

薛晴,于海波,李晶,等. 烟碱对心肌梗死大鼠痛阈可塑性变化的影响及心脏保护作用 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(1): 17-20,44.

Xue Q, Yu HB, Li J, et al. Effects of nicotine on pain threshold plastic changes and cardiac protection in myocardial infarction rats [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(1): 17-20,44.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2020.01.004

烟碱对心肌梗死大鼠痛阈可塑性变化的影响及心脏保护作用

薛晴¹, 于海波², 李晶^{3*}, 于海涛²

(1.佳木斯大学临床医学院 2016 级临床医学 7 班,黑龙江 佳木斯 154007; 2.佳木斯大学附属第一医院,黑龙江 佳木斯 154007; 3.佳木斯大学基础医学院,黑龙江 佳木斯 154007)

【摘要】 目的 观察心肌梗死大鼠痛阈的可塑性改变,探究烟碱对内脏痛的影响及对缺血心肌是否有保护作用。**方法** 选取 SPF 级 Sprague-Dawley 健康雄性大鼠 30 只,体重 180~200 g,以随机数字原则分为假手术组、模型组、烟碱治疗组。各组大鼠均观察心电图(ECG)、痛阈(热痛阈 PWL、机械痛阈 PWT)、左心室内压幅度变化、心脏体重指数、肌酸激酶同工酶(CK-MB)的改变。**结果** 模型组较假手术组比,机械痛阈变小,热痛阈变大($P<0.05$);而血浆 CK-MB 活性、心脏体重指数、左心室内压明显升高($P<0.05$)。烟碱治疗组较模型组比,机械痛阈变大,热痛阈变小;血浆 CK-MB 活性、心脏体重指数、左心室内压明显降低($P<0.05$),差异具有统计学意义。**结论** 烟碱对心肌梗死大鼠的心肌缺血症状以及由于缺血造成的内脏疼痛均有一定的缓解作用,其作用机制可能和胆碱能抗炎通路激活有关,从而起到改善大鼠疼痛和保护大鼠心脏的作用。

【关键词】 心肌梗死;烟碱;机械痛阈;热痛阈;心脏保护;大鼠

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2020) 01-0017-04

Effects of nicotine on pain threshold plastic changes and cardiac protection in myocardial infarction rats

XUE Qing¹, YU Haibo², LI Jing^{3*}, YU Haitao²

(1. Class 7, Grade 2016 Clinical Medicine, Clinical School of Medicine, Jiamusi University, Jiamusi 154007, China.

2. The First Affiliated Hospital of Jiamusi University, Jiamusi 154007.

3. Basic Medical College of Jiamusi University, Jiamusi 154007)

【Abstract】 Objective To observe the plastic changes of pain threshold in myocardial infarction rats, and to investigate the effects of nicotine on visceral pain and whether it has protective effects on ischemic myocardium. **Methods** Thirty healthy male Sprague-Dawley rats weighing 180 to 200 g were selected and divided into a sham surgical group, model group, or nicotine treatment group at random. The changes of electrocardiogram (ECG), pain threshold (thermal pain threshold PWL, mechanical pain threshold PWT), left ventricular pressure amplitude, cardiac body mass index, and creatine kinase isoenzyme (CK-MB) were observed in all groups of rats. **Results** Upon comparing the model group with

【基金项目】 黑龙江省大学生创新创业训练计划项目(201910222070);黑龙江省卫生厅项目(2014-241);佳木斯大学大学生创新创业训练计划项目(2015XJ06);佳木斯大学科学技术重点项目(12Z1201506)。

【作者简介】 薛晴(1998—),女,在读本科,2016 级临床医学 7 班,研究方向:心肌缺血及心脏保护作用。E-mail: 598664730@qq.com

【通信作者】 李晶(1977—),女,在读博士,佳木斯大学基础医学院,讲师,研究方向:心肌缺血及痛觉的内源性调控机制。

E-mail: lj118119@sina.com

the sham surgical group, the mechanical pain threshold decreased and the thermal pain threshold became larger in the former group (both $P < 0.05$), while the plasma CK-MB activity, cardiac body mass index, and left ventricular pressure significantly increased (all $P < 0.05$). In addition, when the nicotine treatment group was compared with the model group, the mechanical pain threshold increased in the former group, while the thermal pain threshold decreased, as did the plasma CK-MB activity, cardiac body mass index, and left ventricular pressure (all $P < 0.05$). **Conclusions** Nicotine can relieve myocardial ischemia symptoms and visceral pain caused by ischemia in rats with myocardial infarction. Its mechanism may be related to activation of the cholinergic anti-inflammatory pathway. Therefore, it can improve the pain and protect the heart of rats.

[Keywords] myocardial infarction (MI); nicotine; mechanical pain threshold; thermal pain threshold; heart protection; rat

心肌梗死 (myocardial infarction, MI) 和体内许多生理功能的调节有关,主要是由于冠状动脉内形成闭锁,导致心肌缺血、心肌细胞坏死、凋亡,因此不能保证心脏正常工作,是一种病理状态^[1]。由于现今社会生活节奏加快、生活方式改变、人口老龄化等原因,我国心梗死患者的发病率、死亡率在逐年增加。发病同时还伴随心绞痛症状,心脏神经疼痛在医学上属于内脏痛,定位不精确,临床上常有较为剧烈而持久的胸骨后疼痛,炎性细胞增多的同时常伴有发热,还可进一步发展为心力衰竭^[2]。烟碱是 N 型乙酰胆碱受体激动剂,目前临床主要用于溃疡性结肠炎患者^[3]。而对实验动物的影响,有学者研究证实能够减轻内毒素血症大鼠各脏器的炎性反应,对休克动物有保护作用^[4]。现今鲜有研究其对缺血造成的内脏疼痛是否有效。鉴于此,本研究探讨烟碱对由于结扎左冠状动脉前降支造成的心肌缺血和疼痛是否具有保护和缓解作用,为心脏保护及疼痛治疗提供新思路 and 靶点,也为烟碱的进一步开发提供了理论依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

实验经过佳木斯大学伦理委员会批准(批准号 JMSU-227)。SPF 级 30 只雄性 Sprague-Dawley 大鼠,6 周龄,体重 180~200 g,由哈尔滨医科大学实验动物中心提供[SCXK(黑)2015-001],饲养于佳木斯大学实验动物中心[SYXK(黑)2016-014],保持实验室内通风,室温 26℃ 左右,进行普通饮食,自由饮水,各组喂养时间相同,并按实验动物使用的 3R 原则给予人道的关怀。

1.2 主要试剂与仪器

烟碱(成都德斯特生物技术有限公司,产品批号 DST180802-032);注射用青霉素(哈药集团制药总

厂);CK-MB(南京建成公司);BECKMAN LX20 全自动生化分析仪;BL-420F 生物机能实验系统(成都泰盟科技有限公司),小动物呼吸机(HX-300S,成都泰盟科技有限公司);PL-200 热刺激仪(成都泰盟科技有限公司);2390 型电子机械性痛敏仪(美国 IITC 公司);天平;各种哺乳动物手术器械等。

1.3 实验方法

1.3.1 动物分组与模型制备

随机分为 3 组:假手术组:手术线穿过左冠状动脉前降支(LAD)但不结扎,生理盐水灌胃,模型组:手术线穿过左冠状动脉并结扎,术后生理盐水灌胃,烟碱治疗组:手术线穿过左冠状动脉并结扎,术后进行烟碱溶液灌胃治疗。各组灌胃剂量以 0.1 mL/kg 计,时间为 4 周。经腹腔注射麻醉大鼠,麻醉稳定后胸部备皮,取仰卧位将大鼠进行固定,连接心电导联,将大鼠经口进行气管插管,插管准确后连接小动物呼吸机,碘伏胸部消毒,从大鼠胸骨左侧第 4、5 肋间隙进行开胸,充分暴露心脏,剪破心包膜,结扎心脏左心耳下缘与肺动脉圆锥间左冠状动脉前降支,若建模成功可看到心电图 ST 段明显抬高,肉眼观察到心尖心肌颜色变浅,呈现苍白色^[5]。

1.3.2 心电图观察

BL-420F 生物机能实验系统描记心电图,采用腹腔麻醉,仰卧位固定在手术台上,用注射器针头分别插入大鼠的双下肢和右上肢皮下,再用电极固定。其中,白色电极连接右上,红色电极左下,黑色电极右下。

1.3.3 血浆 CK-MB 变化

取各组实验动物血浆,用 BECKMAN LX20 全自动生化分析仪检测,操作严格按试剂盒说明书进行。

1.3.4 痛阈测量

于术前 1 d(基础痛阈)及术后连续 7 d 测定痛阈。机械痛阈(PWT),采用 2390 型电子机械性痛

敏仪(美国 IITC 公司)测定两后爪缩足阈作为机械痛阈。测定方法:置大鼠于透明有机玻璃盒罩的金属框架上,适应环境 15 min,用一根直径 0.5 mm 探针缓慢垂直上升,直到接触到大鼠后足足掌中心后,再以 50 g/20 s 的速度逐渐增大刺激强度。当大鼠发生缩足反应时,探针立即停止,触觉仪自动记录缩足时的压力值,即为大鼠的机械痛阈值。采用 PL-200 热刺痛仪(成都泰盟科技有限公司)测定热痛阈(PWL),将辐射热源圆心对准大鼠紧贴玻璃的足底中心,按下开始按钮,记下因热刺激引起缩爪的反射时间。保持安静环境,室温 23℃~27℃。

1.3.5 心脏体重指数、左室内压幅度变化

给药 4 周后称重大鼠,处死后分离心脏,去除大血管并在生理盐水中清洗残余血液,滤纸吸干表面水分后称重。大鼠心脏体重指数=心脏重量(g)×1000/大鼠体重(g)。各组大鼠在治疗后禁食 12 h,麻醉、固定后,自右颈总动脉插入充有肝素(5 kU/L)生理盐水的塑料导管(内径 1 mm),用棉线把动脉壁扎于导管上,使切口处不漏血,导管又能自由进出。此时打开动脉夹,从示波器上可看到动脉血

压波形,待动脉血压描记曲线稳定后,将颈总动脉内的导管顺着主动脉(在主动脉瓣开放时)插入左心室,此时平均动脉压突然下降,脉压差明显加大,固定心导管,稳定 15 min 后,测定左室内压。描记一段左心室压力曲线,计算左室内压变化幅度(曲线最高值-曲线最低值)。

1.4 统计学方法

本实验数据均采用 SPSS 15.0 统计软件进行分析,数据以平均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示。组间比较采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 心肌梗死大鼠心电图的变化

由心肌梗死大鼠心电图可以看出,ST 段明显抬高(见图 1)。

2.2 各组大鼠机械痛阈、热痛阈的变化

与假手术组相比,模型组机械痛阈变小,热痛阈变大;与模型组比较,烟碱治疗组机械痛阈变大,热痛阈变小($P<0.05$),差异具有统计学意义($P<0.05$,见表 1 和表 2)。

表 1 各组大鼠机械痛阈变化($\bar{x}\pm s, n=10, g$)

Table 1 The changes of mechanical pain threshold in each group of rats

痛阈 Pain threshold	假手术组 Sham surgical group	模型组 Model group	治疗组 Nicotine treatment group
基础痛阈 Basic pain threshold	70.51±11.63	66.61±11.29 ^{#*}	69.01±11.54
1 d	54.92±9.68	40.32±6.24 ^{#*}	45.72±5.94
2 d	54.10±9.45	46.51±7.46 ^{#*}	47.44±7.52
3 d	58.34±10.02	45.53±6.98 ^{#*}	47.63±7.69
4 d	60.41±11.02	51.30±7.69 ^{#*}	53.51±8.37
5 d	61.72±11.15	52.71±7.84 ^{#*}	54.74±8.94
6 d	62.91±11.37	53.42±7.91 ^{#*}	56.33±9.02
7 d	65.23±11.54	55.13±8.07 ^{#*}	58.70±9.45

注:与假手术组比较,[#] $P<0.05$;与烟碱治疗组比较,^{*} $P<0.05$ 。

Note. Compared with the sham group, [#] $P<0.05$. Compared with the nicotine treatment group, ^{*} $P<0.05$.

表 2 各组大鼠热痛阈变化($\bar{x}\pm s, n=10, S$)

Table 2 The changes of thermal pain threshold in each group of rats

痛阈 Pain threshold	假手术组 Sham surgical group	模型组 Model group	治疗组 Nicotine treatment group
基础痛阈 Basic pain threshold	14.4±2.36	15.6±3.01 ^{#*}	15.7±3.18
1 d	18.3±4.56	20.0±5.09 ^{#*}	18.7±4.73
2 d	15.1±2.97	20.0±5.12 ^{#*}	19.1±4.98
3 d	15.3±3.02	18.0±4.71 ^{#*}	17.6±4.26
4 d	15.5±3.41	18.3±4.68 ^{#*}	16.7±5.36
5 d	15.9±3.62	19.1±4.83 ^{#*}	17.2±5.72
6 d	16.7±4.06	19.4±4.72 ^{#*}	17.1±6.15
7 d	18.2±4.52	20.7±5.31 ^{#*}	16.4±6.38

注:与假手术组比较,[#] $P<0.05$;与烟碱治疗组比较,^{*} $P<0.05$ 。

Note. Compared with the sham group, [#] $P<0.05$. Compared with the nicotine treatment group, ^{*} $P<0.05$.

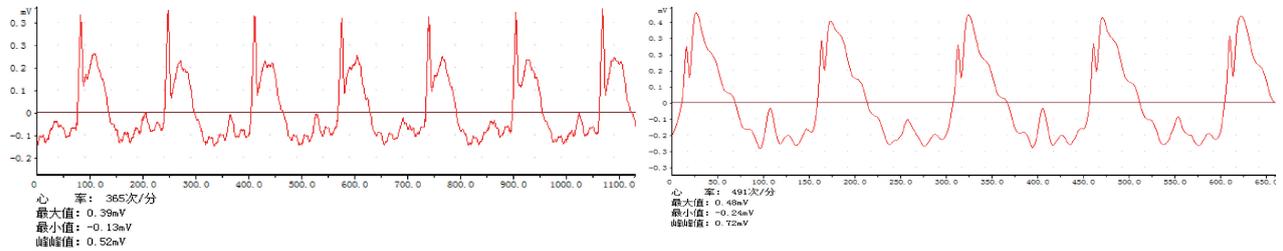


图 1 心肌梗死大鼠心电图

Figure 1 The ECG of myocardial infarction rats

表 3 各组大鼠 CK-MB、心脏体重指数、左心室内压变化幅度 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 The changes of CK-MB, cardiac body mass index, and left ventricular pressure in each group of rats

组别 Groups	CK-MB (U/L)	左心室内压变化幅度 (kPa) Left ventricular pressure amplitude	心脏体重指数 Cardiac body mass index
假手术组 Sham surgical group	1075±108	81.53±10.96	2.79±0.09
模型组 Model group	2338±165 ^{#*}	124.82±21.17 ^{#*}	3.85±0.24 ^{#*}
治疗组 Nicotine treatment group	1294±127	97.45±13.84	2.84±0.12

注:与假手术组比较,[#] $P < 0.05$;与烟碱治疗组比较,^{*} $P < 0.05$ 。

Note. Compared with the sham group,[#] $P < 0.05$. Compared with the nicotine treatment group,^{*} $P < 0.05$.

2.3 大鼠左心室内压幅度变化、心脏体重指数、肌酸激酶同工酶 (CK-MB) 的变化

血浆 CK-MB 活性、心脏体重指数、左心室内压幅度变化规律为:与假手术组比较,模型组各项指标明显升高 ($P < 0.05$);与模型组比较,烟碱治疗组各项指标明显降低 ($P < 0.05$),差异具有统计学意义(见表 3)。

3 讨论

当心肌缺血发生时,对心肌细胞损伤的主要机制之一就是大量自由基的生成^[6-7],使组织内含氧量减少,破坏有氧氧化呼吸链,致钙离子进入细胞内,从而形成细胞内钙超载^[8-9],造成心肌细胞出现炎症反应、坏死、凋亡等。烟碱作为 N 型胆碱受体激动药,可以通过激活胆碱能抗炎通路、清除氧自由基而发挥作用,从而达到治疗心肌缺血和保护大鼠心脏的目的。

作为诊断急性心肌损伤敏感性及特异性较高的生化标志物之一的 CK-MB,在心肌细胞内含量较高,心肌细胞损伤程度可通过其浓度改变间接反映^[7]。心脏体重指数在一定程度上能够反映出心肌缺血程度和检验一些药物的效应。本研究发现,经过烟碱治疗后 CK-MB 浓度明显下降,心脏体重指数明显降低。说明烟碱可以增加左室射血功能,减轻心室重塑,从而改善心肌缺血症状,以达到对缺

血心肌的保护作用。

有学者研究证实,生物体痛阈通常具有稳定性,但是在一定范围内,并且一些心理社会因素也会影响痛阈大小^[10],所有这些均与痛觉内源性调控系统有关。大多数情况下,痛觉内源性调控系统中抑制系统激活阈值明显高于易化系统激活阈值^[11-12],因此说有效缓解疼痛一直是临床工作中的重点。当前有效治痛途径之一可通过超前镇痛药物治疗手段,也就是及时启动和增强内源性镇痛效应,即通过下调内源性抑制作用激活阈值而达到^[13]。本研究探讨心肌缺血大鼠机械痛阈、热痛阈的改变,证实烟碱可通过上调机械痛阈、下调热痛阈,即激活内源性调控系统中的抑制作用从而减轻内脏疼痛。适量的应用烟碱对缺血心肌有一定的保护和治疗作用,为心肌梗死和疼痛治疗提供广阔前景。

参考文献:

- [1] 白玉花,辛颖.心肌缺血再灌注损伤模型建立方法的研究进展[J].内蒙古民族大学学报(自然科学版),2015,30(3):251-256.
- [2] 卢子瑄,张倍健,项志兵. Galectin-3 和 sST2 对射血分数保留的心力衰竭患者的诊断价值[J].临床心血管病杂志,2019,25(3):268-272.
- [3] Gomes JP, Watad A, Shoenfeld Y. Nicotine and autoimmunity: The lotus' flower in tobacco[J]. Pharmacol Res, 2018, 128:101-109.

(下转第 44 页)

- 究[D].山东大学,2017.
- [7] 张中原. 颅脑损伤后血清、脑脊液 IL1 β , IL6 的变化及临床意义[D]. 天津医科大学, 2012.
- [8] 王琨, 李彦敏. NSE、S-100 蛋白与脑损伤关系的研究[J]. 脑与神经疾病杂志, 2009, 17(5): 396-398.
- [9] 苗圃, 吕燕妮. 醒脑静注射液对脑卒中后抑郁模型大鼠的保护作用及其机制研究[J]. 抗感染药学, 2018, 15(11): 1845-1849.
- [10] 冯辉, 藏莉, 张德重. 通窍活血汤对外伤后水瘀互结型脑积水患者血清神经生化标志物及脑脊液 p73, p38 蛋白表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 7(13): 185-190.
- [11] 邹以席, 黄方炯. S100B 蛋白作为脑损伤标记物的研究进展[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2009, 23(8): 731-734.
- [12] 王乾, 苏立凯. 脑电图在脑血管疾病中的应用[J]. 医学研究与教育, 2014, 31(5): 64-67.
- [13] 李晓波. 大鼠脑外伤后磁共振波谱及血清髓鞘碱性蛋白水平动态研究[D]. 中南大学, 2012.
- [14] 代凌. 醒脑静注射液的药理研究与临床应用效果观察[J]. 中国现代药物应用, 2013, 7(20): 171-172.
- [15] 王岚, 王翰, 刘海萍, 等. 麝香的研究现状[J]. 资源开发与市场, 2016, 32(1): 77-81.
- [16] Xu M, Su W, Xu QP, et al. Effect of Xingnaojing injection on cerebral edema and blood-brain barrier in rats following traumatic brain injury[J]. Chin J Traumatol, 2010, 13(3): 158-162.
- [17] 陈亦华, 程振宇, 邵林华, 等. 醒脑静注射液对颅脑损伤大鼠认知功能的影响[J]. 温州医科大学学报, 2018, 48(9): 32-36.

[收稿日期] 2019-05-11

(上接第 20 页)

- [4] Wang H, Liao H, Ochan M, et al. Cholinergic agonists inhibit HMGB1 release and improve survival in experimental sepsis[J]. Nat Med, 2014, 10(2): 1216-1221.
- [5] 李峰杰, 李贻奎. 心肌梗死动物模型研究进展[J]. 中国药理学通报, 2013, 29(1): 5-10.
- [6] 张庆勇, 陈燕萍, 刘芬, 陈霞. 人参皂苷 Rg1 对大鼠急性心肌缺血抗氧化损伤指标及超微结构的影响[J]. 中国循环杂志, 2015, 30(2): 164-167.
- [7] 徐盟. 心肌缺血再灌注损伤的主要机制与相关药物治疗的研究进展[J]. 实用药物与临床, 2014, 17(8): 1052-1056.
- [8] 乔钰惠, 孟增慧, 郭丽君, 李子健. 心肌缺血再灌注损伤的机制和治疗[J]. 基础医学与临床, 2015, 35(12): 1666-1671.
- [9] 武玉洁, 方莲花, 杜冠华. 心肌缺血预适应和后适应研究进展及临床应用[J]. 药理学学报, 2013, 48(7): 965-970.
- [10] 毕海金, 吴国程, 陈红云, 等. 人体痛阈测定方法及其应用研究进展[J]. 中国疼痛医学杂志, 2015, 21(1): 60-62.
- [11] Lei J, Jin L, Zhao Y, et al. Sex-related differences in descending norepinephrine and serotonin controls of spinal withdrawal reflex during intramuscular saline induced muscle nociception in rats[J]. Exp Neurol, 2014, 228(4): 206-214.
- [12] You HJ, Lei J, Huang L, et al. Endogenous descending modulation: spatiotemporal effect of dynamic imbalance between descending facilitation and inhibition of nociception[J]. J Physiol, 2016, 588(7): 4177-4188.
- [13] You HJ, Lei J, Xiao Y, et al. Pre-emptive analgesia and its supraspinal mechanisms: enhanced descending inhibition and decreased descending facilitation by dexmedetomidine [J]. J Physiol, 2016, 594(5): 1875-1890.

[收稿日期] 2019-08-31