

## Urocortin 对大鼠和兔离体心肌组织的选择性正性肌力效应

朱忠宁, 赵 丁, 任雷鸣\*

(河北医科大学药学院药理学研究室, 河北 石家庄 050017)

**摘要:** 目的 研究 urocortin 对心脏的作用。方法 采用大鼠及兔离体右心房肌, 左(大鼠), 右(兔)心室乳头肌和大鼠离体右心室肌条标本, 观察 urocortin 对心肌收缩力及心率的影响; 采用细胞内微电极技术观察 urocortin 对大鼠离体乳头肌和左心房肌细胞动作电位的影响。结果 Urocortin  $1 \sim 30 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度依赖性地增强大鼠右心房肌收缩力, urocortin  $10$  和  $30 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  使收缩力分别增加  $(38 \pm 16)\%$  和  $(61 \pm 17)\%$ ; urocortin 的正性肌力作用明显强于同等浓度去甲肾上腺素的正性肌力作用。Urocortin 不影响大鼠离体右心房的心率, 左室乳头肌和右心室肌条的收缩力, 对兔离体右心房和右室乳头肌亦无明显作用;  $\beta$ 受体激动剂对上述标本则产生明显的正性频率作用和正性肌力作用。Urocortin  $30 \sim 300 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  明显升高大鼠左心室乳头肌的动作电位幅值和超射值; urocortin  $30 \sim 100 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  明显升高大鼠左心房肌的动作电位幅值和超射值。结论 Urocortin 对大鼠离体心房具有很强的正性肌力作用。Urocortin 的正性肌力作用具有明显的种属差异和组织学差异。

**关键词:** 强心药; urocortin; 心肌; 心肌收缩; 乳头肌

中图分类号: R972

文献标识码: A

文章编号: 1000-3002(2005)06-0428-08

Urocortin (Ucn) 与促肾上腺皮质激素释放激素 (corticotropin releasing factor, CRF)、硬骨鱼紧张肽 (urotensin) 和蛙皮降压肽 (sauvagine) 在分子结构和生

物学活性方面有较高的同源性, 同属于 CRF 家族。CRF 在中枢神经系统参与机体应激反应的调节<sup>[1]</sup>, 在周围组织参与血管张力的调控<sup>[2,3]</sup>。作为同源性肽类激素, Ucn 先后自大鼠和人脑内发现<sup>[4,5]</sup>。Ucn 对大鼠可产生强而持久的降压作用, 对离体人隐静脉, 大鼠脑动脉, 大鼠冠状动脉具有扩血管作用<sup>[6]</sup>。早在 1995 年, Vaughan 等<sup>[4]</sup>发现, Ucn 在降低清醒大鼠血压的同时加快心率, 但是不清楚 Ucn 是否直接作用于心脏。麻醉大鼠静脉注射 Ucn 后, 降低动脉血压, 加快心率, 增加主动脉最大血流量和主动脉血流量的变化速率 ( $d_f/d_t$ ) 值<sup>[7]</sup>; Ucn 剂量依赖性地加快清醒羊的心率, 增加主动脉最大血流量和主动脉  $d_f/d_t$  值, 阻断交感神经后 Ucn 仍然能产生同样的作用<sup>[8]</sup>。麻醉小鼠静脉注射 Ucn 后, 全身血管阻力下降, 心率加快, 左室内压的变化速率 +  $d_p/d_t$  峰值增高<sup>[9]</sup>。为了进一步分析 Ucn 对心脏的作用, 作者首次观察了 Ucn 对大鼠和兔离体右心房, 心室乳头肌和大鼠右心室肌的作用, 并研究了 Ucn 对大鼠心室乳头肌和左心房肌细胞动作电位的影响。

### 1 材料与方法

#### 1.1 试剂和药品

Ucn(大鼠;合成), Sigma 公司产品, 用 0.5% 的牛血清白蛋白 (BSA) 配制成  $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的母液, 冻于  $-20^\circ\text{C}$  冰箱, 实验时用 BSA 将 Ucn 稀释成所需浓度。BSA, 去甲肾上腺素 (norepinephrine, NE) Sigma 公司产品。盐酸异丙肾上腺素 (isoprenaline) 注射液, 上海禾丰制药有限公司, 批号 3E20001。

#### 1.2 动物

Wistar 大鼠, 体重  $300 \sim 350 \text{ g}$ , 雌雄不限, 合格证号: DK0407-0027; 新西兰白兔, 体重  $2.2 \sim 3.0 \text{ kg}$ , 雌雄不限, 合格证号: DK0407-0056。以上动物均由河北医科大学实验动物中心提供。实验时, 以戊巴比妥钠麻醉动物(大鼠腹腔注射  $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 兔耳静脉注射  $25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )后, 颈动脉放血处死动物。

来稿日期: 2005-04-04 接受日期: 2005-07-11

作者简介: 朱忠宁(1970-), 男, 博士研究生。任雷鸣(1956-), 男, 博士生导师, 教授, 主要从事神经和心血管药理学研究。

\* 联系作者 E-mail: ren-leiming@263.net Tel: (0311) 85110002

### 1.3 Krebs 溶液的配制

其成分为( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ): NaCl 118.3, KCl 4.6,  $\text{CaCl}_2$  2.5,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1.2,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  1.0,  $\text{NaHCO}_3$  25.0, 葡萄糖 11.1。除  $\text{NaHCO}_3$  和葡萄糖于实验前临时加入外,其他成分均配成高浓度母液并于临用前稀释至所需浓度。配制好的溶液用盐酸调 pH 至 7.2~7.4。

### 1.4 标本的制备<sup>[10-13]</sup>

右心房肌(含窦房结)标本:大鼠或兔处死后,迅速开胸,剪断与心脏相连大血管,取出心脏置于充氧的冷 Krebs 溶液中,沿房室沟剪去心室,小心剪下右心耳,注意勿损伤窦房结。在右心耳两端尖部各系一丝线,一端固定于麦氏浴槽底部,另一端连接张力换能器;施静息张力 1 g,并通过 MedLab U/4CS 生物信号采集处理系统(南京美易生物科技有限公司)记录心率和心肌收缩力。麦氏浴槽内盛有 10 mL Krebs 溶液,连续通以 95%  $\text{O}_2$  + 5%  $\text{CO}_2$  混合气体,维持温度 34.5~35.5℃,平衡 1 h 后开始实验。

乳头肌标本:动物处死后,迅速开胸,剪断与心脏相连大血管,取出心脏置于充氧的冷 Krebs 溶液中,用虹膜剪沿心室缘将左心室(大鼠)或右心室(家兔)剪开,充分暴露心室腔,选一完整乳头肌,在其腱索上端用丝线结扎,沿基底部向心室肌方向切开少许并结扎,在两结扎线的外侧剪断。标本一端固定于带有刺激电极的支架上,迅速放入盛有 10 mL 的 Krebs 溶液的浴槽内;标本另一端连接张力换能器,施静息张力 1 g。浴槽内连续通以 95%  $\text{O}_2$  + 5%  $\text{CO}_2$  混合气,维持温度 34.5~35.5℃。平衡 1 h 后,电刺激(波宽 4 ms,频率 1 Hz, 120% 阈电压)驱动乳头肌收缩,通过 MedLab U/4CS 生物信号采集处理系统观察和记录收缩力变化。

大鼠乳头肌电生理实验标本的制备:制备大鼠左心室乳头肌标本(方法同上),以不锈钢针固定于恒温灌流槽底部,以 34.5~35.5℃ 恒温 Krebs 溶液恒速灌流,流速  $4 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ,灌流液充以 95%  $\text{O}_2$  + 5%  $\text{CO}_2$  混合气体,铂丝刺激电极固定于乳头肌标本两端,SEN-3201 电刺激器(Nihon Kohden 公司)输出方波刺激信号(波宽 1 ms,频率 1 Hz, 150% 阈电压)。乳头肌标本持续灌流并刺激 30 min 后,插入玻璃微电极,引出的电位信号经 IE-210 电信号测量仪(美国 Warner 仪器公司)放大后,输至 MS-1213 高速模数转换器,经计算机自动记录并分析图形。

大鼠左心房肌电生理实验标本的制备:大鼠处死

后,迅速开胸,剪断与心脏相连大血管,取出心脏置于充氧的冷 Krebs 溶液中,沿房室沟剪去心室,小心剪下左心耳,以不锈钢针固定于恒温灌流槽底部,以 34.5~35.5℃ 恒温 Krebs 溶液恒速灌流,流速  $4 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ,灌流液充以 95%  $\text{O}_2$  + 5%  $\text{CO}_2$  混合气体,铂丝刺激电极固定于标本两端,SEN-3201 电刺激器(Nihon Kohden 公司)输出方波刺激信号(波宽 1 ms,频率 1 Hz, 150% 阈电压)。标本持续灌流并刺激 30 min 后,插入玻璃微电极,引出的电位信号经 IE-210 电信号测量仪(美国 Warner 仪器公司)放大后,输至 MS-1213 高速模数转换器,经计算机自动记录并分析图形。

### 1.5 实验设计

#### 1.5.1 Ucn 对大鼠离体右心房自发活动的影响

标本平衡 1 h 后,按累积给药法用微量注射器将 10, 20, 7, 20 和 7  $\mu\text{L}$  的 0.5% 的 BSA 溶液加入浴槽,作为溶媒对照。另取新鲜标本,将 NE 1, 3, 10, 30, 100  $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  按累积给药法加入浴槽,观察 NE 的作用。Ucn(1, 3, 10, 30  $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )亦按累积给药法加入浴槽,观察心房肌收缩力和收缩频率的变化。每一标本只给一种药物,计算给药后药物的作用。

#### 1.5.2 Ucn 对兔离体右心房自发活动的影响

标本平衡 1 h 后,按累积给药法用微量注射器将 10, 20, 7, 20 和 7  $\mu\text{L}$  的 0.5% 的 BSA 溶液加入浴槽,作为溶媒对照。另取新鲜标本,将异丙肾上腺素(1, 3, 10, 30 和 100  $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )按非累积给药法依次加入浴槽,每一浓度达最大反应后反复冲洗,平衡 30 min 再给下一浓度;观察异丙肾上腺素的作用。Ucn(1, 3, 10 和 30  $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )按累积给药法加入浴槽,观察心房肌收缩力和收缩频率的变化。每一标本只给一种药物,计算给药后药物的作用。

#### 1.5.3 Ucn 对大鼠和兔离体心室乳头肌收缩力的影响

标本平衡 1 h 后,按累积给药法用微量注射器将 10, 20, 7, 20 和 7  $\mu\text{L}$  的 0.5% 的 BSA 溶液加入浴槽,作为溶媒对照。另取新鲜标本,将异丙肾上腺素(10, 30, 100 和 300  $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )按非累积给药法依次加入浴槽,每一浓度达最大反应后反复冲洗,平衡 30 min 再给下一浓度。观察异丙肾上腺素的作用。Ucn(1, 3, 10 和 30  $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )按累积给药法加入浴槽,观察心室乳头肌收缩力变化。每一标本只给一种药物,计算给药后药物的作用。

#### 1.5.4 Ucn 对大鼠离体左心室乳头肌和左心房肌动作电位的影响

用微量注射器将 Ucn 注入标本槽内,分别记录

给药前, 给药后 10, 20, 30 s 和 1, 2, 4, 6, 8 和 30 min 的细胞跨膜动作电位(action potential, AP), 分析静息电位(resting potential, RP), 动作电位幅值(amplitude of AP, APA), 超射值(overshoot, OS), 动作电位复极 50% 和 90% 的时间(duration of 50%/90% repolarization of AP, APD<sub>50</sub>, APD<sub>90</sub>), 0 期最大上升速率( $V_{max}$ )的变化。待前一浓度的药效完全消失后再给下一浓度, 给药间隔 30 min。实验分两组: (1) 溶媒对照组, 依次给予 15, 45, 15 和 45  $\mu\text{L}$  的 0.5% 的 BSA 溶液; (2) Ucn 组, 依次给予 1  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 Ucn 15 和 45  $\mu\text{L}$ , 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 Ucn 15 和 45  $\mu\text{L}$ , 浴槽内 Ucn 的终浓度分别为 10, 30, 100 和 300  $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

### 1.6 数据处理

心肌收缩力实验: 累积给药法以药前值为 100%, 计算给药后心肌收缩力和心率的变化率[(药后值 - 药前值)/药前值], 实验数据以实测值和变化率的  $\bar{x} \pm s$  表示。统计学处理采用重复测量方差分析和 Dunnett 检验, 两组间比较采用组间  $t$  检验。非累积给药法心肌收缩力或心率以实测值的  $\bar{x} \pm s$  表示, 用药前后比较采用配对  $t$  检验。心肌电生理实验: AP 各参数均以实测值的  $\bar{x} \pm s$  表示。用药前后比较采用配对  $t$  检验。统计学处理使用 Instat-2 软件, 图形处理使用 Prism 软件。

## 2 结果

### 2.1 Ucn 对大鼠离体右心房及左心室乳头肌的作用

给药前大鼠右心房心肌收缩力为  $(0.13 \pm 0.04) \text{g}$  ( $n = 7$ )。溶媒对大鼠右心房心肌收缩力无明显影响 ( $P > 0.05, n = 7$ , 数据略); Ucn 1, 3, 10 和 30  $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$  浓度依赖性地增强大鼠右心房心肌收缩力(图 1 A), Ucn 10 和 30  $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$  使收缩力分别增加  $(37.5 \pm 16.3)\%$  和  $(60.6 \pm 17.1)\%$  (表 1)。NE 1, 3, 10, 30 和 100  $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$  亦可浓度依赖性地加强大鼠心肌收缩力(图 1A), 但是 10 和 30  $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$  NE 的正性肌力作用显著弱于同浓度 Ucn 的作用(表 1)。

给药前大鼠右心房心率为  $(208 \pm 54) \text{min}^{-1}$  ( $n = 7$ )。溶媒对大鼠心率无明显影响 ( $P > 0.05, n = 7$ , 数据略); Ucn 10 和 30  $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$  使大鼠心率分别减少  $(8.7 \pm 12.8)\%$  和  $(8.2 \pm 13.9)\%$ , 但无统计学差异 ( $P > 0.05$ , 表 2); NE 1, 3, 10, 30 和 100  $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$  浓度依赖性地加快心率(表 2)。

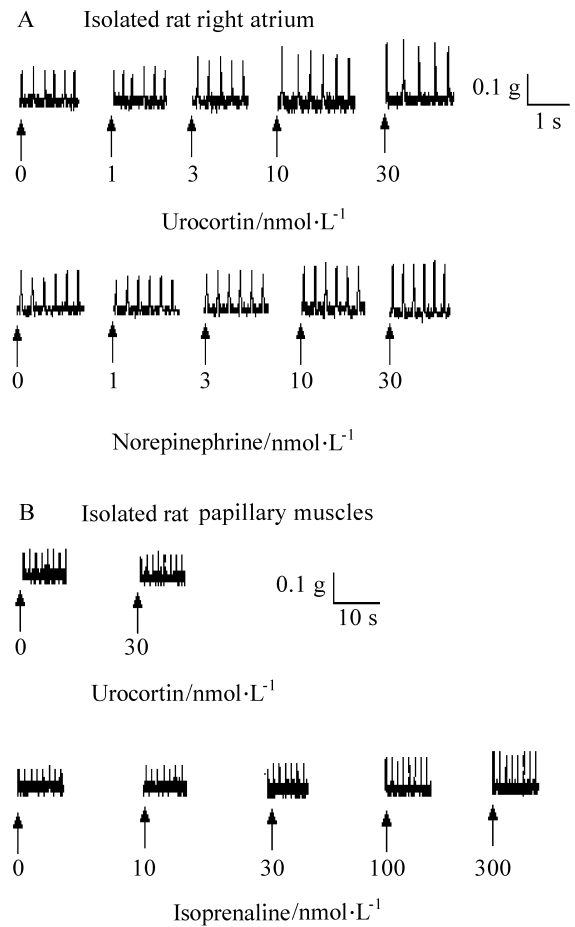


Fig 1. Representative traces showing effects of urocortin, norepinephrine and isoprenaline on contractile force in isolated right atrium (A) and papillary muscles of rats (B).

Tab 1. Effects of urocortin (Ucn) and norepinephrine (NE) on contractile force (CF) in isolated right atrium of rats

Concentration/ $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$	CF/g	Change/%
Ucn 0	$0.13 \pm 0.03$	$0 \pm 0$
1	$0.14 \pm 0.03$	$10 \pm 8$
3	$0.15 \pm 0.03$	$20 \pm 16^{**}$
10	$0.18 \pm 0.03$	$38 \pm 16^{**}$
30	$0.21 \pm 0.04$	$61 \pm 17^{**}$
NE 0	$0.14 \pm 0.02$	$0 \pm 0$
1	$0.14 \pm 0.01$	$2 \pm 4$
3	$0.15 \pm 0.01$	$12 \pm 10$
10	$0.16 \pm 0.01$	$20 \pm 11^{**\#}$
30	$0.17 \pm 0.01$	$29 \pm 18^{**\#}$
100	$0.20 \pm 0.02$	$50 \pm 18^{**}$

Ucn and NE were administered accumulatively, and the contractile responses to Ucn and NE were expressed as percent change in contractile force as compared with that at  $0 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ .  $\bar{x} \pm s, n = 7$ .  $^{**} P < 0.01$ , compared with  $0 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$  by repeated measures ANOVA;  $^{\#} P < 0.05$ , compared with the same concentration of Ucn by  $t$  test.

**Tab 2. Effects of Ucn and NE on heart rate (HR) in isolated right atrium of rats**

Concentration/nmol·L <sup>-1</sup>	HR/min <sup>-1</sup>	Change/%
Ucn 0	208 ± 54	0 ± 0
1	197 ± 54	-3.3 ± 4.2
3	195 ± 64	-8.7 ± 12.9
10	195 ± 64	-8.7 ± 12.8
30	196 ± 65	-8.2 ± 13.9
NE 0	210 ± 11	0 ± 0
1	213 ± 12	1.4 ± 2.2
3	232 ± 38	10.5 ± 19.7
10	251 ± 53	19.8 ± 26.9
30	264 ± 44	26.2 ± 23.5*
100	302 ± 48	44.6 ± 28.3**

Ucn and NE were administered accumulatively, and the responses of heart rate to Ucn and NE were expressed as percent change in heart rate as compared with that at 0 nmol·L<sup>-1</sup>.  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 7$ . \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , compared with 0 nmol·L<sup>-1</sup> by repeated measures ANOVA.

给药前大鼠左心室乳头肌收缩力为(0.09 ± 0.02)g( $n = 5$ )。溶媒对大鼠左心室乳头肌收缩力无明显影响( $P > 0.05$ ,  $n = 5$ , 数据略)。Ucn 1, 3, 10 和 30 nmol·L<sup>-1</sup>累积给药后, 大鼠乳头肌收缩力与用药前相比无明显变化[均为(0.09 ± 0.02)g](图 1B)。异丙肾上腺素 10, 30, 100 和 300 nmol·L<sup>-1</sup>浓度依赖性地加强乳头肌收缩力(图 1B), 100 和 300 nmol·L<sup>-1</sup>异丙肾上腺素使收缩力分别增加(32.1 ± 9.7)% 和(54.8 ± 10.2)% (表 3)。

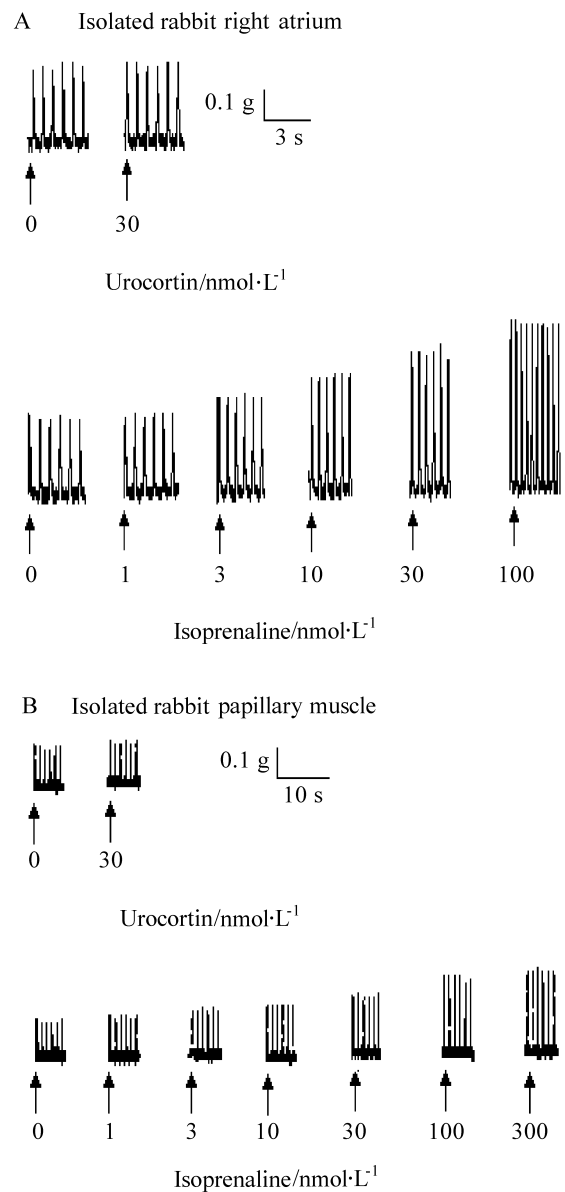
**Tab 3. Effects of isoprenaline (Iso) on CF in isolated papillary muscle of rats**

Iso/nmol·L <sup>-1</sup>	CF/g	
	Before	After
10	0.09 ± 0.02	0.10 ± 0.03
30	0.08 ± 0.02	0.10 ± 0.02
100	0.09 ± 0.02	0.12 ± 0.02**
300	0.08 ± 0.01	0.13 ± 0.03**

Iso was administered in an unaccumulative manner.  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 5$ . \*\*  $P < 0.01$ , compared with before drug by paired  $t$  test.

**2.2 Ucn 对兔离体右心房及右心室乳头肌的作用**  
给药前兔右心房心肌收缩力为(0.30 ± 0.16)g

( $n = 5$ )。溶媒对兔右心室心肌收缩力无明显影响( $P > 0.05$ ,  $n = 5$ , 数据略); Ucn 1, 3, 10 和 30 nmol·L<sup>-1</sup>累积给药后, 兔右心室心肌收缩力分别为(0.30 ± 0.16), (0.30 ± 0.22), (0.30 ± 0.20) 和(0.30 ± 0.16)g( $n = 5$ ), 与用药前相比无明显变化(图 2A); 异丙肾上腺素 1, 3, 10, 30 和 100 nmol·L<sup>-1</sup>浓度依赖性地加强心房肌收缩力(图 2A), 30 和 100 nmol·L<sup>-1</sup>异丙肾上腺素使收缩力分别增加(51.7 ± 10.8)% 和(112.5 ± 23.58)% (表 4)。



**Fig 2. Representative traces showing effects of urocortin and isoprenaline on contractile force in isolated right atrium (A) and papillary muscle (B) of rabbits.**

**Tab 4. Responses of CF and HR to Iso in isolated right atrium and papillary muscle of rabbits**

Iso/nmol·L <sup>-1</sup>	Right atrium CF/g		Right atrium HR/min <sup>-1</sup>		Papillary muscles CF/g	
	Before	After	Before	After	Before	After
1	0.30 ± 0.16	0.32 ± 0.15	132 ± 21	146 ± 27	0.13 ± 0.03	0.14 ± 0.03
3	0.28 ± 0.15	0.36 ± 0.19*	130 ± 16	157 ± 27	0.13 ± 0.02	0.15 ± 0.03
10	0.28 ± 0.14	0.41 ± 0.19*	125 ± 14	156 ± 15*	0.13 ± 0.04	0.16 ± 0.04
30	0.27 ± 0.18	0.40 ± 0.25**	126 ± 13	181 ± 9**	0.13 ± 0.04	0.17 ± 0.03*
100	0.27 ± 0.12	0.58 ± 0.30**	121 ± 19	233 ± 31**	0.13 ± 0.03	0.21 ± 0.02**
300	-	-	-	-	0.13 ± 0.03	0.24 ± 0.03**

Iso was administered in an unaccumulative manner.  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 5$ . \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , compared with before drug by paired  $t$  test.

给药前兔右心房收缩频率为(133 ± 21) min<sup>-1</sup> ( $n = 5$ )。溶媒对兔心率无明显影响( $P > 0.05$ ,  $n = 5$ , 数据略)。Ucn 1, 3, 10 和 30 nmol·L<sup>-1</sup> 累积给药后, 兔心率分别为(133 ± 20), (133 ± 27), (131 ± 26) 和(132 ± 21) min<sup>-1</sup> ( $n = 5$ ), 与用药前相比无明显差异( $P > 0.05$ ); 异丙肾上腺素 1, 3, 10, 30 和 100 nmol·L<sup>-1</sup> 浓度依赖性地加快心率, 30 和 100 nmol·L<sup>-1</sup> 异丙肾上腺素使心率分别增加(44.1 ± 12.8)% 和(94.7 ± 18.2)% (表 4)。

给药前兔右心室乳头肌收缩力为(0.13 ± 0.03) g ( $n = 5$ )。溶媒对兔右心室乳头肌收缩力无明显影响( $P > 0.05$ ,  $n = 5$ , 数据略)。Ucn 1, 3, 10 和 30 nmol·L<sup>-1</sup> 累积给药后, 兔乳头肌收缩力分别为(0.13 ± 0.03), (0.13 ± 0.04), (0.13 ± 0.04) 和(0.13 ± 0.03)g, 与用药前相比无明显变化(图 2B); 异丙肾上腺素 1, 3, 10, 30, 100 和 300 nmol·L<sup>-1</sup> 浓度依赖性

地加强乳头肌收缩力(图 2B), 100 和 300 nmol·L<sup>-1</sup> 异丙肾上腺素使收缩力分别增加(67.0 ± 25.4)% 和(86.0 ± 25.1)% (表 4)。

**2.3 Ucn 对大鼠左心室乳头肌动作电位的影响**

溶媒对乳头肌 AP 各参数无显著影响( $P > 0.05$ ,  $n = 7$ , 数据略)。Ucn 10, 30, 100 和 300 nmol·L<sup>-1</sup> 浓度依赖性地增高乳头肌细胞 APA [(2.4 ± 1.6)% ~ (11.8 ± 1.6)%], OS [(3.6 ± 2.6)% ~ (23.7 ± 2.5)%], 轻微升高  $V_{max}$  [(2.1 ± 0.8)% ~ (10.7 ± 3.0)%] (表 5, 图 3A)。

**2.4 Ucn 对大鼠左心房肌动作电位的影响**

溶媒对左心房肌 AP 各参数无显著影响( $P > 0.05$ ,  $n = 5$ , 数据略)。Ucn 10, 30, 100 nmol·L<sup>-1</sup> 浓度依赖性地增高左心房肌细胞 APA [(3.2 ± 3.3)% ~ (7.2 ± 5.4)%], OS [(10.6 ± 4.4)% ~ (37.0 ± 21.56)%] 和  $V_{max}$  [(2.0 ± 1.3)% ~ (13.8 ± 5.4)%] (表 6, 图 3B)。

**Tab 5. Effects of Ucn on action potential in isolated papillary muscle of rats**

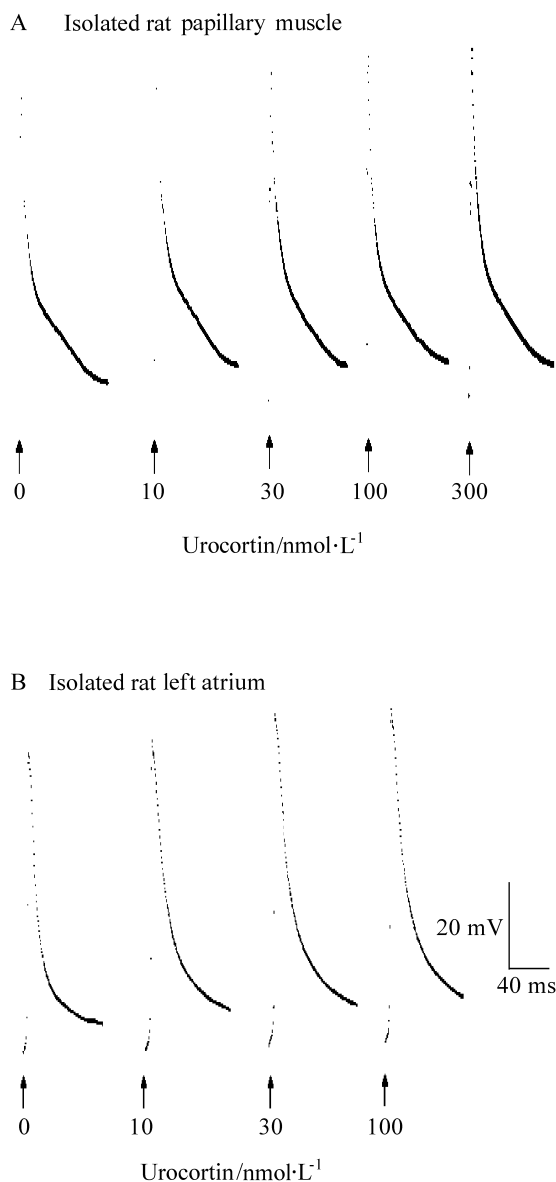
Ucn/nmol·L <sup>-1</sup>	RP/mV	APA/mV	OS/mV	$V_{max}/V \cdot s^{-1}$	APD/ms	APD <sub>50</sub> /ms	APD <sub>90</sub> /ms
10 Before	71.8 ± 1.5	140 ± 6	68 ± 6	147 ± 14	99 ± 11	10.1 ± 2.5	57 ± 9
After	72.3 ± 2.3	143 ± 6	70 ± 5	150 ± 14	99 ± 11	10.1 ± 2.5	58 ± 9
30 Before	71.4 ± 1.2	138 ± 6	67 ± 5	146 ± 14	99 ± 10	10.0 ± 2.5	57 ± 9
After	72.0 ± 2.5	146 ± 5*	74 ± 5*	155 ± 14	99 ± 10	10.1 ± 2.3	57 ± 8
100 Before	73.1 ± 2.6	141 ± 6	68 ± 5	147 ± 14	97 ± 10	9.9 ± 2.2	57 ± 8
After	73.6 ± 2.3	152 ± 6**	78 ± 5**	156 ± 15	97 ± 11	10.4 ± 2.1	57 ± 8
300 Before	72.6 ± 2.3	140 ± 5	68 ± 4	145 ± 15	98 ± 7	10.7 ± 2.1	58 ± 8
After	73.4 ± 1.8	157 ± 6**	84 ± 5**	160 ± 14*	98 ± 7	10.6 ± 1.9	58 ± 8

RP: rest potential. APA: amplitude of action potential. OS: overshoot.  $V_{max}$ : maximal rate of depolarization. APD, APD<sub>50</sub>, APD<sub>90</sub>: duration of, duration of 50%, 90% repolarization of action potential, respectively. Ucn was administered in an unaccumulative manner. The interval of Ucn administration at each concentration was 30 min. Data showed in the table were the maximum effects of Ucn, which appeared 1 - 4 min after administration of Ucn.  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 7$ . \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , compared with before drug by paired  $t$  test.

**Tab 6. Effects of Ucn on the action potential in isolated left atrium of rats**

Ucn/nmol·L <sup>-1</sup>	RP/mV	APA/mV	OS/mV	V <sub>max</sub> /V·s <sup>-1</sup>	APD/ms	APD <sub>50</sub> /ms	APD <sub>90</sub> /ms
10 Before	71.0 ± 1.4	87 ± 5	18 ± 4	172 ± 18	76 ± 8	9.7 ± 1.5	36 ± 6
10 After	71.6 ± 1.0	90 ± 5	20 ± 4	175 ± 20	77 ± 8	10.0 ± 1.0	37 ± 7
30 Before	70.7 ± 1.4	92 ± 6	20 ± 9	177 ± 29	76 ± 8	10.6 ± 1.5	37 ± 6
30 After	72.0 ± 0.6	95 ± 4*	24 ± 6*	189 ± 30*	78 ± 10	10.3 ± 1.5	37 ± 5
100 Before	71.1 ± 1.6	90 ± 7	18 ± 6	166 ± 12	77 ± 7	10.0 ± 2.0	36 ± 6
100 After	70.7 ± 0.1	97 ± 7**	24 ± 4**	189 ± 23**	77 ± 8	10.7 ± 2.5	37 ± 6

Ucn was administered in an unaccumulative manner. The interval of Ucn administration at each concentration was 30 min. Data showed in the table were the maximum effects of Ucn, which appeared 1 – 8 min after administration of Ucn.  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 5$ . \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , compared with before drug by paired  $t$  test.



**Fig 3. Representative traces showing effects of urocortin on action potential in isolated papillary muscle (A) and left atrium(B) of rats.**

### 3 讨论

作者首次采用大鼠及兔离体右心房肌, 心室乳头肌和大鼠离体右心室肌标本, 研究了 Ucn 对离体心肌收缩力和心率的影响, 并与  $\beta$  受体激动药 NE 或异丙肾上腺素的作用进行了比较。我们发现 Ucn 对大鼠离体右心房具有很强的正性肌力作用, 但不影响心率; Ucn 的正性肌力作用显著强于同浓度 NE 的效应。特别令人感兴趣的是, 尽管  $\beta$  受体激动药 NE 或异丙肾上腺素显著增强大鼠和兔离体右心房以及左室乳头肌的收缩力, Ucn 仅仅对大鼠离体右心房发挥正性肌力作用。Kimura 等<sup>[14]</sup> 研究了 Ucn mRNA 在人心脏组织的表达, 发现 Ucn mRNA 在心脏房, 室中都有表达, 但以左心室中浓度最高。在大鼠心肌细胞虽然已证实有 Ucn 的分布<sup>[15]</sup>, 但不同心肌组织中 Ucn 的分布是否不同, 目前尚未见报道。为了进一步分析 Ucn 对大鼠不同部位心肌组织的选择性, 我们又观察了 Ucn 在高浓度(30 nmol·L<sup>-1</sup>) 时对大鼠离体右心室肌条和左心房标本的作用。在电刺激驱动的大鼠右心室肌标本, Ucn 30 nmol·L<sup>-1</sup> 不改变心肌收缩力, 药前和药后值分别为(0.2 ± 0.06) 和(0.2 ± 0.06)g ( $n = 5$ ,  $P > 0.05$ ); 与此相反, Ucn 30 nmol·L<sup>-1</sup> 显著增强电刺激驱动的大鼠左心房肌标本, 使心肌收缩力增加了(51.7 ± 10.8)% ( $n = 5$ ,  $P < 0.01$ ), 其增加幅度与右心房肌标本相似(60.6 ± 17.1)%。上述实验结果表明, 在本研究所选用的心肌组织范围内, Ucn 的正性肌力作用仅限于大鼠心房肌组织, 其作用具有明显的种属差异和组织学差异。

心肌细胞电生理实验结果表明, Ucn 对大鼠乳头肌细胞 RP, APD 等指标无明显影响, 提示 Ucn 可能不影响心室乳头肌细胞的 K<sup>+</sup> 通道和 Ca<sup>2+</sup> 通道,

这一结果也为 Ucn 不影响大鼠心室乳头肌和右心室肌收缩力提供了间接的支持。因此我们认为,文献中报道的麻醉大鼠静脉注射 Ucn 引起的主动脉最大血流量和主动脉  $d_p/d_i$  值增加<sup>[7]</sup>,并非 Ucn 直接兴奋心室肌所致。根据本文的实验数据可以认为,Ucn 首先增强心房肌收缩力,促进较多的血液回流至心室,从而增加了心输出量。文献中报道,Ucn 使麻醉大鼠心率加快和血压降低<sup>[7]</sup>;而本研究结果表明,Ucn 对大鼠离体右心房并无明显的变频作用;因此,我们推测麻醉大鼠给予 Ucn 后,尚可通过其降低血压的效应,反射性兴奋交感神经,导致心输出量增加和心率加快。最近 Bale 等<sup>[9]</sup>发现,预先给予  $\beta$  受体阻断剂可取消 Ucn 对麻醉小鼠的正性变频作用。本实验中,Ucn 对大鼠左心房肌动作电位的作用与大鼠左室乳头肌的作用相似,但 Ucn 能显著增强大鼠左心房肌的收缩力,这一结果提示 Ucn 对心房肌的正性肌力作用不是通过改变细胞膜电位水平实现的。

Terui 等<sup>[16]</sup>曾采用大鼠离体全心脏标本,观察到 Ucn 10  $\mu\text{g}$  使左室压增加了 11.6%,使左室  $d_p/d_i$  增加了 23.3%;但是 Ucn 是否直接作用心室肌或心房肌仍不清楚。本文通过分析 Ucn 对大鼠心脏不同部位组织的作用,得到了明确的结论,即 Ucn 对大鼠心室肌组织没有直接的正性肌力作用。免疫组织化学资料表明,Ucn 对 CRF<sub>2</sub> 受体具有高度选择性,CRF<sub>2</sub> 受体广泛分布于包括心肌在内的外周组织<sup>[17]</sup>。由于 Ucn 的心脏作用具有显著的种属差异和组织学差异,尚不能推断 Ucn 对哺乳类动物心脏的生理和病理学意义,特别是 Parkes 等<sup>[8]</sup>在清醒羊观察到 Ucn 具有升高动脉血压的作用。因此,进一步的工作尚需研究多种动物离体心肌组织对 Ucn 的反应性。

#### 4 参考文献:

- [1] Mastorakos G, Bouzas EA, Silver PB, Sartani G, Friedman TC, Chan CC, *et al.* Immune corticotropin-releasing hormone is present in the eyes of and promotes experimental autoimmune uveoretinitis in rodents [J]. *Endocrinology*, 1995, **136**(10):4650 - 4658.
- [2] Korte SM, Bouws GA, Bohus B. Central actions of corticotropin-releasing hormone (CRH) on behavioral, neuroendocrine, and cardiovascular regulation: brain corticoid receptor involvement[J]. *Horm Behav*, 1993, **27**(2):167 - 183.
- [3] Clifton VL, Read MA, Leitch IM, Boura AL, Robinson PJ, Smith R. Corticotropin-releasing hormone-induced vasodilatation in the human fetal placental circulation[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 1994, **79**(2):666 - 669.
- [4] Vaughan J, Donaldson C, Bittencourt J, Perrin MH, Lewis K, Sutton S, *et al.* Urocortin, a mammalian neuropeptide related to fish urotensin I and to corticotropin-releasing factor[J]. *Nature*, 1995, **378**(6554):287 - 292.
- [5] Donaldson CJ, Sutton SW, Perrin MH, Corrigan AZ, Lewis KA, Rivier JE, *et al.* Cloning and characterization of human urocortin[J]. *Endocrinology*, 1996, **137**(5):2167 - 2170.
- [6] Schilling L, Kanzler C, Schmiedek P, Ehrenreich H. Characterization of the relaxant action of urocortin, a new peptide related to corticotropin-releasing factor in the rat isolated basilar artery[J]. *Br J Pharmacol*, 1998, **125**(6):1164 - 1171.
- [7] Parkes DG, May CN. Urocortin: a novel player in cardiac control[J]. *Neurophysiol Sci*, 2000, **15**(5):264 - 268.
- [8] Parkes DG, Vaughan J, Rivier J, Vale W, May CN. Cardiac inotropic actions of urocortin in conscious sheep[J]. *Am J Physiol*, 1997, **272**(5 Pt 2):H2115 - H2122.
- [9] Bale TL, Hoshijima M, Gu Y, Dalton N, Anderson KR, Lee KF, *et al.* The cardiovascular physiologic actions of urocortin II: acute effects in murine heart failure[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101**(10):3697 - 3702.
- [10] Ding JX, Zhang SL, Wang RB. Effect of diacetyl guanine base A on isolated atrial muscle[J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 1997, **16**(6):541 - 544.
- [11] Wang LF, Yu GS, Zhang YY, Lu ZZ, Han QD. Effects of long-term atenolol treatment on beta-adrenoceptor subtypes in rat heart[J]. *Acta Physiol Sin* (生理学报), 1995, **47**(4):381 - 386.
- [12] Zhao D, Ren LM. Electrophysiologic effect of moxonidine on action potential in rabbit sinoatrial node pacemaker cells [J]. *Chin J Pharmacol Toxicol* (中国药理学与毒理学杂志), 2002, **16**(4):250 - 254.
- [13] Ren LM, Li JX, Shi CX, Zhao D. Electrophysiologic effects of adenosine triphosphate on rabbit sinoatrial node pacemaker cells via P1 receptors[J]. *Acta Pharmacol Sin* (中国药理学报), 2003, **24**(9):943 - 947.
- [14] Kimura Y, Takahashi K, Totsune K, Muramatsu Y, Kaneko C, Darnel AD, *et al.* Expression of urocortin and corticotrophin-releasing factor receptor subtypes in the human heart[J]. *J Clin Endocrinol Metabol*, 2002, **87**(1):340 - 346.
- [15] Oki Y, Iwabuchi M, Masuzawa M, Watanabe F, Ozawa M,

- Iino K, *et al.* Distribution and concentration of urocortin, and effect of adrenalectomy on its content in rat hypothalamus[J]. *Life Sci*, 1998, **62**(9):807 – 812.
- [16] Terui K, Higashiyama A, Horiba N, Furukawa KI, Motomura S, Suda T. Coronary vasodilation and positive inotropism by urocortin in the isolated rat heart[J]. *J Endocrinol*, 2001, **169**(1):177 – 183.
- [17] Huang Y, Yao XQ, Lau CW, Chan YC, Tsang SY, Chan FL. Urocortin and cardiovascular protection[J]. *Acta Pharmacol Sin*(中国药理学报), 2004, **25**(3):257 – 265.

## Selective positive inotropic action of urocortin on rat and rabbit isolated heart tissues

ZHU Zhong-Ning, ZHAO Ding, REN Lei-Ming\*

(Department of Pharmacology, School of Pharmacy, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China)

**Abstract:** **AIM** To study effects of urocortin (Ucn) on the heart. **METHODS** Effects of Ucn on contractile force and heart rate were observed in rat and rabbit right atrium, papillary muscles, and rat right ventricle strip; and effects of Ucn on action potentials were observed in rat papillary muscles and left atrium using intracellular microelectrode technique. **RESULTS** Ucn ( $1 - 30 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) concentration-dependently increased the contractile force in rat isolated right atrium. Ucn increased the contractile force by  $(38 \pm 16) \%$  at  $10 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  and by  $(61 \pm 17) \%$  at  $30 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , and its inotropic effect was significantly greater than that produced by norepinephrine at the same concentration. Ucn had no effects on the heart rate of isolated rat right atrium, on the contractile force of isolated rat and rabbit papillary muscles and isolated rat right ven-

tricle strip. Ucn did not affect the function of isolated rabbit right atrium.  $\beta$ -Adrenergic receptor agonists, however, produced significant positive inotropic and chronotropic effects obviously on those tissues. Ucn significantly increased amplitude of action potential and overshoot in rat isolated papillary muscles at  $30 - 300 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  and left atrium at  $30 - 100 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ . **CONCLUSION** Ucn has a potent positive inotropic effect on rat isolated atrium with characteristics of species difference and histology difference.

**Key words:** cardiogenic agents; urocortin; myocardium; myocardial contraction; papillary muscles

\* Corresponding author.