

枕大池注入利多卡因对兔 SAH 后基底动脉 Rho/ROCK 信号传导的影响*

陈 金¹, 丁 浩², 符永健³, 张松松³, 施贤清^{3△}

1. 贵州医科大学(贵阳 550004); 2. 贵州省骨科医院 ICU(贵阳 550004); 3. 贵州省人民医院 ICU(贵阳 550004)

【摘要】 目的 探讨枕大池注入利多卡因对兔蛛网膜下腔出血(SAH)后基底动脉血管 Rho/Rho 相关激酶(ROCK)信号传导的影响。**方法** 24 只新西兰大白兔随机分为 3 组,每组 8 只,分别为假手术(sham)组、蛛网膜下腔出血(SAH)组、枕大池利多卡因(CD)组。SAH 组和 CD 组动物经枕大池注入非抗凝的自体动脉血(1 mL/kg)复制 SAH 模型, sham 组经枕大池注入 37 °C 的生理盐水(1 mL/kg);30 min 后, CD 组经枕大池注入 0.3 mL 2%利多卡因, SAH 组和 sham 组注入等量生理盐水。72 h 后测定摄食量和神经功能损害分级, 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)和 Western blot 检测基底动脉中 Rho 相关激酶 2(ROCK2)、肌球蛋白轻链(MLC)及钙调蛋白(CaM)蛋白的基因和蛋白表达。**结果** 与 sham 组比较, SAH 组和 CD 组家兔摄食量减少, 且出现不同程度的神经功能损害, ROCK2 在基底动脉中的 mRNA 及蛋白表达量增高, MLC 和 CaM 的 mRNA 和蛋白表达减少($P<0.05$); 与 SAH 组比较, CD 组家兔摄食量及神经功能损害差异无统计学意义($P>0.05$), ROCK2 在基底动脉中的 mRNA 及蛋白表达量减少, MLC 和 CaM 的 mRNA 和蛋白表达增高($P<0.05$)。**结论** 枕大池注入利多卡因能够抑制兔 SAH 后基底动脉血管 Rho/ ROCK 信号传导, 减轻 SAH 后基底动脉平滑肌的收缩。

【关键词】 枕大池 Rho/ROCK 信号传导 蛛网膜下腔出血 脑血管痉挛 利多卡因

Effects of Lidocaine on the Rho/ROCK Signal Transduction of the Posterior Basilar Artery in Rabbit SAH CHEN Jin¹, DING Hao², FU Yong-jian³, ZHANG Song-song³, SHI Xian-qing^{3△}. 1. Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China; 2. Department of ICU, Orthopedic Hospital of Guizhou Province, Guiyang 550004, China; 3. Department of ICU, Guizhou Provincial People Hospital, Guiyang 550004, China

△ Corresponding author, E-mail: shixianqing@126.com

【Abstract】 Objective To observe the expression of Rho/Rho-associated kinase (ROCK) signaling pathway in the basilar artery and the effect of lidocaine on this signaling pathway after subarachnoid hemorrhage (SAH) in rabbits. **Methods** 24 New Zealand white rabbits were randomly divided into sham operation (sham) group, SAH group, and occipital cisterna lidocaine (CD) group. There were 8 rabbits in each group. Intracisternal injection of non-anticoagulant autologous arterial blood (1 mL/kg) were applied to SAH group and CD group animals to establish SAH model, sham normal saline group was injected with 37 °C physiological saline (1 mL/kg); after 30 min, CD group was injected with 0.3 mL 2% lidocaine cisterna, SAH group and sham group were injected with saline. After 72 h, food intake and neurologic function damage were measured. The expressions of Rho associated kinase 2 (ROCK2) and myosin light chain (MLC) and calmodulin (CaM) protein in the basilar artery were measured by Western blot. The ROCK2 and MLC and CaM gene expressions were measured by using real-time quantitative PCR. **Results** Compared with sham group, reduced food intake, various degrees of neurological impairment, increased ROCK2 mRNA and protein expressions in basal artery, and decreased MLC and CaM expressions were observed in SAH group and CD group ($P<0.05$). Compared with the SAH group, there was no statistically significant difference in diet intake and neurological damage in the CD group ($P>0.05$); the mRNA and protein expressions of ROCK2 in the basilar artery decreased, and the expressions of MLC and CaM increased ($P<0.05$). **Conclusion** Intracisternal injection of lidocaine may inhibit the transmission of Rho/ROCK signal in the basilar artery and reduce the basilar artery smooth muscle contraction after SAH.

【Key words】 Cisterna magna Rho/ROCK signal transmission Subarachnoid hemorrhage Cerebral vasospasm Lidocaine

* 贵州省科学技术基金项目(黔科合基础[2016]1095)和贵州省人民医院博士基金(No. GZSYB[2016]09)资助

△ 通信作者, E-mail: shixianqing@126.com

蛛网膜下腔出血(SAH)是临床上常见的严重的脑血管意外事件, 占所有卒中类型的 5%^[1], 在中国年发病率大约为 2/10 万^[2], 致残率及死亡率高于 50%^[3]。脑血管痉挛(cerebral vasospasm,CVS)是 SAH 早期最严重的并发症, 发生率达 16%~66%^[4], 是导致 SAH 患者高病死率和致残率的主要原因之一^[5], 因此,SAH 后 CVS 发生机制的研究对早期防治 CVS 有重要意义。大量的实验证明, CVS 关键环节是血管平滑肌持续性的病理性收缩, 近年血管生物研究表明, 血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMCs)收缩是多因素、多环节共同参与的过程, 其中相对分子质量为 20 000 的肌球蛋白轻链(myosin light chain, MLC)的磷酸化水平是其主要的决定因素^[6-7]。本实验将从 SAH 后基底动脉中 Rho/Rho 相关激酶(ROCK)信号传导变化进行相关机制研究, 并探讨局部给药对其的影响, 为防治 SAH 后 CVS 提供理论依据。

1 对象和方法

1.1 实验分组

将贵州医科大学动物实验中心提供的 24 只新西兰大白兔(雌雄不限, 体质量 2.5~3.0 kg), 随机分为 3 组, 每组 8 只, 分别为假手术(sham)组、蛛网膜下腔出血(SAH)组、枕大池利多卡因治疗(CD)组。实验操作、动物饲养及管理按相关规定进行。

1.2 SAH 模型制作

兔称重后行耳缘静脉置管, 予 1 mg/mL 丙泊酚 1 mL 后, 经口腔行气管插管术, 动物呼吸机辅助通气, 3%戊巴比妥钠(1 mL/kg)麻醉后, 枕部剃毛消毒, 触及枕骨下间隙(枕大池), 予 5 号头皮针刺入, 有突破感后见脑脊液流出, SAH 组和 CD 组动物经枕大池注入非抗凝的自体动脉血(1 mL/kg), sham 组注入等量的 37℃的生理盐水(1 mL/kg); 行头低

脚高位 30 min 后, CD 组经枕大池注入 0.3 mL 2%利多卡因, SAH 组和 sham 组注入等量生理盐水, 待动物完全苏醒后送回动物饲养室, 术后正常饲养。

1.3 摄食量和神经生物学分级

参照 ENDO 等^[8]标准, 所有兔子在术后 72 h 记录 1 次进食量, 摄食量分级: 1 级为 100%, 2 级为 >50% 且 <100%, 3 级为 <50% 且 >0%, 4 级为 0%; 所有兔子在术后 72 h 行 1 次神经功能检查, 神经功能损害分级: 1 级为正常(无神经功能障碍), 2 级为轻度或可疑神经功能障碍(嗜睡、活动减少), 3 级为中度神经功能障碍(肢体无力、跛行), 4 级为重度神经功能障碍(划圈运动或行走困难)。

1.4 取材和分离基底动脉

各组动物在造模注血 72 h 后, 以 10%水合氯醛(2 mL/kg)麻醉后迅速断头取脑组织, 放在培养皿中用 4℃预冷 PBS 液快速冲洗 3 次, 在冰上进行操作, 将脑干截下后, 肉眼可见脑干腹侧面基底沟内附着的动脉即为基底动脉, 迅速剥离基底动脉后, 用 4℃预冷 PBS 冲洗血管内及表面残留血液, 分装置洁净离心管中, 然后进行总 RNA 及总蛋白提取。

1.5 分子生物学检测

1.5.1 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)检测兔基底动脉组织中 ROCK2、MLC 及钙调蛋白(CaM)基因的表达 用 Trizol 法提取兔基底动脉组织总 RNA, 进行浓度及纯度测定合格后, 将总 RNA 逆转录为 cDNA, 根据逆转录试剂盒(Thermo 公司)说明书, 配制 20 μL 反应体系, 反应条件为 95℃、10 s; 95℃、15 s, 60℃、30 s, 72℃、30 s, 40 个循环; 95℃、15 s, 60℃、1 min, 然后进行 qRT-PCR 检测, 引物设计及合成由上海生工生物有限公司完成(表 1), 以 GAPDH 为内参; 反应结束后, 读取各样本的 Ct 值, 应用国际通用的相对定量法(2^{-ΔΔCt}法)计算目的基因的相对表达量。

表 1 基因引物序列

Table 1 Gene primer sequences

Gene	Forward (5'-3')	Reverse (3'-5')	Length/bp
ROCK2	TGGATGAAACAGGCATGGTA	AGTCACATTCCTCGTCCGTAG	20
MLC	TGACAGAACAGGTGATTCCAAG	ATGGGCAGAAACTGTTCAAACCT	22
CaM	GAAGCATTCCTGTGTTTGAT	TCACCATCGATATCTGCTTCC	20
GAPDH	GCCTGGAGAAAGCTGCTAAGT	CCAGGAAATGAGCTTCACAAA	21

1.5.2 Western blot 检测兔基底动脉组织中 ROCK2、MLC 及 CaM 蛋白的表达 用高效 RIPA 组织裂解液提取兔基底动脉组织的总蛋白, 用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒(Solarbio 公司)进行蛋白浓度测定合格后, 制作 150 g/L(分离 MLC、CaM)和

80 g/L(分离 ROCK2)SDS-PAGE 凝胶, 用电泳分离蛋白, 将其转移到 PVDF 膜后, 用 8%脱脂奶封闭 4 h, 一抗稀释液稀释比例: ROCK2 为 1:500(博奥森公司), MLC 为 1:2 000、CaM 为 1:1 000(Abcam 公司), GAPDH 为 1:5 000(博奥森公

司)。将稀释好的一抗加入密封袋中,将 PVDF 膜放入密封袋中,封闭后 4℃过夜,次日按同样的方法稀释二抗(北京中杉金桥公司),ROCK2、CaM、GAPDH 用辣根酶标记山羊抗兔,浓度为 1:5 000;MLC 用辣根酶标记山羊抗小鼠,浓度为 1:5 000。室温下轻摇孵育 50 min,用凝胶成像分析系统检测条带,Image J 软件测灰度值,以目的条带与内参条带灰度值的比值为目的蛋白的相对表达量。

1.6 统计学方法

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组比较采用单因素方差分析(ANOVA),组间两两比较采用配对样本 t 检验,等级资料采用秩和检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组兔摄食量和神经功生物学分级的比较

与 sham 组比较,SAH、CD 组摄食量减少,出现不同程度的神经功能损害($P < 0.05$)。与 SAH 组比较,CD 组摄食量、神经功生物学分级差异无统计学意义。见表 2。

表 2 各组 SAH 后摄食量及神经功能损害的比较/例数
Table 2 The comparison of food intake and neurological impairments in each group/case

Group	n	Food intake grade				Neurological impairment grade			
		1	2	3	4	1	2	3	4
Sham	8	8	0	0	0	8	0	0	0
SAH	8	0	0	6	2	0	1	5	2
CD	8	0	2	6	0	0	6	2	0
H		16.34				56.423			
P		<0.05				<0.05			

2.2 各组兔基底动脉组织 ROCK2、MLC、CaM mRNA 表达

见表 3。以 sham 组表达量为 1,与 sham 组比较,SAH、CD 组兔基底动脉组织 ROCK2 mRNA 表达增加,MLC、CaM mRNA 表达降低($P < 0.05$);与 SAH 组比较,CD 组兔基底动脉组织中 ROCK2 mRNA 表达减少,MLC、CaM mRNA 表达增加($P < 0.05$)。

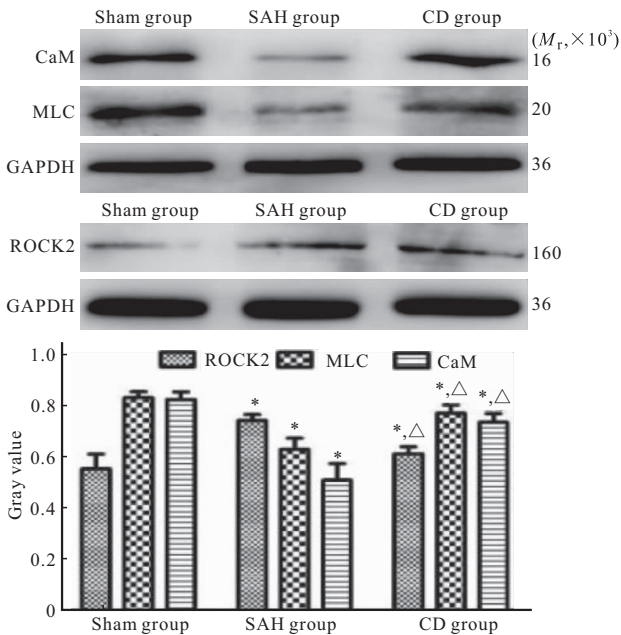
表 3 兔基底动脉组织中 ROCK2、MLC、CaM mRNA 的表达($n=8$)
Table 3 The mRNA relative expressions of ROCK2、MLC and CaM in basil arartery tissue ($n=8$)

Group	ROCK2	MLC	CaM
Sham	1	1	1
SAH	$2.411 \pm 0.465^*$	$0.630 \pm 0.343^*$	$0.478 \pm 0.246^*$
CD	$1.011 \pm 0.256^{*,\triangle}$	$0.850 \pm 0.300^{*,\triangle}$	$0.830 \pm 0.207^{*,\triangle}$
F	56.166	4.006	16.442
P	<0.05	<0.05	<0.05

* $P < 0.05$, vs. sham group; $\triangle P < 0.05$, vs. SAH group

2.3 各组兔基底动脉组织 ROCK2、MLC、CaM 蛋白表达

与 sham 组比较,SAH、CD 组兔基底动脉组织 ROCK2 蛋白表达增加,MLC、CaM 蛋白表达降低($P < 0.05$);与 SAH 组比较,CD 组兔基底动脉组织 ROCK2 蛋白表达减少,MLC、CaM 蛋白表达增加($P < 0.05$)。见附图。



附图 Western blot 检测各组兔基底动脉组织中 ROCK2、MLC、CaM 蛋白的表达

Fig Protein expressions of ROCK2、MLC and CaM in basil arartery
* $P < 0.05$, vs. sham group; $\triangle P < 0.05$, vs. SAH group

3 讨论

CVS 是 SAH 早期最严重的并发症,常引起严重的局部脑组织缺血、缺氧,是 SAH 后迟发性脑梗死的病理基础。近年来,随着研究的不断深入,许多学者认识到 SAH 后 CVS 的发生机制十分复杂,是一个多环节、多因素共同参与的过程^[9-10],但是具体机制仍不够明确。

Rho/ROCK 信号通路在人体内普遍存在,它主要是通过调节细胞内肌动蛋白骨架的聚合状态而扮演着“分子开关”的角色,参与了许多生理活动,如细胞形态维持、细胞黏附与迁移、细胞增殖与凋亡、平滑肌收缩等多种生物学行为^[11]。Rho/ROCK 信号通路参与的经典途径是 MLC 的磷酸化调控。ROCK 属于丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,是目前功能研究得最为详细的 Rho 下游靶效应分子,在人体内广泛表达。VSMCs 收缩的关键环节取决于 MLC

磷酸化水平的高低。ROCK 通过作用于肌球蛋白轻链磷酸酶 (myosin light chain phosphatase, MLCP) 使其磷酸化, 从而解除其对 MLC 的脱磷酸化作用, 进而增强 VSMCs 收缩; ROCK 也可直接以 MLC 为底物, 介导 VSMCs 收缩。ROCK 包括两种不同的异构体——ROCK1 和 ROCK2, 在血管痉挛中最主要的是 ROCK2。基因沉默实验结果显示, ROCK1 在应力纤维形成中起关键作用, 而 ROCK2 在吞噬和细胞收缩中起重要作用^[12-13]。

利多卡因的神经元麻醉作用, 有效地抑制了由神经缺血的刺激导致的血管一过性痉挛, 阻断了痉挛性缺血导致的神经元进一步兴奋, 进而改善神经功能紊乱、钙超载, 减轻血管痉挛进一步加重的恶性循环。有研究表明, 局部脑缺血前予静脉小剂量利多卡因能减少脑缺血面积, 改善脑神经功能^[14]。动物实验提示, 在利多卡因治疗下, 脑基底动脉的管腔面积明显大于无利多卡因治疗组, 即利多卡因能显著降低脑基底动脉痉挛^[15]。我们前期的实验也证明利多卡因针对 SAH 后 CVS 的确有防治作用, 但是利多卡因降低脑基底动脉痉挛的具体机制仍在探索阶段, 在动物实验研究中发现^[16], SAH 后血液中大量的缩血管物质激活 Rho/ROCK 信号通路。那么利多卡因降低脑基底动脉痉挛是否通过影响 Rho/ROCK 信号通路降低脑基底动脉痉挛呢? 故本次研究主要关注的是 ROCK2 及 MLC 在兔 SAH 后脑基底动脉收缩中的作用, 并观察枕大池注入利多卡因后对其在脑基底动脉组织表达的影响。本研究的结果显示, SAH 组兔脑基底动脉组织中 ROCK2 的 mRNA 和蛋白表达量增加, MLC 的 mRNA 和蛋白表达减少, 与 ROCK2 表达呈相反趋势, 可见 Rho/ROCK 信号通路介导 SAH 后 CVS 发生, 此结果与文献报道^[17]一致; CD 组兔基底动脉组织 ROCK2 的 mRNA 和蛋白表达较 SAH 组减少、MLC 的 mRNA 和蛋白表达较 SAH 组增多, 提示枕大池注入利多卡因可以影响 ROCK2 及 MLC 在兔 SAH 后基底动脉组织中的表达, 枕大池注入利多卡因可能通过影响 Rho/ROCK 信号通路, 减轻基底动脉平滑肌的收缩, 具体机制可能是下调 ROCK2 表达, 从而抑制 MLC 磷酸化, 进而减轻 VSMCs 的收缩。但 Rho/ROCK 信号通路介导 VSMCs 收缩的机制十分复杂, 要具体明确其机制还需进一步研究。

本研究的结果显示, CD 组兔基底动脉组织 ROCK2 的 mRNA 和蛋白表达较 SAH 组减少,

CaM 和 MLC 的 mRNA 和蛋白表达较 SAH 组增多。平滑肌细胞内不含肌钙蛋白, 但有 CaM, 故胞质中 Ca^{2+} 主要通过 Ca^{2+} -CaM 通路作用于粗肌丝而收缩, CVS 时平滑肌收缩的关键环节之一, 是 VSMCs 胞质中 Ca^{2+} 浓度异常升高, 导致 MLC 磷酸化增强。最近研究表明^[18], 在人和动物中 ROCK 活性升高, 可通过不依赖 Ca^{2+} 的方式参与 VSMCs 异常收缩, 在 CVS 的发病机制中发挥重要作用。Rho/ROCK 信号通路激活可以通过“钙敏机制”作用, 诱导组织对 Ca^{2+} 敏感性增加, 进而增强平滑肌细胞的收缩。利多卡因可以抑制椎基底动脉供血不足患者神经兴奋性氨基酸的释放, 减轻钙超载, 降低脑血管发生一过性痉挛的概率, 改善椎基底动脉的血流供应, 消除或明显减轻患者临床症状, 具有潜在的神经保护用, 可以在临床推广使用^[19]。

通过本次研究我们发现, 枕大池注入利多卡因减轻 SAH 后基底动脉平滑肌的收缩, 这可能与下调 ROCK2 的 mRNA 和蛋白表达, 从而抑制 MLC 磷酸化的发生, 影响 Rho/ROCK 信号通路有关; 另一方面, Rho/ROCK 信号通路激活时, ROCK2 可以直接抑制 CaM 与 Ca^{2+} 结合, 从而抑制 MLC 磷酸化的发生, 降低基底动脉平滑肌的收缩, 减轻 SAH 后 CVS 的发生, 这为临床枕大池注入利多卡因治疗 SAH 后 CVS 提供了新的实验依据, 但其具体作用机制, 有待进一步研究。另外, 本研究虽检测了 Rho/ROCK 信号通路的一些关键性指标, 但对 Rho/ROCK 信号通路的一些其他指标, 如 RhoA、MLCP 等并未进行研究, 这些指标在 SAH 后 Rho/ROCK 信号通路中的作用如何, 利多卡因是否通过调控这些指标对 SAH 后 Rho/ROCK 信号通路产生影响有待更进一步的研究。

参 考 文 献

- [1] YAN H, ZHANG D, HAO S, *et al.* Role of Mitochondrial calcium uniporter in early brain injury after experimental subarachnoid hemorrhage. *Mol Neurobiol*, 2015, 52(3): 1637-1647.
- [2] D'SOUZA S. Aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurosurg Anesthesiol*, 2015, 27(3): 222-240.
- [3] FU M, YAN J, ROLLAND WB, *et al.* Early brain injury, an evolving frontier in subarachnoid hemorrhage research. *Transl Stroke Res*, 2013, 4(4): 432-446.
- [4] 吴 科, 魏剑波, 张月辉, 等. 自发性蛛网膜下腔出血后脑血管痉挛节律特征的研究. *四川生理科学杂志*, 2012, 34(4): 155-156.
- [5] PRZYBCIEN-SZYMANSKA MM, ASHLEY WW. Biomarker discovery in cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke Cerebrovasc Dis*, 2015, 24(7): 1453-1464.

(下转第 565 页)

的被应用,同时亦为临床提供更多的诊断信息以及更准确的治疗靶点。

参 考 文 献

[1] WYNN TA, RAMALINGAM TR. Mechanisms of fibrosis: therapeutic translation for fibrotic disease. *Nat Med*,2012,18 (7):1028-1040.

[2] MALLAT A, LOTERSZTAJN S. Cellular mechanisms of tissue fibrosis. 5. Novel insights into liver fibrosis. *Am J Physiol Cell Physiol*,2013,2305(8):789-799.

[3] ZHANG CY, YUAN WG, HE P, et al. Liver fibrosis and hepatic stellate cells; Etiology, pathological hallmarks and therapeutic targets. *World J Gastroenterol*. 2016, 22 (48): 10512-10522.

[4] 于天水,官大威,马 勇,等.肌成纤维细胞在纤维化疾病中的研究进展. *中国组织化学与细胞化学杂志*,2013,2(2):167-171.

[5] 刘 珺,徐选福,杨文娟,等.Hedgehog-Gli1 信号通路对肝星状细胞增殖和凋亡的调控作用. *中华肝脏病杂志*,2009,17 (1):33-37.

[6] SICKLICK JK, LI YX, CHOI SS, et al. Role for hedgehog signaling in hepatic stellate cell activation and viability. *Lab*

Invest,2005,85(11):1368-1380.

[7] KRAMANN R, SCHNEIDER RK, DIROCCO DP, et al. Perivascular gli1 (+) progenitors are key contributors to injury-induced organ fibrosis. *Cell Stem Cell*,2015,16(1):51-66.

[8] SAUER B. Inducible gene targeting in mice using the Cre/LoxP system. *Methods*,1998,14 (4):381-392.

[9] RAY MK, FAGAN SP, BRUNICARDI FC. The Cre-loxP system; a versatile tool for targeting genes in a cell and stage-specific manner. *Cell Transplant*,2000,9(6):805-815 .

[10] LITTLEWOOD TD, HANCOCK DC, DANIELIAN PS, et al. A modified oestrogen receptor ligand-binding domain as an improved switch for the regulation of heterologous proteins. *Nucleic Acids Res*,1995,23(10):1686-1690.

[11] PONGLIKITMONGKOL M, GREEN S, CHAMBONA P. Genomic organization of the human estrogen receptor gene. *EMBO J*,1988,7(11):3385-3388.

[12] DWORNICZAK B, SKRYABIN B, TCHINDA J, et al. Inducible Cre/loxP recombination in the mouse proximal tubule. *Nephron Exp Nephrol*,2007,106(1):e11-e20.

(2017 - 12 - 15 收稿,2018 - 04 - 08 修回)

编辑 别明江

(上接第 559 页)

[6] LOIRAND G, PACAUD P. The role of Rho protein signaling in hypertension. *Nat Rev Cardiol*,2010,7(11):637-647.

[7] PUETZ S, LUBOMIROV LT, PFITZER G. Regulation of smooth muscle contraction by small GTPases. *Physiology (Bethesda)*,2009,24(6):342-356.

[8] ENDO S, BRANSON PJ, ALKSNE JF. Experimental model of symptomatic vasospasm rabbits. *Sstroke*,1988,19(11): 1420-1425.

[9] RODRIGUEZ A, EGEA-GUERRERO J, RUIZ D, et al. Biomarkers of vasospasm development and outcome in aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurol Sci*, 2014, 341(1/2):119-127.

[10] DANURA H, SCHATLO B, MARBACHER S, et al. Acute angiographic vasospasm and the incidence of delayed cerebral vasospasm preliminary results. *Acta Neurochir Suppl*,2015,120(120):187-190.

[11] 国 伟,孟建中,陈 宇. Rho/Rho 激酶信号通路与血管内皮通透性的研究. *生物医学工程研究*,2009,28(2):154-158.

[12] AMANO M, NAKAYAMA M, KAIBUCHI K. Rho-kinase/ROCK;a key regulator of the cytoskeleton and cell polarity. *Cytoskeleton*,2010,67(9):545-554.

[13] MORGAN-FISHER M, WEWER UM, YONEDA A. Regulation of ROCK activity in cancer. *J Histochem Cytochem*,2013,61(3):185-198.

[14] PARK J, KIM S, KIM H, et al. Transretroperitoneal CT-guided embolization of growing internal iliac artery aneurysm after repair of abdominal aortic aneurysm: a trasretroperitoneal approach with intramuscular lidocaine injection technique. *Cardiovasc Intervent Radiol*, 2015, 38 (1):227-231.

[15] LIN C, TSAI Y, WANG H, et al. Pre-emptive trement of lidocaine attenuates neuropathic pain and reduces pain-related biochemical markers in the rat cuneate nucleus in median nerve chronic constriction injury model. *Anesthesiol Res Pract*,2012,20(12):921405.

[16] SHIRAO S, FUJISAWA H, KUDO A, et al. Inhibitory Effects of eicosapentaenoic acid on chronic cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage; possible involvement of a sphingosylphosphorylcholine-rho-kinase pathway. *Cerebrovasc Dis*,2008,26(1):30-37.

[17] YUAN TY, YAN Y, WU YJ, et al. Vasodilatory effect of a novel Rho-kinase inhibitor, DL0805-2, on the rat mesenteric artery and its potential mechanisms. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2014,28(5):415-424.

[18] 赵伟疆. Rho 激酶与脑血管痉挛综述. *基础医学与临床*, 2001,25(10):896-990.

[19] 魏 华. 利多卡因治疗椎基底动脉供血不足 35 例的临床观察. *中外医学研究*,2015,31(11):145-147.

(2018 - 01 - 03 收稿,2018 - 04 - 02 修回)

编辑 吕 熙