

内源性孤啡肽通过对缝隙连接蛋白 43 的调节影响大鼠急性心肌缺血时心律失常的发生

杨光¹ 熊畅¹ 韩毅² 杨建新²

¹山西医科大学麻醉学系, 太原 030001; ²山西医科大学第二医院麻醉科, 太原 030001

通信作者: 杨建新, Email: yangjxin66@163.com

【摘要】 目的 观察大鼠急性心肌缺血引起的各类室性心律失常的发生和心肌缝隙连接蛋白 43 (connexin 43, Cx43) 含量的变化以及孤啡肽(nociceptin/orphanin FQ, OFQ)受体拮抗剂 UFP-101 对心律失常和 Cx43 的影响。**方法** 雄性 SD 大鼠 64 只, 体重 200~250 g, 按照随机数字表法分为对照组(C 组, 24 只, 分为 3 个亚组, 即冠状动脉结扎后 15 min 亚组、冠状动脉结扎后 60 min 亚组、冠状动脉结扎后 120 min 亚组, 每组 8 只)、OFQ 受体拮抗剂组(U 组, 24 只, 分为 3 个亚组, 即冠状动脉结扎后 15 min 亚组、冠状动脉结扎后 60 min 亚组、冠状动脉结扎后 120 min 亚组, 每组 8 只)、假手术组(S 组, 16 只, 分为两个亚组, 即冠状动脉只穿线不结扎 15 min 亚组、冠状动脉只穿线不结扎 60 min 亚组, 每组 8 只)。U 组大鼠经尾静脉注射 OFQ 受体拮抗剂(UFP-101, 10^{-9} mol/L)1 μ l/g, C 组大鼠经尾静脉注射等体积的生理盐水溶液。C 组、U 组大鼠在给药 5 min 后结扎冠状动脉, S 组冠状动脉只穿线不结扎。分别记录 C 组、U 组大鼠从给药前 10 min 到冠状动脉结扎后 15、60、120 min 的 ECG 数据, 分析统计各类室性心律失常。采用 Western blot 法测定各组标本中磷酸化 Cx43(phosphorylate-Cx43, p-Cx43)以及总 Cx43 的含量。**结果** 冠状动脉结扎后 15 min 时, 与 C 组比较, U 组室性期前收缩发生次数、联律的发生次数以及室性心动过速和室颤(室颤)的持续时间明显下降($P<0.05$)。冠状动脉结扎后 60 min 时, 与 C 组比较, U 组室性期前收缩发生次数、联律的发生次数以及室性心动过速和室颤的发生次数明显下降($P<0.05$)。各组大鼠 15 min 亚组结果: 与 S 组比较, C 组 p-Cx43 表达明显减少($P<0.05$); 与 C 组比较, U 组 p-Cx43 表达明显增加($P<0.05$)。各组大鼠 60 min 亚组结果: 与 S 组比较, C 组与 U 组 p-Cx43 表达均减少($P<0.05$)。**结论** 内源性 OFQ 拮抗剂 UFP-101 通过促进 Cx43 蛋白发生磷酸化而减少大鼠在急性心肌缺血时心律失常的发生。

【关键词】 内源性孤啡肽; 缝隙连接蛋白 43; 磷酸化; 心律失常

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金(81400260); 山西省应用基础研究基金青年基金(201701D12111145); 山西医科大学创新创业校级项目(20160409)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4378.2019.01.00

Endogenous nociceptin/orphanin FQ affects the occurrence of arrhythmia in acute myocardial ischemia in rats through the regulation of connexin 43 protein

Yang Guang¹, Xiong Chang¹, Han Yi², Yang Jianxin²

¹Department of Anesthesiology, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China; ²Department of Anesthesiology, the Second Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China

Corresponding author: Yang Jianxin, Email: yangjxin66@163.com

【Abstract】 Objective Observing influence of various ventricular arrhythmias induced by acute myocardial ischemia and the change of connexin 43 (Cx43) protein content in myocardium in rats and effects of nociceptin/orphanin FQ (OFQ) receptor antagonist UFP-101 on the expression of arrhythmia and Cx43 protein. **Methods** Sixty-four male SD rats, weighing 200–250 g, were randomly divided into control group (group C, each group was divided into three subgroups, which named coronary artery occlusion 15 min, coronary artery occlusion 60 min and coronary artery occlusion 120 min, $n=8$), N/OFQ receptor antagonist group (group U, each group was divided into three subgroups, which named coronary artery occlusion 15 min, coronary artery occlusion 60 min and coronary artery occlusion 120 min, $n=8$), Sham operation group (group S, each group was divided into two subgroups, which named thread without ligation 15 min and thread without ligation 60 min, $n=8$). Group U was treated with OFQ antagonist compound UFP-101 in the dosage of 1 μ l/g by caudal vein. Group C was treated with equal volume of saline. Group C and group U were administered 5 min before they were subjected to the coronary artery occlusion. Group S only was thread without ligation. Record data of

electrocardiogram of group C and group U that from 10 min before the injection to 15, 60 min and 120 min after coronary artery occlusion, analyze data of all kinds of ventricular arrhythmia. Determination of expression levels of phosphorylated Cx43 (p-Cx43) protein and total Cx43 protein in all specimens by western blot. **Results** At 15 min after coronary artery occlusion, numbers of ventricular premature contraction and ventricular diallelism, the duration of ventricular tachycardia and ventricular fibrillation of group U are obviously lower than numbers in group C ($P<0.05$). At 60 min after coronary artery occlusion, numbers of ventricular premature contraction, ventricular diallelism, ventricular tachycardia and ventricular fibrillation of group U are lower than those numbers in group C obviously ($P<0.05$). Expression of p-Cx43 protein at 15 min after coronary artery occlusion, the expression of p-Cx43 in group C were significantly lower than expression levels in group S ($P<0.05$), the expression of p-Cx43 in group U was significantly higher than that in group C ($P<0.01$). At 60 min after coronary artery occlusion, the expression of p-Cx43 in group C and group U were significantly lower than expression levels in group S ($P<0.05$). **Conclusions** Endogenous OFQ antagonist UFP-101 can reduce the occurrence of arrhythmia in acute myocardial ischemia by promoting phosphorylation of Cx43 protein in rats.

[Key words] Endogenous nociceptin/orphanin FQ; Protein Cx43; Phosphorylation; Arrhythmia

Fund program: Young Project of the National Natural Science Foundation of China (81400260); Young Project of Applied Basic Research Foundation of Shanxi Province (201701D12111145); Innovation and Entrepreneurship School Project of Shanxi Medical University (20160409)

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4378.2019.01.00

急性心肌梗死后约 50% 的患者会发生心源性猝死^[1],而恶性室性心律失常是心源性猝死的重要原因之一^[2]。在缺血性心律失常的发病机制中,缝隙连接的结构和功能变化引起的电脱耦联是非常重要的因素^[3]。缝隙连接通道主要由缝隙连接蛋白 43 (connexin 43, Cx43) 构成^[4,5],作为一种磷酸化蛋白,其含量、分布尤其是自身磷酸化状态的改变与各种心律失常的产生和持续密切相关^[6]。有研究表明,在急性缺血性的心肌组织中,随着缺血的加重,心肌内磷酸化 Cx43 (phosphorylate-Cx43, p-Cx43) 水平下降,而去磷酸化的 Cx43 水平升高,使细胞间脱电耦联,导致传导异常而出现心律失常^[7]。本课题组前期研究发现,在大鼠急性心肌缺血模型中,孤啡肽 (nociceptin/orphanin FQ, OFQ) 在脊髓和背根神经节表达上调,提示在急性心肌缺血病理过程中可能有 OFQ 参与^[8]。OFQ 受体属于 G 蛋白耦联受体,是神经肽的一份子^[9],研究表明,OFQ 除参与外周和中枢神经对心血管的调节之外,还可能直接参与对心血管系统的调节^[10-11]。目前,内源性 OFQ 是否通过对 Cx43 蛋白的调节影响机体在急性心肌缺血时心律失常的发生以及三者之间的关系尚不明确。本研究旨在探索内源性 OFQ 是否通过调节 Cx43 从而影响机体在急性心肌缺血时心律失常的发生。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器

Protease and Phosphatase Inhibitor Cocktail (生

产批号:ab201119, Abcam 公司, 英国)、Anti - Connexin 43/GJA1 (phospho S368) 抗体 (生产批号: ab30559, Abcam 公司, 英国)、Anti - Connexin 43/GJA1 抗体 (生产批号: ab11370, Abcam 公司, 英国)、UFP-101 (Tocris Cookson 公司, 英国)/乌拉坦 (生产批号: 94300, Sigma 公司, 美国)、动物呼吸机 (型号: ALC-V8, 上海澳尔科特生物科技有限公司)、电生理信号记录仪 (型号: Rm6240, 成都仪器厂)。

1.2 实验动物及分组

同龄健康成年清洁级雄性 SD 大鼠 64 只, 体重 200~250 g, 由山西医科大学实验动物中心提供。采用随机数字表法分为对照组 (C 组, 24 只, 分为 3 个亚组, 即冠状动脉结扎后 15 min 亚组、冠状动脉结扎后 60 min 亚组、冠状动脉结扎后 120 min 亚组, 每个亚组 8 只)、OFQ 受体拮抗剂组 (U 组, 24 只, 分为 3 个亚组, 即冠状动脉结扎后 15 min 亚组、冠状动脉结扎后 60 min 亚组、冠状动脉结扎后 120 min 亚组, 每组 8 只)、假手术组 (S 组, 16 只, 分为两个亚组, 即冠状动脉只穿线不结扎 15 min 亚组、冠状动脉只穿线不结扎 60 min 亚组, 每个亚组 8 只)。本实验研究方案经山西医科大学动物伦理委员会批准通过, 所有实验操作均遵循山西医科大学动物使用和保护规定。

1.3 动物模型制备及给药方法

乌拉坦 (25%, 1.2 g/kg) 腹腔注射麻醉, 尾静脉置入 24 G 套管针以方便给药, 连接 ECG。气管切开置管, 动物呼吸机设定潮气量 8 ml/kg, 呼吸频率 70 次/min, 行机械通气。U 组按大鼠体重 1 μ l/g 尾静脉给予 OFQ

受体拮抗剂 UFP-101 (10^{-9} mol/L)。C 组给予等容积的生理盐水。给药后于胸骨左侧胸壁第 5 肋间切口,逐层钝性分离至心脏,撕开心包,在肺动脉圆锥与左心耳之间用 5-0 无损伤缝线在冠状动脉左前降支起点下 2 mm 结扎。S 组在冠状动脉下只穿线,不结扎。在胸腔置入引流管后关胸,将胸腔抽成负压。判断模型是否成功标志:① 结扎后,ECG 表现高大 T 波以及 ST 段倾斜抬高与高耸 T 波融合及 QRS 波群振幅增高(图 1);② 结扎后相应血管支配区心肌颜色变白。

1.4 检测指标及方法

具体处理如下:分别记录 C 组、U 组大鼠从给药前 10 min 到冠状动脉结扎后 15、60、120 min 的 ECG 数据。待各组结扎够相应时间后迅速开胸,嘱一名助手在大鼠头侧采用断头法处死大鼠,同时实

验者在左心室长轴留取 0.5 cm^3 大小的左心室游离壁心肌组织放入液氮中速冻,置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱冻存,用于 Western blot 分析。

1.4.1 ECG 数据分析

分析各组大鼠室性期前收缩(单发室性期前收缩)发生次数、联律(二联律+三联律)发生次数,室性心动过速和心室纤颤(室颤)的发生率、发生次数、持续时间。

1.4.2 Western blot 分析

将冻存的组织块液氮下研磨后匀浆,裂解液提取蛋白,BCA 法测定蛋白浓度,配置凝胶,每孔上样 $20\text{ }\mu\text{l}$,依次进行电泳, $0.45\text{ }\mu\text{m}$ PVDF 膜转膜,3%胎牛血清封闭 1 h,1:500 稀释 p-Cx43 多克隆抗体,4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜,TBST 洗 10 min \times 3 次,酶标记抗体二抗(1:2 500)室温孵育 2 h,TBST 洗 10 min \times 3



图 1 大鼠各类 ECG 波形 A: 开胸时正常 ECG; B: 室性期前收缩; C: 室性期前收缩二联律; D: 室性期前收缩三联律; E: 室性心动过速; F: 心室纤颤

次,用 ECL 显色,X 线片曝光显影,凝胶成像分析系统摄像分析;洗脱抗体后用上述相同方法测定总 Cx43 水平,用 p-Cx43 与总 Cx43 灰度值的比值作为 p-Cx43 的相对表达水平。

1.5 统计学分析

应用 SPSS 13.0 统计学软件进行数据分析。正态分布的计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD- t 检验,计数资料比较采用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ECG 统计结果

冠状动脉结扎后 15 min 时,与 C 组比较,U 组室性期前收缩发生次数、联律的发生次数以及室性心动过速和室颤的持续时间明显下降($P<0.05$)。冠状动脉结扎后 60 min 时,与 C 组比较,U 组室性期前收缩发生次数、联律的发生次数以及室性心动过速和室颤的发生次数明显下降($P<0.05$)。冠状动脉结扎后 120 min 时,与 C 组比较,U 组室性期前收缩发生次数、联律的发生次数以及室性心动过速和室颤的发生次数明显下降($P<0.05$,表 1)。

2.2 Western blot 结果

各组大鼠 15 min 亚组的结果如下:与 S 组比较,C 组 p-Cx43 表达明显减少($P<0.05$);与 C 组比较,U 组 p-Cx43 表达明显增加($P<0.05$);与 S 组比较,U 组 p-Cx43 表达无明显变化($P>0.05$,表 2、图 2)。

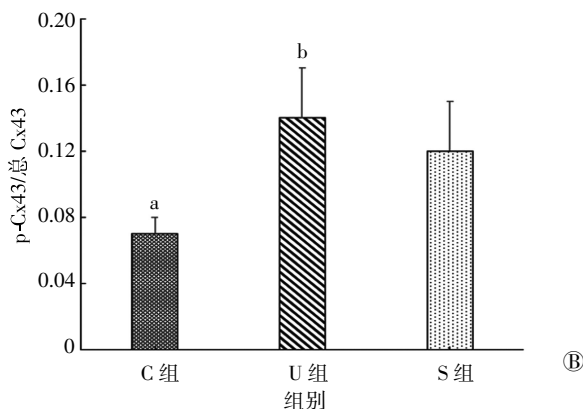
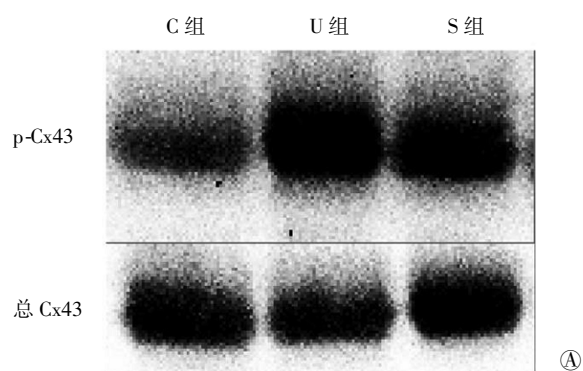
组别	动物数(只)	p-Cx43/总 Cx43
S 组(冠状动脉只穿线不结扎 15 min 亚组)	8	0.120 \pm 0.030
C 组(冠状动脉结扎后 15 min 亚组)	8	0.070 \pm 0.010 ^a
U 组(冠状动脉结扎后 15 min 亚组)	8	0.140 \pm 0.030 ^b

注:与 S 组比较,^a $P<0.05$;与 C 组比较,^b $P<0.05$;S 组:假手术组;C 组:对照组;U 组:OFQ 受体拮抗剂组;p-Cx43:磷酸化 Cx43;Cx43:缝隙连接蛋白 43;OFQ:孤啡肽

表 1 各类心律失常统计结果

组别	动物数(只)	室性期前收缩(个, $\bar{x}\pm s$)	联律(个, $\bar{x}\pm s$)	室性心动过速 + 心室纤颤		
				发生率(%)	发生次数(次, $\bar{x}\pm s$)	持续时间(s, $\bar{x}\pm s$)
C 组 冠状动脉结扎后 15 min 亚组	8	82 \pm 19	76 \pm 13	87	8.4 \pm 4.5	19 \pm 4
冠状动脉结扎后 60 min 亚组	8	92 \pm 18	82 \pm 22	100	13.1 \pm 4.6	21 \pm 6
冠状动脉结扎后 120 min 亚组	8	110 \pm 23	100 \pm 25	100	13.1 \pm 4.6	21 \pm 6
U 组 冠状动脉结扎后 15 min 亚组	8	29 \pm 10 ^a	11 \pm 7 ^a	75	5.1 \pm 2.6	7 \pm 3 ^a
冠状动脉结扎后 60 min 亚组	8	40 \pm 19	11 \pm 7 ^a	75	5.4 \pm 2.5 ^a	19 \pm 7
冠状动脉结扎后 120 min 亚组	8	43 \pm 21 ^a	16 \pm 7	75	5.4 \pm 2.5	19 \pm 7

注:与 C 组比较,^a $P<0.05$;C 组:对照组;U 组:OFQ 受体拮抗剂组;OFQ:孤啡肽



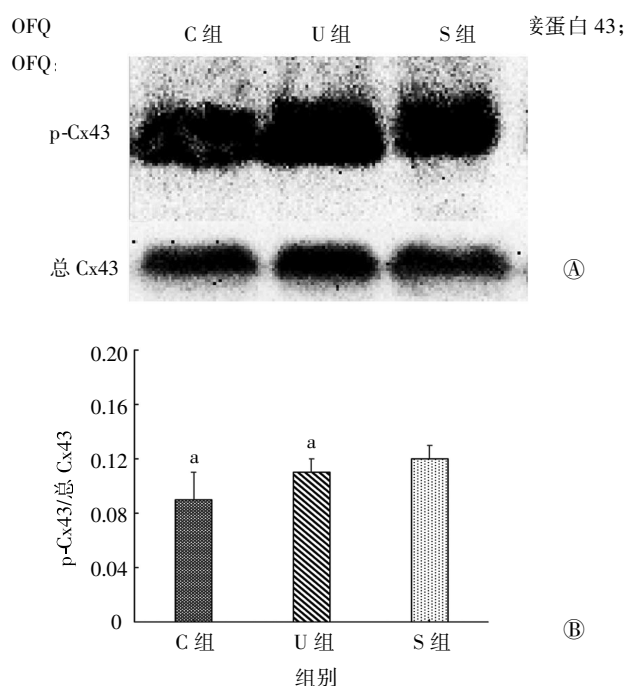
注:与 S 组比较,^a $P<0.05$;与 C 组比较,^b $P<0.05$;S 组:假手术组;C 组:对照组;U 组:OFQ 受体拮抗剂组;p-Cx43:磷酸化 Cx43;Cx43:缝隙连接蛋白 43;OFQ:孤啡肽

图 2 各组大鼠 15 min 亚组 p-Cx43 表达比较 A:Western blot 结果;B:p-Cx43 与总 Cx43 比值

各组大鼠 60 min 亚组的结果如下:与 S 组比较,C 组、U 组 p-Cx43 表达均减少($P<0.05$);与 C 组比较,U 组 p-Cx43 表达无明显变化($P>0.05$,表 3、图 3)。

组别	动物数(只)	p-Cx43/总 Cx43
S 组(冠状动脉只穿线不结扎 60 min 亚组)	8	0.120 \pm 0.010
C 组(冠状动脉结扎后 60 min 亚组)	8	0.090 \pm 0.020 ^a
U 组(冠状动脉结扎后 60 min 亚组)	8	0.110 \pm 0.010 ^a

注:与 S 组比较,^a $P<0.05$;S 组:假手术组;C 组:对照组;U 组:



注:与 S 组比较, $^*P < 0.05$; S 组:假手术组; C 组:对照组; U 组:OFQ 受体拮抗剂组; p-Cx43:磷酸化 Cx43; Cx43:缝隙连接蛋白 43; OFQ:孤啡肽

图 3 各组大鼠 60 min 亚组 p-Cx43 表达比较 A: Western blot 结果; B: p-Cx43 与总 Cx43 比值

3 讨论

OFQ 是感觉神经肽的一种, 与其受体广泛分布于全身各个系统。研究发现, OFQ 受体能够通过外周及中枢途径识别节前或节后的交感和副交感神经纤维, 支配血管和心脏, 参与 OFQ 的心血管效应, 并可能在原发性高血压、心肌缺血及脑缺血的病理生理学中发挥一定作用^[12]。最近研究发现, 大鼠急性心肌缺血时其脊髓和背根神经节 OFQ 表达上调^[8], 再次说明了急性心肌缺血病理过程中有 OFQ 参与。

本研究发现, 以室性期前收缩和联律的发生次数来看, C 组冠状动脉结扎后 15 min 亚组室性期前收缩和联律的均数分别占到 C 组冠状动脉结扎后 60 min 亚组和 C 组冠状动脉结扎后 120 min 亚组的 90% 及 70% 以上, 提示我们大鼠的心律失常大部分发生在冠状动脉结扎后 15 min 内, 而在冠状动脉结扎后 15~60 min、60~120 min 内鲜有发生。这与 Opitz 等^[13]的研究观点基本一致。本研究还发现, 与 C 组比较, 使用 OFQ 受体拮抗剂 UFP-101 可以明显减少急性心肌缺血后室性心律失常的发生, 提

示内源性 OFQ 有增加急性心肌缺血时室性心律失常的可能的发生。

研究表明, 在心肌缺血开始的 10 min 主要由中枢交感神经兴奋引起过量儿茶酚胺释放, 而当心肌缺血 10 min 后, 外周局部儿茶酚胺释放将逐渐占据优势, 这个过程与中枢交感神经调节是相互独立的^[14]。而在急性心肌缺血时, 我们可以观察到心脏局部去甲肾上腺素浓度升高及心肌细胞对儿茶酚胺的敏感度增高^[15]。而急性心肌缺血引起的儿茶酚胺释放正是细胞损伤以及心律失常的关键诱因。此外, 研究表明, 强烈的交感神经刺激会引起神经肽-Y 的释放, 它能作用于胆碱能神经的 Y2 受体, 减少乙酰胆碱的释放, 进而增加心律失常的易感性。前已述及, OFQ 也是神经肽的一种。所以我们推断内源性 OFQ 通过交感神经通路促进急性心肌缺血时心律失常的发生。

目前已经明确, 心肌细胞间电耦联通道结构中最重要、最关键的组分是由连接蛋白所构成的 Cx43, 作为一种磷酸化蛋白, 其磷酸化状态决定着自身的活性和连接通道的开关^[16]。大部分心肌细胞 Cx43 在基础状态下处在磷酸化状态, 但在某些病理生理状态下尤其是心肌缺血时可导致 Cx43 快速去磷酸化从而致使心肌电冲动脱耦联。研究发现, 在心肌缺血诱发电耦联障碍的同时, 还伴有 Cx43 去磷酸化, 并且心肌细胞电耦联障碍程度同 Cx43 去磷酸化呈正相关^[17]。在大鼠心肌缺血模型的研究中也证实缺血会引起 Cx43 去磷酸化, 也就是磷酸化 Cx43 含量下降, 而 Cx43 磷酸化与去磷酸化比率的失调增加了室性心律失常的发生^[7]。综上所述, 缺血诱发的 Cx43 去磷酸化会导致心室细胞之间电脱耦联, 进而引起各种心律失常。

根据之前心律失常的实验结果得出大鼠冠脉结扎后心律失常大部分发生在冠状动脉结扎后 15 min 内, 而在冠状动脉结扎后 15~60 min、60~120 min 内鲜有发生, 所以我们在接下来的实验中选择冠脉结扎 15、60 min 这两个时间点进行研究。本研究发现, 各组大鼠 15 min 亚组中, C 组 p-Cx43 表达较 S 组减少, 而 U 组 p-Cx43 表达较 C 组增加, 说明急性缺血 15 min 时, 心肌 p-Cx43 表达明显减少, 而使用 OFQ 受体拮抗剂 UFP-101 后, 心肌 p-Cx43 表达明显增加, 甚至超过 S 组。各组大鼠 60 min 亚组中, C 组 p-Cx43 表达较 S 组减少, 表

明急性心肌缺血后 60 min 时 p-Cx43 表达仍旧减少,但 U 组 p-Cx43 表达却也低于 S 组。我们推测心肌缺血 60 min 时,随着机体对刺激强度的适应,以及应用内源性 OFQ 受体拮抗剂 UFP-101 和机体可能通过其他通路等调节 p-Cx43 表达,使得 U 组 p-Cx43 表达较 C 组增加,但较 S 组减少。上述蛋白

表达与心律失常结果的趋势是一致的。前已述及, p-Cx43 表达的减少易引起室性心律失常,而使用 OFQ 受体拮抗剂 UFP-101 后心律失常显著减少,同时伴随 p-Cx43 表达增加,所以我们推测内源性 OFQ 可通过 Cx43 去磷酸化增加心肌缺血后心律失常的发生,其可能机制为 OFQ 对 Cx43 C 末端某些磷酸化氨基酸位点有识别作用。

综合之前心律失常所得的结论,我们推测内源性 OFQ 通过交感神经通路调节 Cx43 的磷酸化与去磷酸化,从而调节心肌缺血后心律失常的发生。但其具体机制还不清楚,有待进一步深入研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 李文霞, 刘丽文, 王静, 等. 2014 年欧洲肥厚型心肌病诊断和管理指南心脏性猝死风险评估模型临床应用评估及心血管不良事件危险因素的预测分析 [J]. 中华心血管病杂志, 2017, 45 (12): 1033-1038. DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-3758.2017.12.006.
- [2] Ng GA. Neuro-cardiac interaction in malignant ventricular arrhythmia and sudden cardiac death [J]. Auton Neurosci, 2016, 199: 66-79. DOI:10.1016/j.autneu.2016.07.001.
- [3] Ghazanfari A, Vigmond E, Nygren A. Arrhythmia vulnerability in diabetic cardiac tissue is species-dependent: effects of IKATP, uncoupling, and connexin lateralization [J]. Cardiovasc Eng Technol, 2017, 8(4): 527-538. DOI:10.1007/S13239-017-0315-0.
- [4] Crassous PA, Shu P, Huang C, et al. Newly identified NO-sensor guanylyl cyclase/connexin 43 association is involved in cardiac electrical function [J/OL]. J Am Heart Assoc, 2017, 6 (12): e006397. DOI:10.1161/JAHA.117.006397.
- [5] Vicenczova C, Kura B, Chaudagar KK. Myocardial connexin-43 is upregulated in response to acute cardiac injury in rats[J]. Can J Physiol Pharmacol, 2017, 95 (8): 911-919. DOI:10.1139/cjpp-2016-0680.
- [6] Leybaert L, Lampe PD, Dhein S, et al. Connexins in cardiovascular and neurovascular health and disease: pharmacological implications[J]. Pharmacol Rev, 2017, 69(4): 396-478. DOI:10.1124/pr.115.012062.
- [7] Qiu J, Zhou S, Liu Q. Phosphorylated AMP-activated protein kinase slows down the atrial fibrillation progression by activating Connexin43 [J]. Int J Cardiol, 2016, 208: 56-57. DOI:10.1016/j.ijcard.2016.01.201.
- [8] Han Y, Guo Z, Wang LL, et al. Antagonism of endogenous nociceptin/orphanin FQ inhibits infarction-associated ventricular arrhythmias via PKC-dependent mechanism in rats [J]. Br J Pharmacol, 2013, 170(3): 614-623. DOI:10.1111/bph.12310.
- [9] Mustazza C, Pieretti S, Marzoli F. Nociceptin/orphanin FQ peptide (NOP) receptor modulators: an update in structure-activity relationships[J]. Curr Med Chem, 2018, 25(20): 2353-2384. DOI: 10.2174/0929867325666180111095458.
- [10] Csobay-Novák C, Sótónyi P, Krepuska M, et al. Decreased plasma nociceptin/orphanin FQ levels after acute coronary syndromes[J]. Acta Physiol Hung, 2012, 99(2): 99-110. DOI:10.1556/APhysiol.99.2012.2.2.
- [11] Fassini A, Scopinho AA, Resstel LB. NOP receptors in the prelimbic cortex have an inhibitory influence on cardiovascular responses induced by restraint stress [J]. Neuropeptides, 2016, 57: 35-44. DOI:10.1016/j.npep.2016.02.006.
- [12] Schröder W, Lambert DG, Ko MC, et al. Functional plasticity of the N/OFQ-NOP receptor system determines analgesic properties of NOP receptor agonists [J]. Br J Pharmacol, 2014, 171(16): 3777-3800. DOI:10.1111/bph.12744.
- [13] Opitz CF, Mitchell GF, Pfeffer MA, et al. Arrhythmias and death after coronary artery occlusion in the rat. Continuous telemetric ECG monitoring in conscious, untethered rats [J]. Circulation, 1995, 92(2): 253-261. DOI:10.1161/01.CIR.92.2.253.
- [14] Geshi E, Nomizo A, Arata Y, et al. Effect of non-selective endothelin blockade, TAK-044, on the ischemic cellular injury of rat heart[J]. Basic Res Cardiol, 1999, 94(2): 94-101. DOI:10.1007/s003950050131.
- [15] Beaumont E, Southerland EM, Hardwick JC, et al. Vagus nerve stimulation mitigates intrinsic cardiac neuronal and adverse myocyte remodeling postmyocardial infarction [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2015, 309 (7): H1198-H1206. DOI:10.1152/ajpheart.00393.2015.
- [16] 田环环, 刘金东. 心肌缝隙连接蛋白 43 侧膜化机制的研究进展[J]. 国际麻醉学与复苏杂志, 2015, 36(5): 471-474. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4378.2015.05.021.
- [17] Matsushita S, Kurihara H, Watanabe M, et al. Alterations of phosphorylation state of connexin 43 during hypoxia and reoxygenation are associated with cardiac function [J]. J Histochem Cytochem, 2005, 54 (3): 343-353. DOI:10.1369/jhc.4A6611.2005.

(本文编辑:张丽)