

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2021.20.010
文章编号: 1005-8982 (2021) 20-0053-05

实验研究·论著

星状神经节阻滞术对大鼠急性心肌梗死后炎症反应的影响

徐瞳, 冯作炫, 周凡, 朱艺霞, 王明虹

(宁德市医院 麻醉科, 福建 宁德 352100)

摘要: **目的** 探讨星状神经节阻滞术(SGB)对大鼠急性心肌梗死(AMI)后心肌细胞炎症的保护作用。**方法** 选取8周龄雄性SPF级Wistar大鼠60只, 体重200~250 g, 随机分为假手术组、AMI组和SGB组, 每组20只。假手术组只打开胸腔暴露心脏, 不结扎冠状动脉; AMI组结扎冠状动脉左前降支复制AMI模型; SGB组在AMI模型复制成功后行SGB。模型复制成功后1周采集各组大鼠血清及心脏组织, qRT-PCR检测各组大鼠心肌组织中炎症因子(IL-6、IL-1 β 及TNF- α) mRNA; 酶联免疫吸附试验检测各组大鼠血清中炎症因子(IL-6、IL-1 β 及TNF- α), 全自动生化分析仪检测各组大鼠血清中心肌酶(AST、LDH和CK-MB)。**结果** 各组大鼠心肌组织中炎症因子IL-6、IL-1 β 及TNF- α mRNA相对表达量比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$), SGB组IL-6、IL-1 β 及TNF- α mRNA的相对表达量均较AMI组降低($P < 0.05$)。各组大鼠血清中炎症因子IL-6、IL-1 β 及TNF- α 表达水平比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$), AMI组、SGB组IL-6、IL-1 β 及TNF- α 表达水平较假手术组升高($P < 0.05$), SGB组IL-6、IL-1 β 及TNF- α 表达水平较AMI组降低($P < 0.05$)。各组大鼠血清AST、LDH及CK-MB表达水平比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$), AMI组、SGB组AST、LDH及CK-MB表达水平较假手术组升高($P < 0.05$), SGB组AST、LDH和CK-MB表达水平较AMI组降低($P < 0.05$)。**结论** SGB对大鼠AMI后心肌细胞炎症有一定的保护作用。

关键词: 心肌梗死; 星状神经节阻滞; 急性病; 炎症

中图分类号: R364.5

文献标识码: A

The effect of stellate ganglion block on inflammatory response after acute myocardial infarction in rats

Tong Xu, Zuo-xuan Feng, Fan Zhou, Yi-xia Zhu, Ming-hong Wang

(Department of Anesthesiology, Ningde Municipal Hospital, Ningde, Fujian 352100, China)

Abstract: **Objective** To explore the protective effect of stellate ganglion block (SGB) on myocardial inflammation after acute myocardial infarction (AMI) in rats. **Methods** Sixty 8-week-old male specific pathogen-free (SPF) Wistar rats, weighing 200 to 250 g, were randomly divided into three groups, each with 20 rats. For rats in the sham operation group, the chest was cut open to expose the heart without ligating the coronary arteries. The left anterior descending coronary artery was ligated for rats in AMI group. The SGB was further performed on rats in SGB group following the successful establishment of AMI model. The serum and heart tissues were collected from rats in all groups 1 week after modeling. Real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction (qRT-PCR) was used to detect the mRNA expression levels of inflammatory factors (IL-6, IL-1 β and TNF- α) in myocardial tissues of rats in each group; enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the levels of inflammatory factors (IL-6, IL-1 β and TNF- α) in the serum of rats in each group; and the automatic biochemical

收稿日期: 2021-05-28

analyzer was used to detect the levels of myocardial enzymes (AST, LDH and CK-MB) in the serum of rats in each group. **Results** The mRNA expression levels of IL-6, IL-1 β and TNF- α in myocardial tissues were significantly different among the groups, and those in the SGB group were lower compared with the AMI group ($P < 0.05$). There were also differences in the serum levels of IL-6, IL-1 β and TNF- α among the groups ($P < 0.05$). Specifically, the serum levels of these inflammatory factors in the AMI and SGB groups were higher than those in the sham operation group, while those in the SGB group were even lower relative to the AMI group ($P < 0.05$). The serum levels of AST, LDH and CK-MB differed among the groups as well ($P < 0.05$). Compared with the sham operation group, the expression levels of these myocardial enzymes were higher in the AMI and SGB groups ($P < 0.05$), but those were even lower in the SGB group than in the AMI group ($P < 0.05$). **Conclusions** SGB plays protective roles in myocardial inflammation after AMI in rats.

Keywords: stellate ganglion block; acute myocardial infarction; inflammation

急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)是目前临床上常见的心血管疾病之一,有病情进展迅速、患者预后差、致死率较高的特点。过度炎症反应与AMI后心肌损伤、心室重构等密切相关^[1-3]。有研究发现,AMI发生后患者会出现急性炎症反应和中性粒细胞浸润,分泌大量的炎症因子,导致心肌细胞进一步受损,加重心肌组织损伤,进而导致血清心肌损伤标志物水平上升^[4-5]。有文献报道,星状神经节阻滞术(stellate ganglion block, SGB)可抑制心肌梗死后室性心律失常,且对心肌损伤有一定的保护作用^[6-7]。但SGB对心肌梗死后炎症反应的影响尚不清楚,本研究主要探讨SGB对大鼠AMI后心肌细胞炎症反应的影响及对心肌损伤的保护作用。

1 材料与方法

1.1 主要仪器和试剂

超净工作台(苏州安泰空气技术有限公司),高速冷冻离心机(德国Eppendorf公司),实时荧光定量PCR仪(上海枫岭生物技术有限公司),普通PCR仪(美国Bio-Rad公司),酶标仪(美国Molecular Devices公司),全自动生化分析仪(美国罗氏公司),Trizol(美国Invitrogen公司),逆转录试剂盒及PCR试剂盒(日本TaKaRa公司),白细胞介素6(Interleukin-6, IL-6)、白细胞介素1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和GAPDH引物(深圳华大基因科技有限公司),IL-6、IL-1 β 及TNF- α ELISA试剂盒(美国Abcam公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及处理

选取8周龄雄性SPF级

Wistar大鼠60只[实验动物生产许可证:SCXK(闽)2018-003,实验动物使用许可证:SYXK(闽)2018-009],购自于厦门大学。大鼠体重200~250 g,随机分为假手术组、AMI组和SGB组,每组20只。饲养条件:在温度为22℃恒温,湿度60%,明暗交替各12 h,自由摄食、饮水。大鼠适应环境1周后进行相应处理。假手术组只打开胸腔暴露心脏,不结扎冠状动脉;AMI组结扎冠状动脉左前降支并复制AMI模型,AMI模型复制成功的标准为心电图至少有2个相关导联ST段抬高 >0.2 mV,且可见血管结扎部位下有局部心肌缺血呈暗紫色;SGB组在AMI模型复制成功后行SGB,暴露左侧颈总动脉,在动脉分叉处的背侧面注射0.2 ml 0.25%罗哌卡因。SGB成功标准:阻滞侧约10 min后出现Horner征。造模后1周采集各组大鼠心脏组织。

1.2.2 实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 采用qRT-PCR检测各组大鼠心肌组织中炎症因子IL-6、IL-1 β 及TNF- α mRNA的水平。称取大鼠心肌组织50 mg,采用电动匀浆器将组织研磨成单细胞悬液,离心后弃上清取沉淀。采用TRIzol法提取心肌组织的总RNA,并将RNA逆转录为cDNA。以cDNA为模板进行qRT-PCR。反应体系:ddH₂O 8.9 μ l,正反向引物各0.8 μ l,SYBR Green 12.5 μ l, cDNA 2 μ l,共25 μ l。反应条件:95℃预变性5 min,95℃变性10 s,58℃退火30 s,共40个循环。IL-6、IL-1 β 及TNF- α mRNA相对表达水平以GAPDH的表达水平作为参照,2^{- $\Delta\Delta C_t$} 法计算目的基因的相对表达量。qRT-PCR引物序列见表1。

表 1 qRT-PCR引物序列

基因	引物序列	长度/ bp
IL-6	正向: 5'-GGCGGATCGGATGTTGTGAT-3'	199
	反向: 5'-GGACCCCAGACAATCGGTTG-3'	
IL-1β	正向: 5'-AGATGATAAGCCCACTCTACAG-3'	276
	反向: 5'-ACATTCAGCACAGGACTCTC-3'	
TNF-α	正向: 5'-CCCAGGTGACAAGCCTGTAG-3'	271
	反向: 5'-GATGGCAGAGAGGTTGAC-3'	
GAPDH	正向: 5'-AATGGATTTCGACGCATTGGT-3'	213
	反向: 5'-TTTGCACGTGCTACGTGTTGAT-3'	

1.2.3 酶联免疫吸附试验(enzymelinked immuno - sorbent assay, ELISA) 采用 ELISA 法检测各组大鼠血清中炎症因子 IL-6、IL-1β 及 TNF-α 的表达水平。称取心肌组织 50 mg, 采用电动匀浆器将组织研磨成单细胞悬液, 离心后弃上清取沉淀。采用超声波破碎仪破碎心肌细胞, 离心取上清进行试验。按试剂盒说明书进行 ELISA, 步骤如下: ①按说明书准备所有试剂、样品和标准品; ②每孔加 50 μl 标准品或样品; ③每孔加 50 μl Antibody cocktail; ④室温条件下孵育 1 h; ⑤吸去液体, 加 350 μl Wash Buffer, 重复 3 次; ⑥每孔加 100 μl TMB Development Solution, 室温条件下孵育 10 min; ⑦每孔加 100 μl Stop Solution, 450 nm 处读取吸光度值, 并计算浓度。

1.2.4 检测血清中心肌酶含量 实验结束后采集大鼠腹主动脉血 5 ml, 3 000 r/min 离心 20 min, 分离血清, 置于 4℃ 冰箱保存, 采用全自动生化分析仪检测大鼠血清中心肌酶[谷草转氨酶(AST)、乳酸脱氢酶(LDH)和肌酸激酶同工酶(CK-MB)]水平。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 19.0 统计软件, 计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 比较用 *t* 检验或方差分析, 两两比较采用 SNK-q 法。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠心肌组织中炎症因子 IL-6、IL-1β 及 TNF-α mRNA 相对表达量比较

AMI 组、SGB 组、假手术组 IL-6 mRNA 相对表

达量分别为 (29.66 ± 3.17)、(19.72 ± 8.18) 和 (1.00 ± 1.00), 经方差分析, 差异有统计学意义 (*F* = 230.500, *P* = 0.000)。AMI 组、SGB 组、假手术组 IL-1β mRNA 的相对表达量分别为 (16.65 ± 2.65)、(11.95 ± 2.84) 和 (1.00 ± 1.00), 经方差分析, 差异有统计学意义 (*F* = 256.300, *P* = 0.000)。AMI 组、SGB 组、假手术组 TNF-α mRNA 的相对表达量分别为 (17.99 ± 4.12)、(14.80 ± 1.73) 和 (1.00 ± 1.00), 经方差分析, 差异有统计学意义 (*F* = 245.600, *P* = 0.000)。SGB 组 IL-6、IL-1β 及 TNF-α mRNA 的相对表达量均较 AMI 组降低 (*P* < 0.05)。见图 1、2。

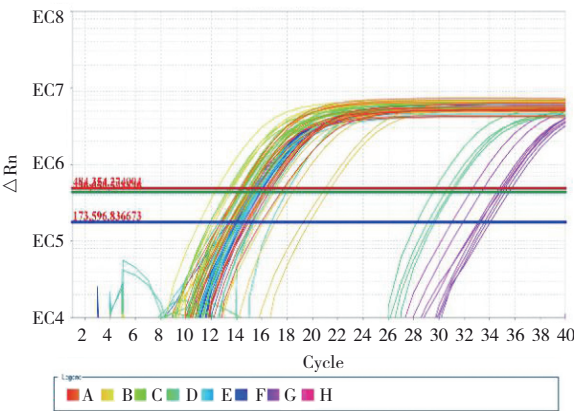


图 1 qRT-PCR 扩增曲线

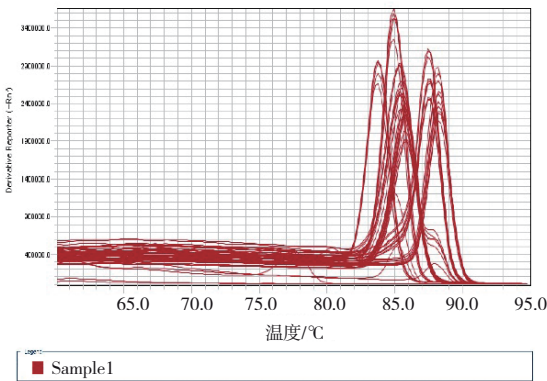


图 2 qRT-PCR 熔解曲线

2.2 各组大鼠血清中炎症因子 IL-6、IL-1β 及 TNF-α 表达水平比较

假手术组、AMI 组和 SGB 组 IL-6 表达水平分别为 (22.75 ± 4.10) μg/ml、(53.33 ± 8.95) μg/ml 和 (42.05 ± 3.16) μg/ml, 经方差分析, 差异有统计学意义 (*F* = 134.000, *P* = 0.000); 假手术组、AMI 组和 SGB 组

IL-1 β 表达水平分别为 $(16.09 \pm 5.14) \mu\text{g/ml}$ 、 $(91.30 \pm 5.80) \mu\text{g/ml}$ 和 $(51.89 \pm 4.47) \mu\text{g/ml}$,经方差分析,差异有统计学意义($F=1\,060.000$, $P=0.000$);假手术组、AMI组和SGB组TNF- α 表达水平分别为 $(31.33 \pm 6.80) \text{ng/ml}$ 、 $(82.44 \pm 8.60) \text{ng/ml}$ 和 $(63.21 \pm 6.49) \text{ng/ml}$,经方差分析,差异有统计学意义($F=246.300$, $P=0.000$)。AMI组、SGB组IL-6、IL-1 β 及TNF- α 表达水平较假手术组升高($P<0.05$),SGB组IL-6、IL-1 β 及TNF- α 表达水平较AMI组降低($P<0.05$)。

2.3 各组大鼠血清中心肌酶表达水平比较

假手术组、AMI组和SGB组AST表达水平分别为 $(15.57 \pm 6.28) \text{u/L}$ 、 $(75.13 \pm 10.51) \text{u/L}$ 和 $(41.70 \pm 9.49) \text{u/L}$,经方差分析,差异有统计学意义($F=222.800$, $P=0.000$);假手术组、AMI组和SGB组LDH表达水平分别为 $(159.96 \pm 28.19) \text{u/L}$ 、 $(252.50 \pm 34.83) \text{u/L}$ 和 $(202.87 \pm 34.36) \text{u/L}$,经方差分析,差异有统计学意义($F=40.350$, $P=0.000$);假手术组、AMI组和SGB组CK-MB表达水平分别为 $(14.21 \pm 6.45) \text{u/L}$ 、 $(77.03 \pm 7.80) \text{u/L}$ 和 $(45.44 \pm 7.78) \text{u/L}$,经方差分析,差异有统计学意义($F=363.200$, $P=0.000$)。AMI组、SGB组AST、LDH及CK-MB表达水平较假手术组升高($P<0.05$),SGB组AST、LDH和CK-MB表达水平较AMI组降低($P<0.05$)。

3 讨论

据世界卫生组织统计,全球每年约1 200万人死于心脑血管疾病,其中AMI是主要原因之一^[8-9]。所谓AMI是指由于冠状动脉阻塞导致心肌持续性缺血缺氧所引起的心肌坏死。AMI后机体的促炎作用可使机体炎性介质增加,促进心肌炎症细胞浸润,使梗死的心肌组织释放溶酶体酶和氧化应激物质^[10-12]。此外,AMI后由于左心室节段性收缩和舒张功能降低,机体启动代偿机制来缓解心肌细胞的缺氧状态,导致心肌细胞反应性伸长,梗死区室壁变薄,最终影响心脏血流动力学和心脏功能的降低^[13-14]。因此,炎症反应在AMI患者的预后中发挥着举足轻重的作用。IL-6、IL-1 β 及TNF- α 是机体炎症反应过程中重要的调节因子,能够通过激活中性粒细胞调节炎症反应。有研究发现,IL-6、IL-1 β 及TNF- α 参与炎症性免疫细胞介导的心肌损

伤过程,且AMI患者血清IL-6、IL-1 β 及TNF- α 水平显著上升^[15-16]。本研究结果显示,AMI组大鼠心肌组织和血清IL-6、IL-1 β 及TNF- α 含量均明显高于假手术组,与以往报道一致。

心外膜密集分布于冠状动脉和冠状小动脉上交感神经,交感神经的功能状态与心肌梗死、心绞痛及严重的心率失常密切相关^[17-18]。交感神经过度兴奋可使正常或者已发生病变的冠状动脉收缩而引起心肌缺血性疼痛,甚至心肌梗死,且心肌缺血的痛觉传入神经就是交感神经。星状神经节是颈部交感神经节之一,由颈下神经节与第1胸交感神经节融合而构成,星状神经节发出的心下神经沿锁骨下动脉后方,气管的前方下降,加入心丛而参与心脏的活动。而SGB是指通过阻滞交感神经的活性,达到缓解疼痛,较少心肌做功,降低心肌耗氧,扩张收缩的冠状动脉,改善心肌血流分布,抑制机体应激反应,从而减少应激激素的释放,最终阻断疼痛引起的恶性循环^[19]。有文献报道,头面部及上胸部带状疱疹行SGB可阻断疼痛的传导,改善血行,增强防御能力,有抗炎作用,且能缩短病程^[20-21]。但SGB在AMI中是否有抗炎作用尚未见报道。本研究结果显示,SGB组大鼠心肌组织和血清炎症因子IL-6、IL-1 β 及TNF- α 含量均低于AMI组,且SGB组大鼠血清中心肌酶AST、LDH和CK-MB含量也低于AMI组,提示SGB可能通过抑制炎症反应减少心肌细胞的损伤,但具体机制仍不清楚,有待进一步研究。

参考文献:

- [1] SANG-BING O, SAURI H R, GUSTAVO E, et al. Inflammation following acute myocardial infarction: multiple players, dynamic roles, and novel therapeutic opportunities[J]. *Pharmacol Ther*, 2018, 186: 73-87.
- [2] BRIAN R W, SRIRAM N. Selectins and immune cells in acute myocardial infarction and post-infarction ventricular remodeling: pathophysiology and novel treatments [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 300.
- [3] 刘冰,杨帅,赵岩,等.急性心肌梗死患者血清白细胞介素16及和肽素检测的临床意义[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2020, 28(8): 711-715.
- [4] ZHOU Z L, ZHANG S N, DING S L, et al. Excessive neutrophil extracellular trap formation aggravates acute myocardial infarction injury in apolipoprotein E deficiency mice via the ROS-dependent pathway[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 1209307.

- [5] MARTIN R, CHRISTINA T, MAGDALENA H, et al. Association of myocardial injury with serum procalcitonin levels in patients with st-elevation myocardial infarction[J]. JAMA Netw Open, 2020, 3(6): e207030.
- [6] 魏润琦, 刘小龙, 吴财能. 星状神经节阻滞术对大鼠急性心肌梗死后室性心律失常的影响[J]. 临床麻醉学杂志, 2019, 35(12): 1222-1224.
- [7] CHENG L J, LI G P, LI J, et al. Effects of fluvastatin on characteristics of stellate ganglion neurons in a rabbit model of myocardial ischemia[J]. Chin Med J, 2016, 129(5): 549-556.
- [8] MAKOTO K, KOUTARO Y, HIDENORI A, et al. Japan atherosclerosis society (JAS) guidelines for prevention of atherosclerotic cardiovascular diseases 2017[J]. J Atheroscler Thromb, 2018, 25(9): 846-984.
- [9] JIANG Z H, RACHEL P D, JOHN A S, et al. Factors associated with return to work after acute myocardial infarction in China[J]. JAMA Netw Open, 2018, 1(7): e184831.
- [10] PAUL-MIHAI B, IOANA B, IOANA C B, et al. Curcumin nanoparticles protect against isoproterenol induced myocardial infarction by alleviating myocardial tissue oxidative stress, electrocardiogram, and biological changes[J]. Molecules, 2019, 24(15): 2802.
- [11] KHODAYARI S, KHODAYARI H, AMIRI A Z, et al. Inflammatory microenvironment of acute myocardial infarction prevents regeneration of heart with stem cells therapy[J]. Cell Physiol Biochem, 2019, 53(5): 887-909.
- [12] AKODAD M, SICARD P, FAUCONNIER J, et al. Colchicine and myocardial infarction: a review[J]. Arch Cardiovasc Dis, 2020, 113(10): 652-659.
- [13] MOHAMED A, MAYANK S, SOMWAIL R, et al. Comparative left ventricular mechanical deformation in acute apical variant stress cardiomyopathy and acute anterior myocardial infarction utilizing 2-dimensional longitudinal strain imaging[J]. Echocardiography, 2020, 37(6): 832-840.
- [14] 雷芳. 心脏超声评价对急性心肌梗死的血流动力学研究进展[J]. 影像研究与医学应用, 2021, 5(1): 1-2.
- [15] SUN J L, SUN J H, ZHOU X Z. Protective functions of myricetin in LPS-induced cardiomyocytes H9c2 cells injury by regulation of MALAT1[J]. Eur J Med Res, 2019, 24(1): 20.
- [16] SUN X, WEI Z L, LI Y Y, et al. Renal denervation restrains the inflammatory response in myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. Basic Res Cardiol, 2020, 115(2): 15.
- [17] RANJAN K R, RACHAEL A A, COLIN H B, et al. Activation of oxytocin neurons in the paraventricular nucleus drives cardiac sympathetic nerve activation following myocardial infarction in rats[J]. Commun Biol, 2018, 1: 160.
- [18] ZHOU M M, LIU Y, XIONG L, et al. Cardiac sympathetic afferent denervation protects against ventricular arrhythmias by modulating cardiac sympathetic nerve activity during acute myocardial infarction[J]. Med Sci Monit, 2019, 25: 1984-1993.
- [19] 陈削均, 何琳, 杨梅, 等. 星状神经节阻滞及其机制的研究进展[J]. 临床医药文献电子杂志, 2018, 5(80): 192-193.
- [20] 蔡咸斌, 许雪芬. 星状神经节联合神经阻滞治疗头面颈肩带状疱疹神经痛的效果观察[J]. 临床合理用药杂志, 2020, 13(8): 150-151.
- [21] NFORMBUH V A, DOMINIQ O, ERSKINE A J. Stellate ganglion blockade and left cardiac sympathetic denervation with left stellate ganglionectomy in a patient with refractory electrical storm: a case report[J]. Cureus, 2020, 12(7): e9098.

(李科 编辑)

本文引用格式: 徐瞳, 冯作炫, 周凡, 等. 星状神经节阻滞术对大鼠急性心肌梗死后炎症反应的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2021, 31(20): 53-57.

Cite this article as: XU T, FENG Z X, ZHOU F, et al. The effect of stellate ganglion block on inflammatory response after acute myocardial infarction in rats[J]. China Journal of Modern Medicine, 2021, 31(20): 53-57.