

静脉注射内吗啡肽对麻醉大鼠左心室功能的影响

宗巧凤 张冠军 于 影 李正红

(蚌埠医学院 生理学教研室 安徽 蚌埠 233000)

【摘要】目的: 观察静脉注射内吗啡肽-1 和 2(EM-1、EM-2) 对大鼠左心室功能的影响, 并初步探讨其作用机理。方法: 大鼠麻醉后, 经右颈总动脉左心室插管测左心室功能(LVSP、HR、± dp/dt 等)。颈外静脉注射给药。结果: 与对照组比较, 静脉注射 EM-1、EM-2 剂量依赖性地降低麻醉大鼠左心室功能。与 EM-1/EM-2 + NS 组比较, 除一氧化氮合成酶抑制剂 L-NNA (25 mg/kg i. v.) 对 EM-1 降低心率的作用无明显影响外, 预先给予纳洛酮(1 mg/kg i. v.) 或阿托品(50 μg/kg i. v.) 或 L-NNA (25 mg/kg i. v.) 或切断双侧迷走神经均显著减弱 EM-1、EM-2 降低心功能的作用($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论: 静脉注射 EM-1、EM-2 可引起麻醉大鼠左心室功能下降, 此效应由阿片受体介导, 有胆碱能 M 受体参加, 有 NO 的参与, 与迷走神经兴奋有关。

【关键词】内吗啡肽; 阿片受体; 左心室功能

【中图分类号】R331; R961 **【文献标识码】**A

【DOI】10. 3969/j. issn. 1002-0217. 2015. 01. 002

Effect of endomorphin-1 and endomorphin-2 on the left ventricular function in anesthetized rats

ZONG Qiaofeng, ZHANG Guanjun, YU Ying, LI Zhenghong

Department of Physiology, Bengbu Medical College, Bengbu 233000, China

【Abstract】Objective: To observe the effects of intravenous injection of endomorphin-1 (EM-1) and endomorphin-2 (EM-2) on the left ventricular function in anesthetized rats, and to primarily investigate its potential mechanism. **Methods:** The left ventricular function (LVSP, HR, ± dp/dt) were measured by inserting a catheter from right carotid artery into left ventricle after intravenous injection of EM-1 and EM-2 in the anesthetized rats. **Results:** Compared with control group, EM-1 and EM-2 led to decreased dose-dependent for the left ventricular function. By comparison with EM + NS group, the decrease in left ventricular function was attenuated by pretreatment with intravenous injection of either naloxone (1 mg/kg i. v.), atropine (50 μg/kg i. v.), L-NNA (25 mg/kg i. v.) or bilateral cervical vagotomy. **Conclusion:** Intravenous administration of EM-1 and EM-2 produced inhibition effect on the left ventricular function in anesthetized rats, and the potential mechanism is associated with mediation of opioid receptor, involvement of M-cholinoceptor and NO as well as vagus nerve excitation.

【Key words】 endomorphin; opioid receptor; left ventricular function

基金项目: 安徽省高校省级自然科学基金重点项目(KJ2011A202); 蚌埠医学院研究生创新计划项目(BYYCX1307)

收稿日期: 2014-07-07

作者简介: 宗巧凤(1987-), 女, 2012 级硕士研究生, (电话) 18355250756, (电子信箱) 987376537@ qq. com;

李正红, 女, 教授, 博士, (电子信箱) lizhbmc@ 163. com, 通讯作者。

[12] Karlsson TE, Koczy J, BrenéS *et al.* Differential concerted activity induced regulation of Nogo receptors(1-3), LOTUS and Nogo mRNA in mouse brain [J]. PLoS One 2013, 8(4) : e60892.

[13] Huang Jingya, Wang Yanxia, Gu Wenli *et al.* Expression and function of myelin-associated proteins and their common receptor NgR on oligodendrocyte progenitor cells [J]. Brain Res 2012, 1437: 1 - 15.

[14] YAN Jun, ZHOU Xiao, GUO Jingjing *et al.* Nogo-66 inhibits adhesion and migration of microglia via GTPase Rho pathway *in vitro*

[J]. J Neurochem 2012, 120(5) : 721 - 731.

[15] DING Jing, LI Qinying, WANG Xin *et al.* Fasudil protects hippocampal neurons against hypoxia-reoxygenation injury by suppressing microglial inflammatory responses in mice [J]. J Neurochem, 2010, 114(6) : 1619 - 1629.

[16] CHEN Qinzong, Gupta S, Pernis AB. Regulation of TLR4-mediated signaling by IBP/Def6, a novel activator of Rho GTPases [J]. Leukoc Biol 2009, 85(3) : 539 - 543.

自 1975 年起,人们先后发现了脑啡肽、内啡肽、强啡肽和孤啡肽等内源性阿片肽(endogenous opioid peptide, EOP)。这些内源性阿片肽分布广泛,通过作用于 μ 、 κ 、 δ 和 ORL1 等多种阿片受体,在调节内分泌、心血管、胃肠和免疫功能方面起着重要的作用。EOP 广泛分布在心血管调节中枢,并与相应的阿片受体结合,影响外周交感神经张力,从而间接调节心血管活动。EOP 也可作用于心肌上的阿片受体,直接调节心脏的活动^[1-2]。

Endomorphin(内吗啡肽, EM) 是 1997 年才发现的内源性阿片肽,内吗啡肽(EM) 有两种: EM-1 (Tyr-Pro-Trp-Phe-NH₂) 和 EM-2 (Tyr-Pro-Phe-Phe-NH₂)。它们相继从牛脑^[3]和人脑^[4] 中被发现和分离出来,它们对 μ -受体有很高的亲和力和选择性,被认为是 μ -受体的内源性配体^[3]。EM 作用广泛,除了具有明确的镇痛作用外,EM 参与调节心血管活动、胃肠活动和免疫功能调节。近年来,人们通过研究内吗啡肽的构效关系,发现对 EM 进行结构修饰后产生的类似物能够减少成瘾、致便秘等副作用,可能是一类极有潜力的阿片类镇痛药^[5],但是 EM 对心血管系统的作用影响 EM 镇痛药的研发。目前在降血压方面对 EM 研究较多,而 EM 对大鼠心脏功能(LVSP, \pm dp/dt) 是否有影响,尚未见报道;本实验采用静脉注射(intravenous injection, i. v.), 观察 EM-1 和 EM-2 对麻醉大鼠左心室功能(LVSP, \pm dp/dt) 的影响,并初步探讨其作用机理,为 EM 镇痛药的研发及临床应用提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物 采用成年雄性 Wistar 大鼠,体质量 250 ~ 300 g,由蚌埠医学院动物中心提供。

1.2 实验材料 EM-1、EM-2、盐酸纳洛酮(naloxone hydrochloride, Nx)、N ω 硝基-L-精氨酸(N ω -nitro-larginine, L-NNA) (均为美国 Sigma 公司产品),所有药品均用 0.9% 生理盐水配制,硫酸阿托品(蚌埠涂山制药厂 0.5 mg/mL),肝素(上海慧兴生化试剂有限公司),Medlab 生物信号采集处理系统(南京美易公司)。

1.3 动物分组 动物随机分为生理盐水对照组, EM-1 和 EM-2 给药各 3 个剂量组: 12.5 μ g/kg(EM-1A 组, EM-2A 组), 25.0 μ g/kg(EM-1B 组, EM-2B 组), 50.0 μ g/kg(EM-1C 组, EM-2C 组), 预处理阿托品(Atro, 50.0 μ g/kg), 纳洛酮(Nx, 1 mg/kg), L-

NNA(25 mg/kg), 双侧迷走神经切断(Vagotomy) + EM-1/EM-2(25.0 μ g/kg) 组, 每组 8 只。均采用颈外静脉注射给药,分别在给药前、给药后(下降最低时)测定心功能。预处理组在给 EM-1、EM-2 前 10 min 预先注射。

1.4 大鼠心室功能测定 大鼠用 20% 氨基甲酸异戊脂(5 mL/kg) 腹腔注射麻醉,仰卧固定,颈正中切口,气管插管,分离左侧的颈外静脉,建立给药途径,手术游离右侧颈总动脉,从右颈总动脉插管(直径 1.5 mm, 充满 1% 肝素),经压力换能器连接 Medlab 生物信号采集处理系统,进行同步连续纪录。记录一段血压后,继续插入,使之通过动脉瓣进入左心室,记录室内压曲线,分析测量左心室收缩压(left ventricular systolic pressure, LVSP),左心室舒张末期压力(LVEDP),室内压最大上升速率(+ dp/dt max),室内压最大下降速率(- dp/dt max), HR(心率)等心功能指标。稳定 20 min 后静脉注射给药观察上述指标的变化。

1.5 统计学方法 采用单因素方差分析和 q 检验, $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 EM-1 和 EM-2 对麻醉大鼠心功能的影响 与对照组比较, EM-1 和 EM-2 不同剂量(12.5 μ g/kg、25.0 μ g/kg、50.0 μ g/kg) 给药前各项指标均无显著差异($P > 0.05$), 3 组均引起麻醉大鼠的心功能(LVSP、HR、 \pm dp/dt) 下降($P < 0.01$, 表 1、2), 且有剂量依赖性。但对左心室舒张末期压力(LVEDP) 却无显著影响($P > 0.05$), EM-1 或 EM-2 给药后 30 ~ 60 s 室内压开始下降, 1 ~ 2 min 达到最低值, 6 ~ 10 min 后完全恢复。

2.2 纳洛酮、阿托品和 L-NNA 及剪断双侧迷走神经对 EM 引起心功能降低的影响 静脉注射纳洛酮(Nx, 1 mg/kg), 阿托品(Atro, 50 μ g/kg), L-NNA(25 mg/kg) 和相同容量的生理盐水(NS), 剪断双侧迷走神经作为预处理, 10 min 后再静脉注射 EM-1 或 EM-2(25.0 μ g/kg)。结果表明, 除一氧化氮合成酶抑制剂 L-NNA(25 mg/kg, i. v.) 对 EM-1 降低心率的作用无明显影响外, 纳洛酮、阿托品、L-NNA、剪断双侧迷走神经可减弱 EM-1 和 EM-2 对心功能指标(LVSP、HR、 \pm dp/dt) 的降低作用(见表 3 $\bar{x} \pm s_d$ 表示给 EM-1/EM-2 之后各指标变化值的均数 \pm 标准差)。

表1 EM-1 对大鼠心功能的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	LVSP(mmHg)	LVEDP(mmHg)	HR(beat/min)	+ dp/dt(mmHg/s)	- dp/dt(mmHg/s)
Control	131.0 ± 9	3.3 ± 1.2	342.0 ± 34	6 497.0 ± 756	4 679.0 ± 345
EM-1A	113.0 ± 9**	3.2 ± 1.4	305.0 ± 31**	5 336.0 ± 756**	4 207.0 ± 345*
EM-1B	107.0 ± 8**	3.0 ± 0.5	291.0 ± 18**	4 404.0 ± 442*	3 782.0 ± 334**
EM-1C	100.0 ± 7***	2.8 ± 0.7	269.0 ± 18***	3 431.0 ± 248*** Δ	3 357.0 ± 492*** Δ
F 值	21	0.38	10.87	39.19	17.39
P 值	<0.01	>0.05	<0.01	<0.01	<0.01

q 检验: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs EM-1A; $\Delta P < 0.05$ vs EM-1B

表2 EM-2 对大鼠心功能的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	LVSP(mmHg)	LVEDP(mmHg)	HR(beat/min)	+ dp/dt(mmHg/s)	- dp/dt(mmHg/s)
Control	131.0 ± 9	3.3 ± 1.2	342.0 ± 34	6 497.0 ± 756	4 679.0 ± 345
EM-2A	116.0 ± 9**	3.1 ± 1.1	311.0 ± 31*	5 438.0 ± 750**	4 257.0 ± 346*
EM-2B	111.0 ± 8**	3.0 ± 0.6	295.0 ± 16**	4 544.0 ± 432*	3 885.0 ± 337**
EM-2C	103.0 ± 7***	3.1 ± 0.6	278.0 ± 19*#	4 031.0 ± 248***	3 558.0 ± 490***
F 值	16.16	0.15	8.9	27	13
P 值	<0.01	>0.05	<0.01	<0.01	<0.01

q 检验: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs EM-2A

表3 纳洛酮、阿托品和 L-NNA 及剪断双侧迷走神经对 EM 引起心功能降低的影响($\bar{d} \pm s_d, n=8$)

	LVSP(mmHg)	HR(beat/min)	+ dp/dt(mmHg/s)	- dp/dt(mmHg/s)
EM-1 + NS	-24.6 ± 7.3	-56.0 ± 25	-2 111.0 ± 445	-945.0 ± 77
EM-1 + Nx	-7.3 ± 4.7**	-12.0 ± 2**	-336.0 ± 48**	-184.0 ± 13**
EM-1 + Atro	-11.6 ± 7.2**	-19.0 ± 3**	-525.0 ± 68**	-292.0 ± 47**
EM-1 + Vagotomy	-9.3 ± 3.1**	-15.0 ± 4**	-432.0 ± 54**	-276.0 ± 36**
EM-1 + L-NNA	-18.5 ± 1.7*	-42.0 ± 27	-949.0 ± 106**	-416.0 ± 87**
F 值	15	11	98	210
P 值	$P < 0.01$	$P < 0.01$	$P < 0.01$	$P < 0.01$
EM-2 + NS	-21.8 ± 9.3	-51.0 ± 8	-1 972.0 ± 189	-810.0 ± 105
EM-2 + Nx	-5.5 ± 1.4#	-9.0 ± 2#	-286.0 ± 56#	-170.0 ± 35#
EM-2 + Atro	-9.3 ± 2.3#	-17.0 ± 6#	-354.0 ± 67#	-129.0 ± 52#
EM-2 + Vagotomy	-6.4 ± 1.8#	-14.0 ± 1#	-313.0 ± 45#	-186.0 ± 41#
EM-2 + L-NNA	-14.2 ± 5.1#	-29.0 ± 15#	-876.0 ± 101#	-405.0 ± 63#
F 值	15	34	370	140
P 值	$P < 0.01$	$P < 0.01$	$P < 0.01$	$P < 0.01$

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs EM-1 + NS; # $P < 0.01$ vs EM-2 + NS

3 讨论

阿片肽和阿片受体自发现以来,就成为了生命科学的研究热点。内啡肽是近年来发现的新的内源性阿片肽,以往研究 EM 对心血管活动调节的实验大多是观察 EM 对动物血压的影响,有静脉注射,也有中枢注射^[11];既有对麻醉动物,也有对清醒动物,但 EM 对整体动物心脏收缩力学形式的直接效应,尚未见文献报道。一般认为,在研究循环系统的功能,特别是对血流动力学的研究时,左室功能参数是一项很重要的指标,这些参数包括左室收缩压(LVSP)、左室舒张末压(LVEDP)、左室压变化最大速率($\pm dp/dt$)等,其中 LVSP 和 + dp/dt 更为直接准

确地反映心肌收缩功能。

本实验观察了静脉注射 EM-1 和 EM-2 对麻醉大鼠心功能的影响,结果表明:①静脉注射 EM-1, EM-2 能剂量依赖性减弱麻醉大鼠心脏收缩功能,降低 LVSP、 $\pm dp/dt$ 、HR。②阿片受体阻断剂纳洛酮、M 受体阻断剂阿托品、NOS 阻断剂 L-NNA 或剪断双侧迷走神经可显著减弱 EM 降低心功能的效应。

许多文献报道,内啡肽静脉注射能剂量依赖地降低大鼠、小鼠、兔等动物的血压^[6-10],其作用可被阿片受体拮抗剂纳洛酮阻断,并且与兴奋迷走神经降低心率和心输出量,促进内皮 NO 释放降低外周阻力有关^[12-13]。本实验发现 EM 静脉注射能剂

量依赖地降低麻醉大鼠心功能,并且其作用被纳洛酮、阿托品及剪断双侧迷走神经阻断,说明EM对麻醉大鼠心功能的抑制效应由 μ -阿片受体介导,有胆碱能M受体参加,通过兴奋迷走神经所致,与文献报道EM对大鼠血压的抑制作用一致。但是文献报道在成年大鼠心脏上至今没发现 μ 阿片受体分布^[14],因此,可以推测EM对大鼠心功能的影响是间接的,可能通过作用于中枢或外周其他部位 μ 阿片受体,与兴奋迷走神经有关。

NO合成酶抑制剂L-NNA可通过抑制NO合成酶的活性而抑制NO的生成。EM和吗啡一样静脉注射通过促进血管内皮释放NO,舒张血管,降低血压^[15]。那么EM降低心功能是否与NO有关?有文献报道NO对心肌细胞可产生负性肌力作用、增强舒张功能^[16-17];本实验发现EM对心功能的抑制效应可被L-NNA部分阻断,说明有可能是内皮释放的NO直接作用于心肌,也可能是NO主要降低血压降低心脏后负荷,继而导致LVSP降低,静脉注射EM抑制心血管活动可能与NO有关。

【参考文献】

- [1] 唐博,王洪新.阿片肽及阿片受体在心血管系统作用及机制的研究进展[J].辽宁医学院学报 2007 28(5):81-83.
- [2] 韩金旺,严文魁.阿片肽对心血管功能的影响[J].皖南医学院学报,1995,14(1):71-73.
- [3] Zadina JE, Hackler L, Ge LJ *et al.* A potent and selective endogenous agonist for the μ -opioid receptor [J]. *Nature*, 1997, 386(6624): 499-502.
- [4] Hackler L, Zadina JE, Ge LJ *et al.* Isolation of relatively large amounts of endomorphin-1 and endomorphin-2 from human brain cortex [J]. *Peptides*, 1997, 18(10): 1635-1639.
- [5] 隋秉东,许浩坤,赵旭,等.内吗啡肽结构改造及其对心血管系统的作用[J].神经解剖学杂志 2011 27(5):583-586.
- [6] Champion HC, Zadina JE, Kastin AJ *et al.* The endogenous μ -opioid agonists endomorphin 1 and 2 have novel hypotensive activity in the rabbit [J]. *Biochim Biophys Res Commun*, 1997, 235(3): 567-570.
- [7] Champion HC, Zadina JE, Kastin AJ *et al.* Endomorphin 1 and 2 have vasodepressor activity in the anesthetized mouse [J]. *Peptides*, 1998, 19(5): 925-929.
- [8] Champion HC, Bivalacqua TJ, Lambert DG *et al.* Endomorphin 1 and 2, the endogenous μ -opioid agonists, produce biphasic changes in systemic arterial pressure in the cat [J]. *Life Sci*, 1998, 63(9): PL131-136.
- [9] Kwok EH, Dun NJ. Endomorphins decrease heart rate and blood pressure possibly by activating vagal afferents in anesthetized rats [J]. *Brain Res*, 1998, 803(1-2): 204-207.
- [10] Czapl MA, Champion HC, Zadina JE *et al.* Endomorphin 1 and 2, endogenous μ -opioid agonists, decrease systemic arterial pressure in the rat [J]. *Life Sci*, 1998, 62(13): PL175-179.
- [11] 吴宁,霍笑风,陈强,等.侧脑室注射内吗啡肽-1对麻醉大鼠血压的影响[J].药学学报 2001 36(10):731-734.
- [12] 吴宁,任维华,霍笑风,等.内吗啡肽及其类似物对心血管系统的影响[J].药学学报 2001 36(4):241-245.
- [13] Qi Yuanming, Yang Dingjian, Duan Xin *et al.* Endomorphins inhibit contractile responses of rat thoracic aorta rings induced by phenylephrine and angiotensin II *in vitro* [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2002, 23(1): 40-44.
- [14] 白三省,陈文生,杨阳,等. μ 阿片受体在大鼠腹主动脉、心脏和肾脏的分布和定位[J].中国体外循环杂志 2012, 10(4):239-242.
- [15] Champion HC, Bivalacqua TJ, Zadina JE *et al.* Vasodilator response to the endomorphin peptides but not nociceptin/OFQ are mediated by nitric oxide release [J]. *Ann NY Acad Sci*, 1999, 897: 165-172.
- [16] Brady AJ, Warren JB, Poole-Wilson PA *et al.* Nitric oxide attenuates cardiac myocyte contraction [J]. *Am J Physiol*, 1993, 265(1 pt 2): H176-182.
- [17] Balligand JL, Kelly RA, Marsden PA *et al.* Control cardiac muscle cell function by an endogenous nitric oxide signaling system [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 1993, 90(1): 347-351.