

吗啡抑制呼吸与呼吸中枢胆碱能的关系*

葛晓群 许鹏程 卞春甫

(徐州医学院药理教研室, 徐州 221002)

提要 本文以免呼吸频率、通气量和血气为指标, 观察到 icv 匹鲁卡品和促进 Ach 释放的 4-氨基吡啶能拮抗吗啡的呼吸抑制作用。吗啡在抑制呼吸的同时, 降低延髓和脑桥 Ach 含量, 呼吸频率抑制率与 Ach 含量下降率间具有正相关。表明吗啡抑制呼吸与低位脑干 Ach 含量下降, 因而减少 Ach 释放有关。

关键词 吗啡; 呼吸抑制; 呼吸中枢; 胆碱能系统; 放射免疫

吗啡中毒导致死亡的主要原因是呼吸抑制, 但其原理尚不清楚。据报道吗啡抑制呼吸与单胺能系统有关⁽¹⁾。实验表明中枢乙酰胆碱 (Ach) 能兴奋正常动物的呼吸; 抗胆碱酯酶药毒扁豆碱可以拮抗吗啡的呼吸抑制作用⁽²⁾。考虑到吗啡能减少 Ach 释放, 改变脑中 Ach 含量, 可能与它抑制呼吸有关, 为此, 本文将匹鲁卡品和促进 Ach 释放的 4-氨基吡啶 (4-AP)⁽³⁾ 与吗啡合用, 观察呼吸参数的变化, 并通过 Ach 含量的测定来探讨吗啡抑制呼吸与呼吸中枢胆碱能的关系。

材 料 和 方 法

盐酸吗啡(morphine hydrochloride)青海制药厂生产。4-氨基吡啶(4-aminopyridine, 4-AP) Merk-Schuchardt 出品。硝酸匹鲁卡品 (pilocarpine nitrate) 进口, 上海医药采购供应站分装。纳洛酮 (naloxone) 上海医科大学出品。³H-Ach (7.36×10^{10} Bq) Amersham 出品。溴化 Ach 和 Ach 抗血清 北京军事医学科学院出品。混合纤维素酯微孔滤膜 (直径 25 mm, 孔径 0.3 μ m) 上海第十制药厂生产。

呼吸参数的测定 兔♀♂随机分配, 体重 2.51 ± 0.28 kg, 每组 5~6 只。将胸带式换能器与 RM-86 多导生理记录仪相连, 测定呼吸频率(respiratory frequency, FR), 用“面积法”⁽⁴⁾ 对呼吸波进行峰面积积分的方法测定潮气量(tidal volume, Vt), 将 FR 乘以 Vt 即得通气量 / min (minute volume, Vm)。

兔耳动脉插管, 1% 肝素钠 1 ml 抗凝。于给药前、后不同时间取血, 用 BEM-33 血气分析仪 (丹麦) 测定 PaO₂, PaCO₂ 和 pH。

放射免疫法测定兔脑 Ach 含量 选用同一条件下饲养的家兔, 体重 2.46 ± 0.23 kg, 每组 6~7 只, ♀♂随机分配。给药后断头, 取脑, 投入液氮 3s, 分取延髓、脑桥和单侧大脑皮层 (相当于感觉运动中枢), 称重, 迅速放入 9.3 倍量预冷的 0.11 mol/L HClO₄ 中, 在冰浴上用玻璃匀浆器磨成匀浆 (全过程 5 min 内完成)。放置 30 min (冰浴), 离心 2~3

* 本文于1989年7月26日收到。

本文由江苏省教育委员会自然科学基金资助。

本文部分内容曾参加 1989 年国际镇痛药学术会议交流(加拿大)

min (10000 r/min), 取上清液 10 μ l 按照鲍忠祈“乙酰胆碱的放射免疫测定”法测定 Ach 含量⁽⁵⁾。结果相当于 1 mg 湿重组织中 Ach pmol 数。

结果用配对 *t* 和 Student *t* 检验统计处理。

结 果

一. 匹鲁卡品对吗啡呼吸抑制的拮抗作用

兔 iv 吗啡 4 mg/kg, 5 min FR 明显减慢, Vt 增加, Vm 下降, 15~30min 达高峰, 作用维持 1 h 以上 (表 1)。15 min 时, PaCO₂ 增加 0.85 kPa, PaO₂ 下降 1.64 kPa, pH 由 7.434 下降到 7.389, 均有显著意义。icv 匹鲁卡品 2.5 mg/kg, 5 min FR 明显加快, 10~15 min 达高峰, 增加 119% ($P < 0.01$), 维持 1 h 以上。iv 吗啡 5 min 后再给予匹鲁卡品, 15 min 时, PaO₂ 比给药前增加 1.7 kPa, PaCO₂ 下降 1.5 kPa ($P < 0.05$), FR 和 Vm 分别增加 44 和 108%, 与单用吗啡比较差异有显著性 (表 1)。表明匹鲁卡品能完全拮抗吗啡的呼吸抑制作用。

Tab 1. Antagonist effect of pilocarpine (pil, icv, n=5) on morphine-induced (Mor, iv, n=6) respiratory depression ($\bar{x} \pm SD$)

Mor-pil (mg/kg)	5						
	0	5 ↓	10	15	30	45	60 min
Respiratory frequency (time/min)							
4.0 -	96 ± 14	29 ± 7	28 ± 6	27 ± 6	28 ± 6	30 ± 9	34 ± 8
4.0 · 2.5	80 ± 9	32 ± 9	75 ± 15**	115 ± 11**	95 ± 12**	80 ± 11	81 ± 11
Tidal volume (ml)							
4.0 -	18.8 ± 2.0	39.6 ± 5.2	43.3 ± 4.2	42.1 ± 6.9	40.7 ± 8.5	40.6 ± 15.0	38.3 ± 9.6
4.0 · 2.5	21.5 ± 2.8	39.7 ± 9.9	34.6 ± 4.4**	29.3 ± 2.0**	32.2 ± 9.0	34.2 ± 10.0	29.7 ± 6.8
Minute ventilation (L/min)							
4.0 -	1.79 ± 0.23	1.12 ± 0.30	1.19 ± 0.31	1.15 ± 0.40	1.14 ± 0.38	1.17 ± 0.46	1.32 ± 0.49
4.0 · 2.5	1.72 ± 0.19	1.27 ± 0.30	2.59 ± 0.32**	3.36 ± 0.39**	3.05 ± 0.50**	2.73 ± 0.40**	2.40 ± 0.22**

↓ icv pil ** $P < 0.01$ vs Mor alone.

二. 4-AP 对吗啡呼吸抑制效应的影响

(一) 对正常兔应用吗啡后呼吸效应的影响

兔 iv 吗啡 0.5, 1, 2 和 4 mg/kg, 15 min 时 FR 抑制率—剂量曲线呈线性关系 ($r = 0.996$, $P < 0.01$)。PaO₂ 和 PaCO₂ 分别呈剂量依赖性增加和下降 (图 1)。在各剂量组 Vt 都增大, 但 Vm 只在 2 和 4 mg/kg 组显著下降 (表 2, 3)。icv 4-AP 1.5 μ g/kg, PaO₂ 增加和 PaCO₂ 下降各 1.4 kPa ($P < 0.01$), FR 和 Vm 呈显著增加 (表 2, 3)。icv 与 4-AP 等 pH 7.5 的生理盐水及 iv 等剂量 4-AP, 呼吸均无明显变化。表明 4-AP 是作用于中枢引起呼吸兴奋的。将 2~8 mg/kg 吗啡与 1.5 μ g/kg 4-AP 合用, 从表 2, 3 中可见, FR 抑制比单用吗啡时显著减轻, 且 Vm 明显提高。4-AP 使吗啡的 FR, PaO₂ 和 PaCO₂ 量效曲线右移 (图 1)。表明 4-AP 能拮抗吗啡呼吸抑制作用, 吗啡也能拮抗 4-AP 兴奋作用, 即两者相互拮抗。

Tab 2. Antagonist effect of 4-AP (icv, n = 5) on morphine-induced (Mor, iv, n = 6) decrease of respiratory frequency in rabbits

Mor (mg/g)	4-AP (μ g/kg)	Change of respiratory frequency (%) ($\bar{X} \pm SD$)					
		5	10	15	30	45	60 min
2.0		-40 \pm 22 ⁺	-53 \pm 13 ⁺⁺	-58 \pm 12 ⁺⁺	-61 \pm 13 ⁺⁺	-60 \pm 13 ⁺⁺	-58 \pm 14 ⁺⁺
4.0		-70 \pm 10 ⁺⁺	-71 \pm 10 ⁺⁺	-71 \pm 10 ⁺⁺	-70 \pm 10 ⁺⁺	-68 \pm 12 ⁺⁺	-63 \pm 13 ⁺⁺
	1.5	45 \pm 15 ⁺⁺	49 \pm 24 ⁺⁺	55 \pm 28 ⁺⁺	32 \pm 26	22 \pm 22	18 \pm 17
2.0 Δ	1.5		-17 \pm 8 ^{**}	-25 \pm 8 ^{**}	-30 \pm 17 ^{**}	-32 \pm 14 ^{**}	-33 \pm 14 [*]
4.0 Δ	1.5	-44 \pm 11 ^{**}	-31 \pm 23 ^{**}	-43 \pm 15 ^{**}	-49 \pm 11 ^{**}	-49 \pm 16 ^{**}	-49 \pm 15
8.0	1.5	-57 \pm 17	-61 \pm 9	-67 \pm 9	-71 \pm 8	-71 \pm 5	-70 \pm 5

^ΔP < 0.01 vs 4-AP alone. *P < 0.05; **P < 0.01. vs Mor alone. +P < 0.05; ++P < 0.01. vs control.

Tab 3. Antagonist effect of 4-AP (icv, n = 5) on morphine-induced (Mor, iv, n = 6) decrease of minute ventilation in rabbits

Mor (mg/kg)	4-AP (μ g/kg)	Minute ventilation (L/min), $\bar{X} \pm SD$						
		0	5	10	15	30	45	60 min
2.0		1.67 \pm 0.32	1.29 \pm 0.34	1.11 \pm 0.12 ⁺	1.19 \pm 0.21 ⁺	1.06 \pm 0.33 ⁺	1.14 \pm 0.41 ⁺	1.11 \pm 0.42 ⁺
4.0		1.79 \pm 0.22	1.12 \pm 0.30 ⁺⁺	1.19 \pm 0.31 ⁺⁺	1.15 \pm 0.39 ⁺	1.14 \pm 0.38 ⁺	1.17 \pm 0.46	1.32 \pm 0.49
	1.5	1.61 \pm 0.24	2.62 \pm 0.52 ⁺⁺	2.48 \pm 0.57 ⁺⁺	2.64 \pm 0.47 ⁺⁺	2.39 \pm 0.35 ⁺⁺	2.36 \pm 0.55 ⁺⁺	2.24 \pm 0.61 ⁺
2.0 Δ	1.5	1.56 \pm 0.12	1.56 \pm 0.48	1.91 \pm 0.37 ^{**}	1.65 \pm 0.26 ^{**}	1.58 \pm 0.31 ^{**}	1.43 \pm 0.28	1.37 \pm 0.14
4.0 Δ	1.5	1.65 \pm 0.17	1.38 \pm 0.31	1.34 \pm 0.19	1.61 \pm 0.33 [*]	1.71 \pm 0.38 [*]	1.67 \pm 0.39 ^{**}	1.55 \pm 0.46
8.0	1.5	1.64 \pm 0.13	1.19 \pm 0.29 ⁺	1.27 \pm 0.31	1.27 \pm 0.29 ⁺	1.23 \pm 0.43	1.06 \pm 0.23 ⁺⁺	1.02 \pm 0.22 ⁺⁺

^ΔP < 0.01 vs 4-AP alone. *P < 0.05; **P < 0.01 vs Mor alone.

+P < 0.05; ++P < 0.01. vs control.

(二)对利血平化兔应用吗啡后呼吸效应的影响

由于 4-AP 既促进 Ach 也促进 NE 释放⁽³⁾, 而 NE 能兴奋呼吸。因此为了消除 NE 释放的影响, 预先给兔 iv 利血平 1mg/kg, 据报道 16 h 后脑中儿茶酚胺耗竭 90% 以上⁽⁶⁾, 此时再进行同样实验。观察到 4 mg/kg 吗啡使 FR 抑制 54% ($P < 0.01$), V_m 下降 34% ($P < 0.05$) (图 2), 但血气变化不明显。这时合用 1.0 μ g/kg 4-AP 就能完全消除吗啡减慢频率作用, 使 V_m 增大 (图 2), PaO_2 增加 1.3 kPa ($P < 0.05$)。表明在利血平化条件下, 吗啡仍能抑制呼吸, 4-AP 可拮抗之且这时的拮抗作用比未给利血平时更完全。

三. 吗啡对兔脑 Ach 含量的影响

兔 iv 吗啡 4 mg/kg, 于 15, 30, 60 min 断头取脑, 测定延髓和脑桥 Ach 含量。iv 生理盐水 0.5 ml/kg 作对照组。结果每 mg 脑桥组织 Ach 含量由对照组 33.80 \pm 5.99 分别降至 20.49 \pm 6.25, 14.02 \pm 1.50, 15.20 \pm 0.65 pmol; 延髓由 25.95 \pm 5.99 降至 18.52 \pm 4.45, 10.14

± 1.95 , 10.98 ± 1.44 pmol, 差异均有显著性. 30 min 断头测得大脑皮层 Ach 含量为 11.17 pmol/mg, 与对照组 12.79 pmol/mg 比较, 无显著差异. 表明吗啡能降低低位脑干 Ach 含量.

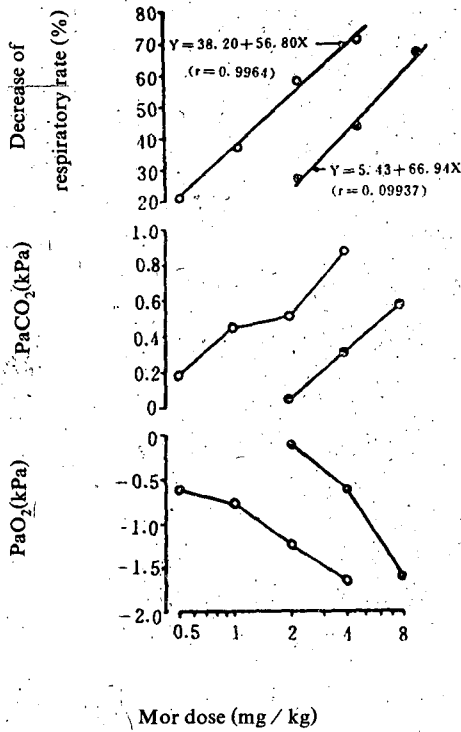


Fig 1. Effects of morphine (Mor) alone and in combination with 4-AP on respiratory rate, PaCO₂ and PaO₂ in rabbits. (o) Mor iv (n=6); (·) Mor+4-AP 1.5 μg/kg icv (n=5).

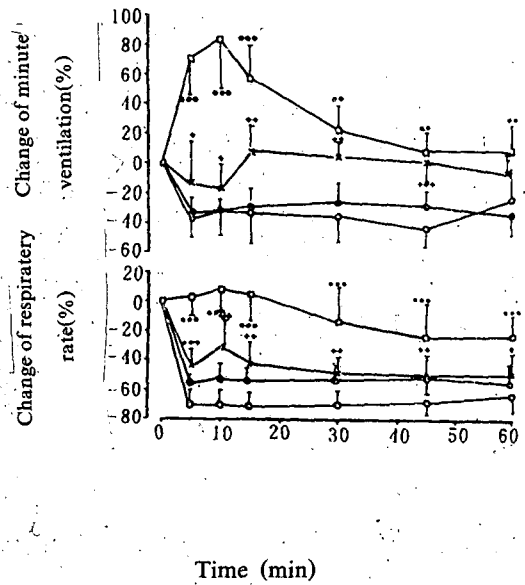


Fig 2. Antagonistic effect of 4-AP on respiratory inhibition by morphine (Mor) in normal and reserpine (Res) treated rabbits (n=5). (o) Mor 4 mg/kg iv; (×) Mor+4-AP; (·) Mor+Res 1 mg/kg iv; (□) Mor+Res+4-AP 1 μg/kg. * P>0.05; ** P>0.05; *** P<0.01; vs Mor. ** P<0.05, *** P<0.01 vs Mor+Res. Mean ± SD.

iv 吗啡 2, 4 和 8 mg/kg, 15 min 断头测定结果如表 4. 可以看出, 剂量越大, 含量下降越多, 呈良好的剂量依赖关系. 在 iv 吗啡 4 mg/kg 同时, icv 纳洛酮 0.2 mg/kg, 结果脑桥 Ach 含量比单用吗啡组显著提高, 与生理盐水对照组无显著差异, 而延髓 Ach 含量仍明显下降, 与单用吗啡比较差别不显著 (表 4).

四. Ach 含量与呼吸效应的关系

在给药前和断头前 1 min 分别测定兔 FR. iv 吗啡 4 mg/kg, 在 0, 15, 30 和 60 min FR 分别为 104 ± 7 , 49 ± 13 , 30 ± 8 , 28 ± 4 次/min 吗啡 2, 4 和 8 mg/kg, 15 min 后 FR 分别抑制 38 ± 13 , 53 ± 13 , $67 \pm 9\%$. 将不同时间测得的 FR 和 Ach 含量绘图 (图 3). 由图可见, FR 和 Ach 含量的时效曲线变化很一致, 两者都在 30 min 达高峰, 维持 1 h 以

上。以不同剂量下的 FR 变化为纵座标, Ach 含量变化为横座标绘制散点图 (图 4), 可以看出散点图呈直线趋势, 作线性回归得 $r=0.930$ ($P<0.01$)。表明 FR 和 Ach 含量间存在正相关, 即脑中 Ach 含量下降越多, FR 抑制就越大。

Tab 4. Effects of morphine (Mor, iv) alone and in combination with naloxone (Nal, icv) on acetylcholine (Ach) content of the lower brain stem in rabbits

Dose(mg / kg)	n	Ach content (pmol / mg tissue), $\bar{X} \pm SD$	
		Pons	Medulla oblongata
NS	7	33.80 \pm 5.99	25.95 \pm 5.99
Mor 2	6	25.14 \pm 4.57**	20.31 \pm 3.51
4	7	20.49 \pm 6.52**	18.52 \pm 4.45**
8	7	18.85 \pm 1.78**	13.07 \pm 1.79**
Mor 4+Nal 0.2	6	29.07 \pm 4.96 ⁺	16.91 \pm 2.67

* $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs normal saline(NS). ⁺ $P<0.05$, vs Mor 4 mg / kg.

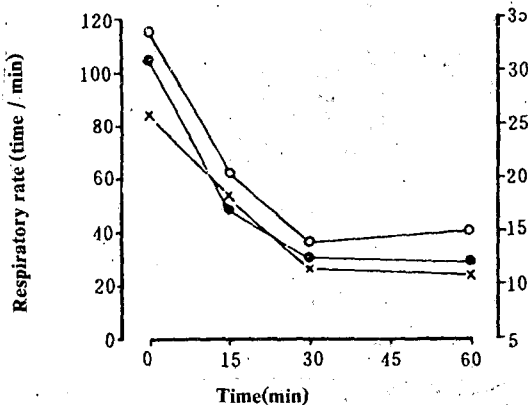


Fig 3. Time-course of respiratory rate and Ach contents in pons and medulla oblongata following administration of morphine (4 mg / kg, iv) to rabbits. (●) respiratory rate; (○) Ach content in pons; (×) Ach content medulla oblongata. Each point represents the means obtained from 6 or 7 animals.

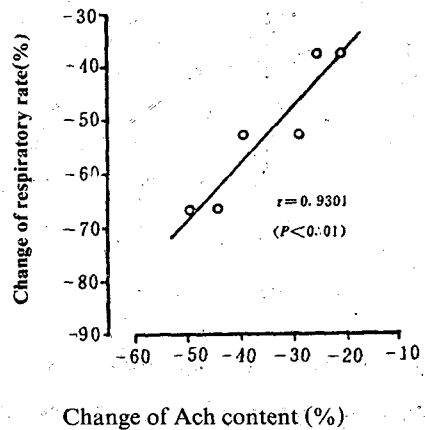


Fig 4. Interrelation figure between respiratory rate and Ach content of lower brain stem after morphine (2~8 mg / kg, iv) in rabbits.

讨 论

关于吗啡抑制呼吸的作用原理目前有很多看法^(7, 8)。Weinstock等^(2, 9)在兔、狗和人观察到毒扁豆碱能对抗吗啡的呼吸抑制效应; 我室曾报道匹鲁卡和毒扁豆碱均可拮抗二氢埃托啡抑制呼吸的作用; 本实验也显示匹鲁卡品能完全拮抗吗啡的呼吸抑制。这些结果提示中枢胆碱能系统可能参与了吗啡的呼吸抑制过程。

Ach 含量测定结果说明吗啡抑制呼吸与低位脑干 Ach 含量下降有关。有实验表明 4-AP 兴奋呼吸主要是它促进 Ach 释放的结果⁽¹²⁾。本文将它与吗啡合用, 其呼吸效应是相互拮抗而非增强, 提示 Ach 含量下降不可能是释放增加的结果。Howes⁽¹¹⁾发现 10^{-3} mol/L 吗啡可使小鼠脑皮层薄片 Ach 含量显著下降, 向孵育液中释放的 Ach 也明显减少, 作者认为吗啡可能抑制了 Ach 的合成。

据报道, 单胺能系统参与吗啡的呼吸抑制^(1, 13)。然而当本实验给予利血平后, 吗啡仍能显著抑制呼吸, 说明吗啡的作用尚与儿茶酚胺以外的递质有关。很多实验证明吗啡能够减少 Ach 释放; 4-AP 可以逆转吗啡的这一作用⁽¹⁰⁾; 而且在利血平化免上, 4-AP 完全消除了吗啡的呼吸抑制。因此推测吗啡可能通过降低脑中 Ach 含量、使其释放减少而抑制呼吸。

本文 Ach 含量测定结果与某些文献报道不一致。Crossland⁽¹⁴⁾则得 72 mg/kg 吗啡使大鼠全脑 Ach 总量增加。这可能与动物种类、测定部位、剂量和提取方法有关。因为 Richter⁽¹⁵⁾给小鼠与大鼠等效剂量的吗啡 36 mg/kg, 用同样提取方法测得小鼠全脑 Ach 含量下降 2%。

致谢 血气分析由徐州医学院附院麻醉生理研究室李小冰同志协助。

参 考 文 献

1. 沈克中, 等. 第四脑室给予几种单胺类递质受体阻断剂对吗啡呼吸抑制的影响. 生理学报 1983; 35: 64.
2. Weinstock M, et al. Physostigmine antagonizes morphine-induced respiratory depression but not analgesia in dogs and rabbits. *Br J Anaesth* 1980; 52: 171.
3. 郑伟, 等. 钾通道阻滞剂 4-氨基吡啶研究进展. 生理科学进展 1989; 9:103.
4. 葛晓群, 等. 面积法测定兔潮气量. 徐州医学院学报 1989; 9:103.
5. 鲍忠祈, 等. 乙酰胆碱的放射免疫测定. 中国药理学报. 1982; 3: 166.
6. 卞春甫. 利血平耗竭儿酚胺的意义及机制. 生理科学进展 1964; 6:160.
7. 沈克中, 等. 吗啡的呼吸抑制效应及其机制. 同上 1984; 15:162.
8. 王崇铨. 关于阿片类药物致死的受体机制. 见: 中国药理学会编. 生化药理学进展 (1986) 第1版. 北京: 中国医药科技出版社, 1987: 31.
9. Snir-Mor I, et al. Antagonism of morphine-induced respiratory depression by physostigmine in human subjects. *Israel J Med Sci* 1981; 17: 1102.
10. Casamenti F, et al. Effects of 4-aminopyridine on acetylcholine output from the cerebral cortex of the rat *in vivo*. *Br J Pharmacol* 1982; 76: 439.
11. Howes JF, et al. The effect of morphine, nalorphine, naloxone, pentagocine and oxotremorine on the synthesis and release of acetylcholine by mouse cerebral cortex slices *in vitro*. *Arch Int Pharmacodyn* 1970; 184: 267.
12. 邢淑华, 等. 几种拟胆碱药物中枢作用的比较. 徐州医学院学报 待发表.
13. Meldrum MJ, et al. Role of monoaminergic systems in morphine-induced respiratory depression. *Neuropharmacology* 1981; 20: 169.
14. Crossland J, et al. The effect of some drugs on the "free" and "bound" acetylcholine content of rat brain. *Brit J Pharmacol Chemother* 1968; 33:42.
15. Richter JA, et al. Effects of morphine and Levorphanol on brain acetylcholine content in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 1970; 175:685.

RELATIONSHIP BETWEEN MORPHINE-INDUCED RESPIRATORY DEPRESSION AND THE CHOLINERGIC SYSTEM OF RESPIRATORY CENTER

XQ Ge, PC Xu and CF Bian

(Department of Pharmacology, Xuzhou Medical College, Xuzhou, 221002)

ABSTRACT Morphine (0.5~4 mg/kg, iv) caused dose-dependent decreases of respiratory frequency (FR), minute volume (Vm) and PaO₂ and an increase of PaCO₂ in rabbits. These effects of morphine were reversed by pilocarpine (2.5 mg/kg, icv). 4-Amino pyridine (4-AP, 1.5 μg/kg, icv) caused increase of FR and PaO₂ and reduction of PaCO₂ with marked increase in Vm. When 4-AP was administered in combination with different doses of morphine, the respiratory depressant effect was reduced and the dose-effect curve was shifted to the right. Following administration of reserpine (1 mg/kg, iv) which depleted the brain of its catecholamine content, morphine (4 mg/kg, iv) was still capable of decreasing FR and Vm, and 4-AP could abolish this effect completely.

Morphine (4 mg/kg) caused the most dramatic reduction of Ach contents in pons and medulla oblongata in rabbits 30 min after administration, and remained so until 60 min. Varying the dose of morphine (2~8 mg/kg) caused dose-dependent reduction of Ach contents in the above mentioned brain areas. The time course and dose-effect of respiratory depression showed a close correlation with those of the decline of Ach contents in lower brain stem ($r=0.9301$, $P<0.01$). The results showed that the respiratory depression by morphine was related to the reduction of Ach contents in lower brain stem and hence causing decrease of Ach release.

Key words Morphine; Respiratory center; Cholinergic system; Radioimmunoassay