 20 mg/kg<sup>[5]</sup>;TSNB 组在大鼠缺血前 30 min 进行 TSNB;Re+TSNB 组在大鼠缺血前 30 min 腹腔注射 20 mg/kg Re 并进行 TSNB;对照组和 MI/R 组只注射生理盐水。

TSNB:麻醉大鼠,在 T4-T5 间隙插入精心处理的硬膜外导管并推进至 T1。硬膜外导管通过颈部皮下隧道引入,并由颈部夹板保护。微探针温度计记录首次硬膜外注射 0.2% 罗哌卡因 50  $\mu$ L 前和 30 min 后 T1 节的皮肤温度,皮肤温度升高 0.5  $^{\circ}$ C 或更高被认为是成功地交感神经阻滞<sup>[10]</sup>。TSNB 组和 Re+TSNB 组第 2 天上午 8 时至下午 5 时,每隔 3 h 在硬膜外注射罗哌卡因。

### 1.5 心功能评估

采用 RM-6240BD 多通道生理信号系统,通过右颈总动脉将 Millar 导管插入左心室腔,监测左心室

收缩压(left ventricular systolic pressure, LVSP)、左心室舒张期末压(left ventricular end-diastolic pressure, LVEDP)、最大左心室压上升速率(maximal left ventricular pressure rising rate,  $+dp/dt_{max}$ )和最大左心室压下降速率(maximal left ventricular pressure decreasing rate,  $-dp/dt_{max}$ ),计算左心室发展压力(left ventricular developmental pressure, LVDP)=LVSP-LVEDP。

### 1.6 样本采集

心功能评估结束后,腹腔注射戊巴比妥钠麻醉大鼠,然后采用颈椎脱臼法处死,经腹主动脉取血,4  $^{\circ}$ C 3 000 r/min 离心 10 min,收集血清;然后分离心脏,取心肌组织,快速用液氮冷冻,将血清和冷冻后的组织保存在-80  $^{\circ}$ C 冷冻库中,用于后续分析和检测。

### 1.7 梗死面积评估

随机取 3 只大鼠,麻醉后结扎冠状动脉左前降支,用止血钳夹住升主动脉,从近心端缓慢注射 0.25% 伊文思蓝染液,然后分离心脏组织,冷冻 30 min 后切成 1 mm 厚的切片,与 1% 的 TTC 溶液在 37  $^{\circ}$ C 下孵育 15 min,10% 中性缓冲福尔马林在 37  $^{\circ}$ C 下孵育 90 min,观察心肌梗死区(白色区, infarction, INF)和风险区(红色区, area at risk, AAR)。梗死面积=INF 体积/AAR 体积 $\times$ 100%。

### 1.8 HE 染色

随机取 3 只大鼠心肌组织样品,4  $^{\circ}$ C 下 4% 多聚甲醛固定过夜,乙醇梯度上升脱水,室温石蜡包埋 50~60 min,将包埋的心肌组织切成 4  $\mu$ m 厚切片,室温下 0.5% 苏木精染色 5 min,伊红染色 2 min,切片在光学显微镜下观察心肌组织病理变化。

### 1.9 TUNEL 染色

取制备好的大鼠心肌组织石蜡切片,用蛋白酶 K 孵育 40 min,3% 过氧化氢溶液中室温孵育 20 min 后,与 TUNEL 反应液避光孵育 1 h。PBS 洗涤后,用链霉亲和素-HRP 和 DAB 显色液对切片进行染色,显微镜下观察心肌细胞凋亡。

### 1.10 心肌损伤标志物检测

取大鼠血清,采用全自动生物化学分析仪检测大鼠血清肌酸激酶(creatine kinase, CK)、天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate transaminase, AST)水平。血清 cTnI 水平按照 ELISA 试剂盒说明书进行检测。

### 1.11 炎症细胞因子和氧化应激水平检测

随机取 3 只大鼠心肌组织,经含 1% Triton X-100 和蛋白酶抑制剂 PBS 匀浆后,离心取上清,用 ELISA 试剂盒测定 IL-8 和 TNF- $\alpha$  水平,MDA 水平和 SOD 活性按照相应试剂盒说明书检测。



### 1.12 蛋白表达检测

取剩余3只大鼠心肌组织,用RIPA缓冲液提取心肌总蛋白,在4℃下以12 000 r/min离心15 min后,收集上清液。用BCA蛋白测定试剂盒测定蛋白浓度,在100℃下热变性10 min,然后用SDS-PAGE分离蛋白,转移到PVDF膜上。用脱脂奶粉阻断膜后,用一抗IL-8、TNF- $\alpha$ 、Bax、Bcl-2和 $\beta$ -actin在4℃下孵育过夜。TBST洗涤后,用山羊抗兔二抗在37℃下孵育1 h,然后用化学发光底物孵育,利用Image J软件对蛋白定量。

### 1.13 统计学处理

采用SPSS 26.0软件进行统计学分析,数据采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用SNK- $q$ 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组大鼠心功能比较

与对照组相比,MI/R组大鼠LVDP、 $\pm dp/dt_{\max}$ 降低了46.99%、43.57%、47.57% (均 $P<0.05$ );与MI/R组相比,Re组、TSNB组、Re+TSNB组大鼠LVDP升高了43.43%、40.15%、67.24%, $\pm dp/dt_{\max}$ 升高了20.18%、21.46%、55.75%, $-dp/dt_{\max}$ 升高了39.00%、45.73%、68.58% (均 $P<0.05$ );相比于

Re组和TSNB组,Re+TSNB组LVDP升高了16.60%、19.32%, $\pm dp/dt_{\max}$ 升高了29.60%、28.24%, $-dp/dt_{\max}$ 升高了21.28%、15.68% (均 $P<0.05$ ;表1)。

表1. 各组大鼠心功能指标比较( $n=12$ )

Table 1. Comparison of cardiac function indexes in each group ( $n=12$ )

分组	LVDP/mmHg	$\pm dp/dt_{\max}/$ (mmHg/s)	$-dp/dt_{\max}/$ (mmHg/s)
对照组	82.74 $\pm$ 8.69	4 973.28 $\pm$ 513.91	4 169.40 $\pm$ 453.83
MI/R组	43.86 $\pm$ 4.73 <sup>a</sup>	2 806.51 $\pm$ 369.84 <sup>a</sup>	2 185.96 $\pm$ 262.58 <sup>a</sup>
Re组	62.91 $\pm$ 6.83 <sup>b</sup>	3 372.85 $\pm$ 351.97 <sup>b</sup>	3 038.46 $\pm$ 329.97 <sup>b</sup>
TSNB组	61.47 $\pm$ 6.58 <sup>b</sup>	3 408.72 $\pm$ 375.90 <sup>b</sup>	3 185.62 $\pm$ 383.49 <sup>b</sup>
Re+TSNB组	73.35 $\pm$ 7.92 <sup>bcd</sup>	4 371.26 $\pm$ 452.38 <sup>bcd</sup>	3 685.17 $\pm$ 395.73 <sup>bcd</sup>

注:a为 $P<0.05$ ,与对照组比较;b为 $P<0.05$ ,与MI/R组比较;c为 $P<0.05$ ,与Re组比较;d为 $P<0.05$ ,与TSNB组比较。

### 2.2 各组大鼠心肌梗死面积比较

各组大鼠AAR差异无显著性( $P>0.05$ )。对照组大鼠未发生心肌梗死;与MI/R组相比,Re组、TSNB组、Re+TSNB组大鼠梗死面积降低了49.67%、53.56%、73.94% ( $P<0.05$ );相比于Re组和TSNB组,Re+TSNB组梗死面积降低了48.22%、43.88% ( $P<0.05$ ;图1)。

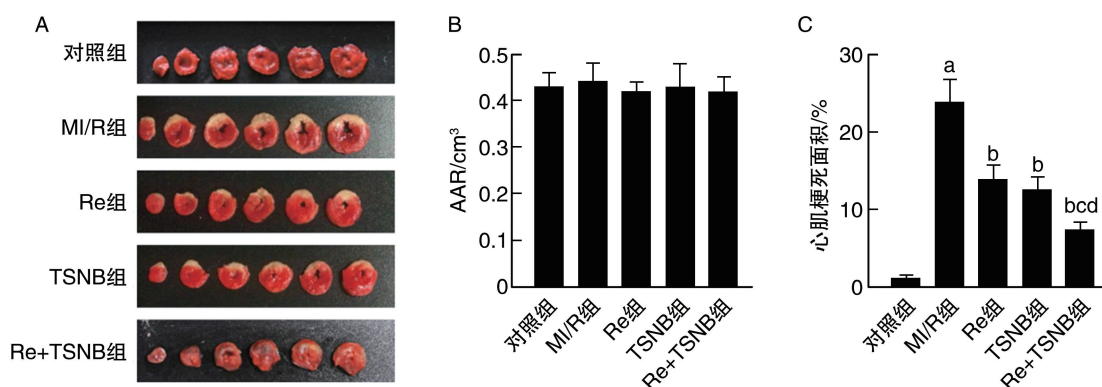


图1. 各组大鼠心肌组织梗死情况( $n=3$ )

A为TTC和伊文思蓝染色检测心肌梗死;B为各组大鼠心肌AAR面积比较;C为各组大鼠心肌梗死面积比较。

a为 $P<0.05$ ,与对照组比较;b为 $P<0.05$ ,与MI/R组比较;c为 $P<0.05$ ,与Re组比较;d为 $P<0.05$ ,与TSNB组比较。

Figure 1. Myocardial infarction of rats in each group ( $n=3$ )

### 2.3 各组大鼠心肌组织病理改变和心肌细胞凋亡比较

对照组大鼠心肌组织形态基本正常,心肌细胞结构清晰,排列整齐;MI/R组心肌细胞水肿、核溶解,心肌纤维紊乱,炎症细胞大量浸润;Re组、TSNB

组、Re+TSNB组心肌纤维和心肌细胞形态明显改善,炎症细胞浸润减少,其中Re+TSNB组改善最明显。与对照组相比,MI/R组大鼠心肌细胞凋亡率升高了643.46% ( $P<0.05$ );与MI/R组相比,Re组、TSNB组、Re+TSNB组心肌细胞凋亡率降低了



53.71%、51.70%、77.75% (均  $P<0.05$ ); 相比于 Re 组和 TSNB 组, Re+TSNB 组心肌细胞凋亡率降低了 51.93%、53.94% (均  $P<0.05$ ; 图 2)。

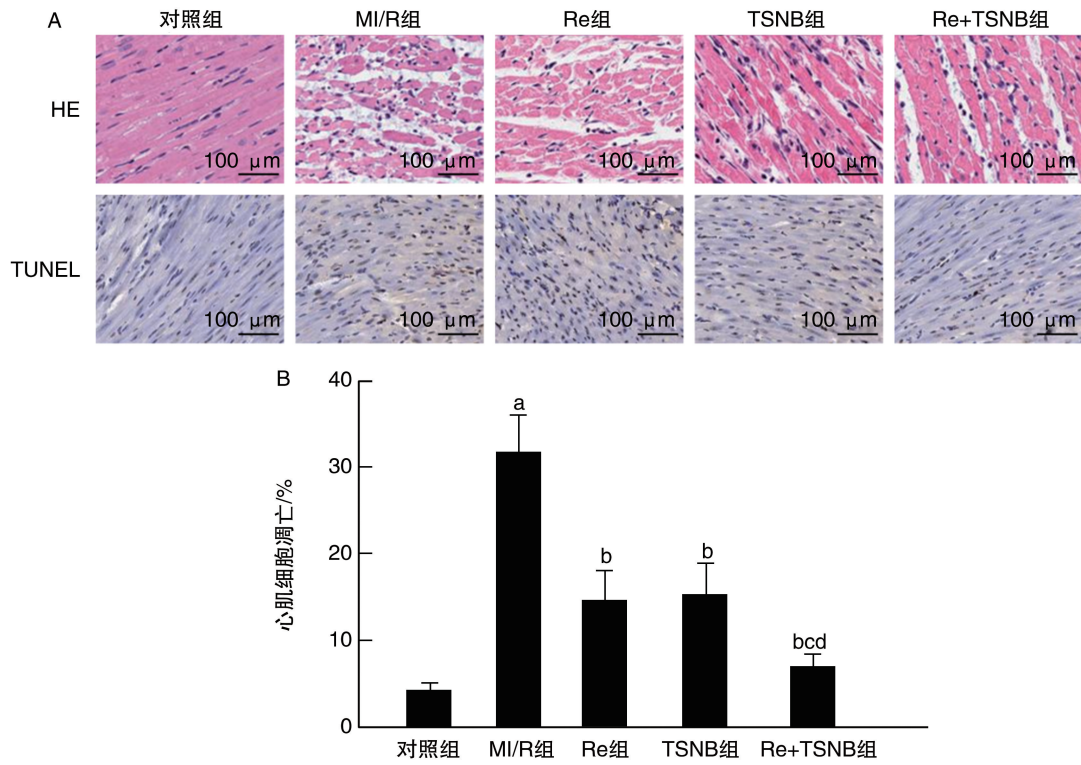


图 2. 各组大鼠心肌组织病理改变和心肌细胞凋亡比较

A 为 HE 染色和 TUNEL 染色检测心肌组织病理改变和凋亡; B 为各组大鼠心肌细胞凋亡水平比较 ( $n=3$ )。  
a 为  $P<0.05$ , 与对照组比较; b 为  $P<0.05$ , 与 MI/R 组比较; c 为  $P<0.05$ , 与 Re 组比较; d 为  $P<0.05$ , 与 TSNB 组比较。

Figure 2. Comparison of pathological changes of myocardial tissue and apoptosis of cardiomyocytes in each group

#### 2.4 各组大鼠心肌损伤标志物比较

与对照组相比, MI/R 组大鼠 cTnI、CK、AST 水平升高了 103.68%、249.30%、89.29% (均  $P<0.05$ ); 与 MI/R 组相比, Re 组、TSNB 组、Re+TSNB 组大鼠 cTnI 水平降低了 32.45%、30.29%、44.38%, CK 水平降低了 45.92%、43.88%、62.70%, AST 水平降低了 28.69%、26.07%、42.62% (均  $P<0.05$ ); 相比于 Re 组和 TSNB 组, Re+TSNB 组 cTnI 水平降低了 17.85%、20.22%, CK 水平降低了 31.02%、33.53%, AST 水平降低了 19.54%、22.39% (均  $P<0.05$ ; 表 2)。

#### 2.5 各组大鼠炎症和氧化应激指标比较

与对照组相比, MI/R 组大鼠血清 IL-8、TNF- $\alpha$ 、MDA 水平升高了 247.94%、233.81%、117.15%, SOD 活性降低了 36.20% (均  $P<0.05$ ); 与 MI/R 组相比, Re 组、TSNB 组、Re+TSNB 组大鼠血清 IL-8 水平降低了 39.68%、38.32%、62.33%, TNF- $\alpha$  水平降低了 41.55%、37.26%、61.90%, MDA 水平降低

了 23.43%、20.50%、41.61%, SOD 活性升高了 24.83%、24.41%、41.86% (均  $P<0.05$ ); 相比于 Re 组和 TSNB 组, Re + TSNB 组 IL-8 水平降低了 37.55%、38.92%, TNF- $\alpha$  水平降低了 34.81%、39.26%, MDA 水平降低了 23.75%、26.56%, SOD 活性升高了 13.64%、14.02% (均  $P<0.05$ ; 表 3)。

表 2. 各组大鼠心肌损伤标志物比较 ( $n=12$ )  
Table 2. Comparison of myocardial injury markers in each group ( $n=12$ )

分组	cTnI/(ng/L)	CK/(U/L)	AST/(U/L)
对照组	134.93±17.91	43.85±1.29	3.83±0.62
MI/R 组	274.82±29.57 <sup>a</sup>	153.17±17.35 <sup>a</sup>	7.25±0.84 <sup>a</sup>
Re 组	185.63±19.71 <sup>b</sup>	82.83±9.51 <sup>b</sup>	5.17±0.61 <sup>b</sup>
TSNB 组	191.58±22.09 <sup>b</sup>	85.96±9.49 <sup>b</sup>	5.36±0.68 <sup>b</sup>
Re+TSNB 组	152.85±17.91 <sup>bcd</sup>	57.14±6.08 <sup>bcd</sup>	4.16±0.53 <sup>bcd</sup>

注: a 为  $P<0.05$ , 与对照组比较; b 为  $P<0.05$ , 与 MI/R 组比较; c 为  $P<0.05$ , 与 Re 组比较; d 为  $P<0.05$ , 与 TSNB 组比较。

表 3. 各组大鼠炎症和氧化应激指标比较( $n=3$ )  
Table 3. Comparison of inflammation and oxidative stress indexes in each group( $n=3$ )

分组	IL-8/(ng/L)	TNF- $\alpha$ /(ng/L)	MDA/(mol/L)	SOD/(U/mL)
对照组	40.63 $\pm$ 4.85	55.31 $\pm$ 5.82	5.19 $\pm$ 0.82	135.29 $\pm$ 16.71
MI/R 组	141.37 $\pm$ 15.36 <sup>a</sup>	184.63 $\pm$ 19.82 <sup>a</sup>	11.27 $\pm$ 1.45 <sup>a</sup>	86.32 $\pm$ 9.96 <sup>a</sup>
Re 组	75.28 $\pm$ 7.94 <sup>b</sup>	107.92 $\pm$ 15.16 <sup>b</sup>	8.63 $\pm$ 0.95 <sup>b</sup>	110.75 $\pm$ 12.61 <sup>b</sup>
TSNB 组	77.19 $\pm$ 7.68 <sup>b</sup>	115.83 $\pm$ 15.39 <sup>b</sup>	8.96 $\pm$ 1.08 <sup>b</sup>	107.39 $\pm$ 11.58 <sup>b</sup>
Re+TSNB 组	53.26 $\pm$ 5.91 <sup>bcd</sup>	78.35 $\pm$ 8.42 <sup>bcd</sup>	6.58 $\pm$ 0.71 <sup>bcd</sup>	122.45 $\pm$ 13.91 <sup>bcd</sup>

注:a 为  $P<0.05$ ,与对照组比较;b 为  $P<0.05$ ,与 MI/R 组比较;c 为  $P<0.05$ ,与 Re 组比较;d 为  $P<0.05$ ,与 TSNB 组比较。

2.6 各组大鼠炎症和凋亡蛋白表达比较

与对照组相比,MI/R 组大鼠 IL-8、TNF- $\alpha$ 、Bax 表达升高了 200.00%、312.00%、309.09%,Bcl-2 表达降低了 63.44% (均  $P<0.05$ );与 MI/R 组相比,Re 组、TSNB 组、Re+TSNB 组大鼠 IL-8 表达降低了 36.45%、34.38%、56.25%,TNF- $\alpha$  表达降低了 44.66%、41.75%、68.93%,Bax 表达降低了

40.00%、43.33%、61.11%,Bcl-2 表达升高了 61.76%、64.71%、138.24% (均  $P<0.05$ );相比于 Re 组和 TSNB 组,Re+TSNB 组 IL-8 表达降低了 31.15%、33.33%,TNF- $\alpha$  表达降低了 43.86%、46.67%,Bax 表达降低了 35.19%、31.37%,Bcl-2 表达升高了 47.27%、44.64% (均  $P<0.05$ ;图 3)。

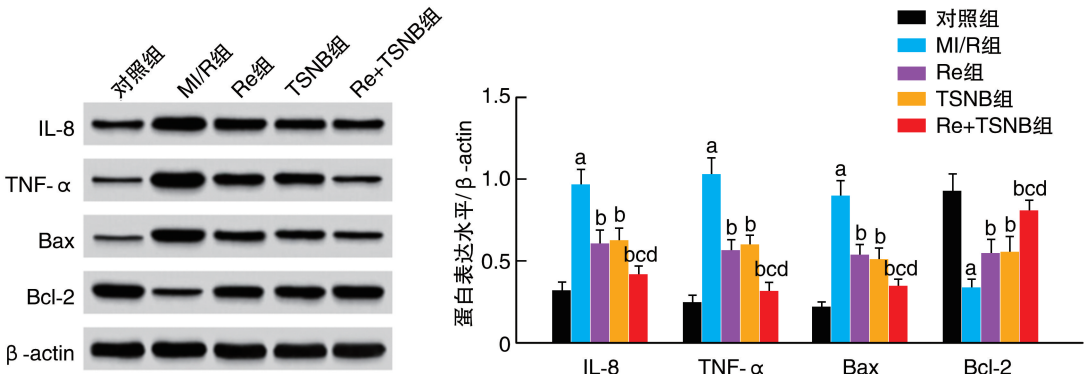


图 3. 各组大鼠炎症和凋亡蛋白表达比较( $n=3$ )  
a 为  $P<0.05$ ,与对照组比较;b 为  $P<0.05$ ,与 MI/R 组比较;c 为  $P<0.05$ ,与 Re 组比较;d 为  $P<0.05$ ,与 TSNB 组比较。

Figure 3. Comparison of expression of inflammatory and apoptotic proteins in each group( $n=3$ )

3 讨论

冠状动脉阻塞引起的缺血性心脏病已影响到世界总人口的 1.72%,且其发病率在世界范围内不断增加<sup>[1]</sup>。再灌注治疗是一把双刃剑,可以恢复冠状动脉血流,防止缺血心肌细胞损伤,但也会对心肌细胞造成额外损伤,称为 MI/R 损伤。MI/R 损伤的临床症状包括再灌注性心律失常、心力衰竭,甚至心源性猝死<sup>[3]</sup>。因此,减少 MI/R 损伤对改善心肌缺血患者的治疗和预后至关重要。MI/R 会导致不可逆的心肌损伤,影响心功能和血流动力学。心肌舒张和收缩功能的下降将直接影响心脏泵血和血流动力学功能,LVDP、 $\pm dp/dt_{max}$  是临床监测心功

能最常用的指标,可准确反映心脏功能和血流动力学的变化<sup>[11]</sup>。有研究表明,急性心肌缺血时,心肌细胞破裂,通透性增加,AST、CK、cTnI 从细胞渗漏到血清中,引发一系列后续病理反应<sup>[12]</sup>。本研究通过结扎 LAD 法构建 MI/R 损伤大鼠模型,发现大鼠心肌细胞水肿,心肌纤维紊乱,LVDP、 $\pm dp/dt_{max}$  显著降低,心肌梗死面积增加,心肌损伤标志物 AST、CK、cTnI 增加,提示 MI/R 损伤大鼠模型构建成功,大鼠出现心功能障碍和心肌梗死,出现严重心肌损伤。

研究表明,MI/R 损伤的主要影响因素是心肌氧化应激、炎症和心肌细胞凋亡<sup>[13-14]</sup>。炎症是推动 MI/R 损伤病理生理进展的重要因素,MI/R 损伤可

导致大量的炎症细胞因子如 IL-8、TNF- $\alpha$  的产生,刺激内皮细胞和中性粒细胞产生黏附分子,引起和加重包括心肌细胞凋亡在内的心肌损伤<sup>[13]</sup>。氧化应激也是 MI/R 损伤的重要影响因素,过多的活性氧的产生会破坏氧化和抗氧化系统之间的平衡,最终导致细胞凋亡、坏死和炎症,其中 MDA 和 SOD 分别反映脂质过氧化和抗氧化水平<sup>[15]</sup>。细胞凋亡是 MI/R 损伤造成心肌梗死的重要机制,细胞凋亡由凋亡相关蛋白调控,Bcl-2 和 Bax 是 Bcl-2 家族成员,与凋亡信号传导相关,Bcl-2 上调,Bax 下调,细胞凋亡被抑制<sup>[13,15]</sup>。因此,减少炎症反应、氧化应激和细胞凋亡可以保护心肌细胞免受 MI/R 损伤的影响。本研究发现,MI/R 大鼠心肌细胞凋亡增加,炎症因子和氧化应激指标升高,提示 MI/R 大鼠心肌组织发生严重的炎症反应和氧化应激,促进心肌细胞凋亡,造成心肌损伤。

Re 广泛用于全身麻醉和 ICU 镇静,对脑、肝、肺等多个器官具有保护作用。研究发现,Re 能够减轻急性肾损伤后的炎症反应和肾纤维化<sup>[16]</sup>。Re 还能通过降低炎症因子的表达,改善脑缺血再灌注损伤后大鼠神经功能障碍,减少梗死面积<sup>[17]</sup>。此外,Re 在猪心脏骤停和复苏模型中,通过抑制炎症、氧化应激、细胞凋亡和坏死,减轻复苏后脑损伤和神经功能障碍<sup>[18]</sup>。Re 在 MI/R 损伤中的作用已有报道,能够通过抑制炎症、氧化应激或铁死亡,来减轻 MI/R 损伤<sup>[5,19]</sup>。本研究发现,Re 预处理 MI/R 大鼠心肌损伤减轻,心功能有所恢复,心肌梗死面积和细胞凋亡水平下降,炎症反应和氧化应激被抑制,提示 Re 可能对 MI/R 损伤大鼠心肌有保护作用。但 Re 治疗 MI/R 损伤的效果可能不太理想,对 MI/R 造成的心肌损伤难以逆转,限制其在心血管疾病的临床应用。TSNB 为一种麻醉技术,可以预防胸外科术后持续疼痛,还可以治疗神经性疼痛疾病,如复杂区域疼痛综合征、幻肢痛、疱疹后神经痛和缺血性血管疾病<sup>[20]</sup>。交感神经系统的慢性激活会对心功能产生不良影响,TSNB 能够阻断心脏交感神经,扩张胸部血管,改善心肌的血流量、供氧和能量代谢,可用于心血管相关疾病的治疗<sup>[8]</sup>。Wink 等<sup>[21]</sup>发现 TSNB 对缺血性心脏病的神经元及心功能有保护作用;Li 等<sup>[22]</sup>也发现,TSNB 对瓣膜功能障碍心力衰竭患者有较好的治疗作用。此外,TSNB 对 MI/R 损伤的拮抗作用已有报道<sup>[23]</sup>。本研究发现,TSNB 预处理能够减轻 MI/R 大鼠心肌损伤,抑制炎症反应和氧化应激,减少心肌细胞凋亡。但 TSNB 在治疗缺血性心脏病时可能会出现血流动力

学不稳定<sup>[21]</sup>。因此,本研究采用 Re 联合 TSNB 干预 MI/R 大鼠,发现二者联合应用可使心功能明显改善,心肌梗死、炎症和氧化应激进一步得到抑制,显著改善 MI/R 损伤。

综上所述,Re 联合 TSNB 可能通过减少心肌梗死和心肌细胞凋亡,抑制炎症反应和氧化应激,发挥对 MI/R 损伤的拮抗作用,更深入的机制有待进一步探究。

#### [参考文献]

- [1] SOLOLA NUSSBAUM S, HENRY S, YONG C M, et al. Sex-specific considerations in the presentation, diagnosis, and management of ischemic heart disease: JACC focus seminar 2/7 [J]. J Am Coll Cardiol, 2022, 79 (14): 1398-1406.
- [2] LIU Y, LI L, WANG Z, et al. Myocardial ischemia-reperfusion injury; Molecular mechanisms and prevention [J]. Microvasc Res, 2023, 149: 104565.
- [3] WEI T, LI J, FU G, et al. Simvastatin improves myocardial ischemia reperfusion injury through KLF-regulated alleviation of inflammation [J]. Dis Markers, 2022, 2022: 7878602.
- [4] KIM K M. Remimazolam: pharmacological characteristics and clinical applications in anesthesiology [J]. Anesth Pain Med (Seoul), 2022, 17(1): 1-11.
- [5] XU H, CHEN Y, XIE P, et al. Remimazolam attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury by inhibiting the NF- $\kappa$ B pathway of macrophage inflammation [J]. Eur J Pharmacol, 2024, 965: 176276.
- [6] GRONDA E, DUSI V, D'ELIA E, et al. Sympathetic activation in heart failure [J]. Eur Heart J Suppl, 2022, 24 (Suppl E): E4-E11.
- [7] SUN G, LIU F, QU R. Effect of high thoracic sympathetic nerve block on serum collagen biomarkers in patients with chronic heart failure [J]. Cardiology, 2017, 136 (2): 102-107.
- [8] SUN G, LIU F, XIU C. High thoracic sympathetic block improves coronary microcirculation disturbance in rats with chronic heart failure [J]. Microvasc Res, 2019, 122: 94-100.
- [9] 陈兴华, 韩露, 贡鸣, 等. 落新妇苷对大鼠心肌缺血再灌注损伤的影响及机制 [J]. 中国药房, 2023, 34 (10): 1193-1198, 1203.  
CHEN X H, HAN L, GONG M, et al. Effects and mechanism of astilbin on myocardial ischemia-reperfusion injury in rats [J]. China Pharm, 2023, 34 (10): 1193-1198, 1203.
- [10] 于世寰, 刘凤岐, 张春玲, 等. 胸交感神经阻滞对低氧性肺动脉高压大鼠的影响 [J]. 中国急救医学, 2017,



- 37(8): 742-745, 777.
- YU S H, LIU F Q, ZHANG C L, et al. Effect of thoracic sympathetic blockade on hypoxic pulmonary arterial hypertension in rats[J]. Chin J Crit Care Med, 2017, 37(8): 742-745, 777.
- [11] SUN L, LU W X, LI H, et al. Total saponins of *Aralia elata* (Miq.) Seem. alleviate myocardial ischemia-reperfusion injury by promoting NLRP3-inflammasome inactivation via PI3K/Akt signaling[J]. Kaohsiung J Med Sci, 2023, 39(3): 290-301.
- [12] ZHANG D Z, JIA M Y, WEI H Y, et al. Systematic review and Meta-analysis of the interventional effects of resveratrol in a rat model of myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. Front Pharmacol, 2024, 15: 1301502.
- [13] ZHANG Q, PENG Y, LIU J, et al. 7-Hydroxyflavone alleviates myocardial ischemia/reperfusion injury in rats by regulating inflammation [J]. Molecules, 2022, 27(17): 5371.
- [14] 王盛华, 黄庆先, 李庆丰. 阿芬太尼调节 SphK1/S1P 信号通路保护心肌缺血再灌注损伤大鼠[J]. 中国动脉硬化杂志, 2024, 32(5): 402-409.
- WANG S H, HUANG Q X, LI Q F. The protective effect of alfentanil on myocardial ischemia-reperfusion injury in rats by regulating the SphK1/S1P signaling pathway[J]. Chin J Arterioscler, 2024, 32(5): 402-409.
- [15] LIAO B, HAN Z. Roflumilast reduces myocardial ischemia reperfusion injury *in vivo* and *in vitro* by activating the AMPK signaling pathway[J]. Exp Ther Med, 2023, 25(6): 302.
- [16] SONG J, YU W, CHEN S, et al. Remimazolam attenuates inflammation and kidney fibrosis following folic acid injury [J]. Eur J Pharmacol, 2024, 966: 176342.
- [17] SHI M, CHEN J, LIU T, et al. Protective effects of remimazolam on cerebral ischemia/reperfusion injury in rats by inhibiting of NLRP3 inflammasome-dependent pyroptosis [J]. Drug Des Devel Ther, 2022, 16: 413-423.
- [18] SHEN R, LIU Z, FEI L, et al. Remimazolam improves the markers of postresuscitation cerebral injury in a swine model of cardiac arrest[J]. Shock, 2024, 61(5): 783-790.
- [19] 王德勇, 涂英兵, 袁娟, 等. 基于 PERK/Nrf2/HO-1 信号通路研究瑞马唑仑对心肌缺血再灌注损伤大鼠铁死亡的影响[J]. 现代生物医学进展, 2023, 23(23): 4427-4433.
- WANG D Y, TU Y B, YUAN J, et al. Effect of remazolam on ferroptosis in rats with myocardial ischemia-reperfusion injury was studied based on PERK/Nrf2/HO-1 signaling pathway[J]. Prog Mod Biomed, 2023, 23(23): 4427-4433.
- [20] HAN J W, AHN S, JEONG J Y, et al. Use of thoracoscopy for thoracic sympathetic nerve block in primary hyperhidrosis[J]. Sci Rep, 2023, 13(1): 1402.
- [21] WINK J, VEERING B T, AARTS L P H J, et al. Effects of thoracic epidural anesthesia on neuronal cardiac regulation and cardiac function[J]. Anesthesiology, 2019, 130(3): 472-491.
- [22] LI D, LIU W, MA D, et al. An effective treatment for heart failure caused by valvular heart diseases: thoracic sympathetic block[J]. J Invest Surg, 2018, 31(3): 236-240.
- [23] 樊腾, 李晓芳, 张红伟, 等. 胸交感神经阻滞对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 新乡医学院学报, 2016, 33(10): 845-848.
- FAN T, LI X F, ZHANG H W, et al. Protective effect of thoracic sympathetic nerve block on myocardial ischemia-reperfusion injury in rats [J]. J Xinxiang Med Univ, 2016, 33(10): 845-848.

(此文编辑 许雪梅)