

吗啡预处理对缺血再灌注损伤后大鼠心脏中 Caspase-3 表达及细胞凋亡的影响

朱 瑞^{1,2} 金世云^{1,2} 郭成晓^{1,2} 张 野^{1,2}

摘要 目的 探讨吗啡预处理(MP)对大鼠全心缺血再灌注损伤(IRI)后心肌组织中 Caspase-3 表达水平以及心肌细胞凋亡的影响。方法 雄性成年 SD 大鼠 51 只随机分为 3 组:对照组(Sham 组)、全心缺血再灌注组(IR 组)、MP 组(1 μmol/L)。Sham 组持续灌注 195 min。IR 组灌注 K-H 液 45 min 后制备离体全心缺血 30 min 再灌注 10、60、120 min 模型。MP 组于缺血前灌注含吗啡 K-H 液和无吗啡 K-H 液各 5 min, 3 个循环。氯化三苯基四氮唑(TTC)染色测定梗死区(IS)、缺血危险区(AAR)以及 IS/AAR 比值;化学比色法测定冠脉流出液乳酸脱氢酶(LDH)活性;Western blot 及 TUNEL 染色分别测定心肌组织 Caspase-3 蛋白表达及细胞凋亡情况。结果 与 Sham 组比较,IR 组再灌注末心肌梗死体积百分比增加,再灌注后各时间点 LDH 活性、Caspase-3 蛋白表达及心肌细胞凋亡比率均显著升高($P < 0.05$);与 IR 组比较,MP 显著降低 IS/AAR 比值和再灌注后各时点 LDH 活性、Caspase-3 蛋白表达以及心肌细胞凋亡比率($P < 0.05$);IR 组与 MP 组均以再灌注 10 min 时 LDH 水平、再灌注 60 min 时 Caspase-3 蛋白表达和再灌注 120 min 时细胞凋亡比例最高。结论 MP 的心肌保护作用与降低再灌注前期 Caspase-3 蛋白表达及减轻再灌注后心肌细胞凋亡有关。

关键词 吗啡; Caspase-3; 细胞凋亡; 缺血再灌注损伤
中图分类号 R 332; R 971.2

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2021)07-1022-05
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.07.004

体外循环下行心脏手术是多种心脏疾病如心瓣膜病、冠心病及先天性心脏病等主要治疗手段。然而实施体外循环后,心脏常经历全心缺血及再灌注过程,不可避免会发生心肌缺血再灌注损伤(ischemia-reperfusion injury, IRI)^[1]。吗啡作为临床经典

的阿片类镇痛药,在基础研究及临床实践中均表明可减轻心肌 IRI,虽然目前对吗啡心肌保护作用的研究较为广泛,但其确切机制仍未能完全阐明^[2-3]。细胞凋亡是 IRI 过程中主要机制之一, Caspase-3 作为细胞凋亡中关键调控因子,其是否参与吗啡降低心肌细胞凋亡水平,减轻 IRI 目前尚不明确^[4]。该研究通过制备大鼠全心缺血再灌注损伤模型,观察吗啡预处理(morphine preconditioning, MP)对全心缺血再灌注后心肌中 Caspase-3 表达及细胞凋亡的影响,以进一步明确 MP 心肌保护作用的机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器 盐酸吗啡注射液(1 ml:10 mg,批号:190104-2,东北制药集团沈阳第一制药有限公司);氯化三苯基四氮唑(triphenyltetrazolium chloride, TTC)(批号:129K1867V,美国 Sigma 公司);乳酸脱氢酶(lactic dehydrogenase, LDH)试剂盒(南京建成生物工程研究所);兔抗 Caspase-3 单克隆抗体(美国 Cell Signaling 公司);鼠抗 β-actin 单克隆抗体(美国 Santa Cruz 公司);Langendorff 离体心脏灌注系统(安徽淮北正华有限责任公司);Power Lab 数据采集装置(澳大利亚 AD 公司)。

1.2 实验动物及全心缺血再灌注损伤模型制备 健康雄性成年 SD 大鼠,体质量为 220~260 g,由安徽医科大学实验动物中心提供,许可证号:SCXK(皖)2017-001。参照参考文献^[5]制备全心离体缺血再灌注损伤模型,SD 大鼠断头处死,剔除非心脏组织,迅速取出心脏置于 4℃ K-H 液(mmol/L:118.5 NaCl、4.7 KCl、1.2 MgSO₄、25.0 NaHCO₃、1.2 KH₂PO₄、11.0 葡萄糖、2.5 CaCl₂)中,立刻悬挂于 Langendorff 灌注装置上,采用 9.8 kPa 恒压逆行灌注 K-H 液。使用 95% O₂ 和 5% CO₂ 混合气预充 K-H 液,并维持 pH 值 7.35~7.45,温度 37℃。于心脏左心耳剪个小口,将一自制乳胶气囊由该小口经二尖瓣置入左心室,连接 Power Lab 压力传感器,调节气囊大小及位置,保持左室舒张末压在 0~1.33 kPa 之间。操作完成,待心脏稳定 15 min 后,

2020-12-29 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81801938、81970231);安徽医科大学校科研基金(编号:2017xkj047)

作者单位:¹ 安徽医科大学第二附属医院麻醉与围术期医学科,合肥 230601

² 安徽医科大学麻醉与围术期医学安徽普通高校重点实验室,合肥 230032

作者简介:朱 瑞,女,硕士研究生;

张 野,男,教授,博士生导师,责任作者, E-mail: zhangye_hassan@sina.com

心脏有心律失常或左室发展压 <9.31 kPa 的弃之不用。

1.3 实验分组与处理 51 只 SD 大鼠使用随机数字表法分为 3 组 ($n=17$): 对照组 (Sham 组)、全心缺血再灌注组 (IR 组)、MP 组 ($1 \mu\text{mol/L}$ MP 组)。于大鼠心脏稳定 15 min 后通过夹闭灌注导管全心缺血 30 min 再恢复灌注 10、60、120 min, 制备全心缺血再灌注损伤模型。Sham 组心脏持续灌 K-H 液至实验结束 (195 min)。IR 组于心脏灌注 45 min K-H 液后进行全心缺血再灌注。MP 组于心脏稳定 15 min 后灌注含 $1 \mu\text{mol/L}$ 盐酸吗啡^[6] 的 K-H 液和无吗啡的 K-H 液各 5 min, 进行 3 个周期后制备全心缺血再灌注损伤模型。

1.4 心肌梗死体积百分比测定 再灌注 120 min 后取下大鼠心脏 ($n=8$) 将心脏置于 -80°C 冰箱充分冷冻后, 沿心脏纵轴线切成 2 mm 的薄片 5~6 片, 置于 1% TTC 溶液 (pH 7.4) 中 37°C 水浴锅中孵育 10 min 然后于 10% 福尔马林液固定过夜, 白色为的梗死区 (infarct size, IS), 砖红色为缺血危险区 (area at risk, AAR)。采用 Imaging J 1.51 图像分析软件计算 IS 及 AAR 并计算 IS/AAR 比值。

1.5 LDH 活性测定 所有组离体心脏于稳定灌注 15 min (基础值)、再灌注后 10、60、120 min 时收集冠状动脉流出液 3~5 ml, 采用化学比色法测定 LDH 活性。

1.6 Western blot 测定 Caspase-3 蛋白表达 于再灌注 10、60 及 120 min 时取下大鼠心脏 ($n=9$ 即每组每个时间点 3 只, 同一大鼠心脏分别进行 Western blot 试验和 TUNEL 染色)。取组织标本剪碎, 加入 RIPA 裂解液, 冰上静置 60 min 4°C 高速离心机 13 000 r/min 离心 15 min 后取上清液, 行 BCA 蛋白定量。按 1:4 加入 $\times 5$ 上样缓冲液于蛋白质样本中, 水浴 100°C 变性 10 min, 使用蛋白预制胶进行 SDS-PAGE 电泳。110 V 电泳 60 min, 然后 200 mA 电转移至 PVDF 膜, 封闭液 (含 5% 脱脂牛奶的 TBST 溶液) 室温孵育 PVDF 膜 2 h, TBST 溶液漂洗 10 min $\times 3$ 次后, 加入 1:1 000 的 Caspase-3 兔一抗及 β -actin 小鼠一抗 4°C 孵育过夜后 TBST 液漂洗 10 min $\times 3$ 次, 加入 1:10 000 二抗室温孵育 1 h, TBST 液漂洗 10 min $\times 3$ 次, 采用 ECL 发光试剂盒, 使用 Tanon 全自动凝胶成像系统扫描 PVDF 膜, 采集图像。使用 Image J 1.51 图像分析软件分析 Caspase-3 与 β -actin 的蛋白灰度值, 并以 Sham 组为参照计算各组蛋白相对比值。

1.7 TUNEL 染色 于再灌注 10、60、120 min 时取下大鼠心脏 ($n=9$) 将心肌组织蜡块固定切片 ($5 \mu\text{m}$) 经脱蜡、水化后加入蛋白酶 K 工作液 37°C 处理 20 min, 漂洗 3 次后过氧化物酶封闭 30 min, 加入 $50 \mu\text{l}$ TUNEL 反应液于 37°C 暗湿盒反应 1 h, 漂洗 3 次加入 POD 转换液于 37°C 暗湿盒反应 30 min, 漂洗 3 次进行 DAB 显色, 苏木精复染, 碳酸锂蓝化, 脱水透明, 中性树胶封片, 扫描仪扫描后进行观察心肌细胞凋亡情况。

1.8 统计学处理 采用 SPSS 25.0 软件进行数据分析, 正态分布的计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间数据比较采用双因素方差分析, 重复测量的数据采用重复测量的方差分析, 两两比较采用 Turkey 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TTC 染色显示 各组 AAR 体积差异均无统计学意义; 与 Sham 组比较, IR 组再灌注后 IS/AAR 比值显著升高 ($P < 0.05$), 与 IR 组比较, MP 组可显著降低缺血再灌注后 IS/AAR 比值 ($F = 136.44$, $P < 0.05$)。见图 1。

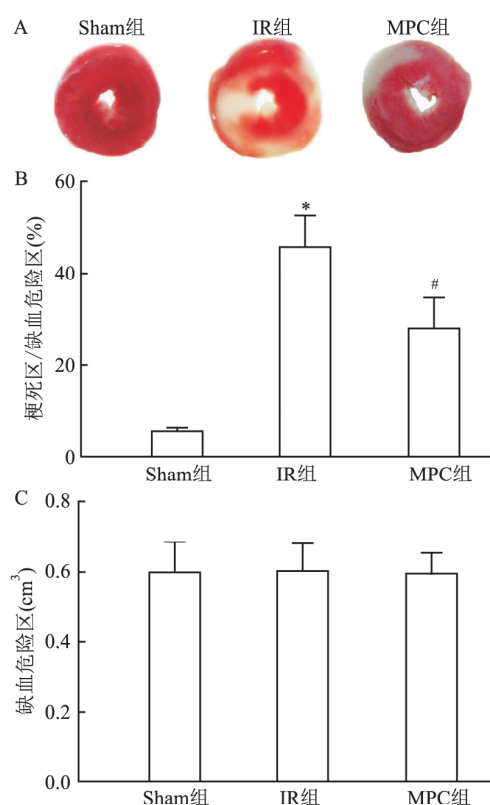


图1 3组大鼠心肌梗死面积 TTC 染色结果

A: TTC 染色显示梗死区 (白色) 和缺血危险区 (红色); B: IS/AAR 统计分析; C: AAR/cm³ 统计分析; 与 Sham 组比较: * $P < 0.05$; 与 IR 组比较: # $P < 0.05$

2.2 冠脉流出液中 LDH 活性检测显示 3 组 LDH 基础值差异无统计学意义;与基础值比较,各组在再灌注后 LDH 活性均升高,IR 及 MP 组在再灌注 10 min 时 LDH 水平达到最高,随着再灌注时间的延长 LDH 值逐渐降低;与 Sham 组比较,IR 组在再灌注后各时间点 LDH 值均显著升高,差异有统计学意义 ($F = 259.35$, $P < 0.05$);与 IR 组比较,MP 组再灌注 10、60 及 120 min 时冠脉流出液 LDH 活性均降低,差异有统计学意义 ($F = 62.52$, $P < 0.05$)。见表 1。

表 1 3 组大鼠再灌注后不同时间点冠脉流出液 LDH 活性的比较 ($n = 8$, $\bar{x} \pm s$)

组别	基础值	再灌注 10 min	再灌注 60 min	再灌注 120 min
Sham	48 ± 21	105 ± 11	109 ± 5	134 ± 13 [△]
IR	63 ± 4	406 ± 61 ^{*△}	368 ± 49 ^{*△}	328 ± 31 ^{*△}
MPC	55 ± 4	235 ± 11 ^{#△}	198 ± 10 ^{#△}	182 ± 6 ^{#△}

与 Sham 组比较: ^{*} $P < 0.05$; 与 IR 组比较: [#] $P < 0.05$; 与基础值比较: [△] $P < 0.05$

2.3 Western blot 结果显示 Sham 组各时间点 Caspase-3 蛋白表达差异无统计学意义;与 Sham 组比较,IR 组在再灌注后各时间点 Caspase-3 蛋白表达中均显著升高,差异有统计学意义 ($F = 23.38$, $P < 0.05$),其中再灌注后 60 min 时相对表达最高;与 IR 组比较,MP 组可显著逆转各时间点 IR 引起的凋亡蛋白 Caspase-3 的升高,差异有统计学意义 ($F = 77.78$, $P < 0.05$)。见图 2。

2.4 TUNEL 染色结果显示 Sham 组心肌细胞凋亡比例均维持在较低水平,虽然随再灌注时间延长有增加的趋势,但各时间点差异无统计学意义;与 Sham 组比较,IR 组心肌细胞凋亡比例在再灌注检测的各时间点中均显著升高 ($F = 192.11$, $P < 0.05$),其中

再灌注 120 min 时心肌细胞凋亡比例最高;与 IR 组比较,MP 组在再灌注后心肌细胞凋亡也逐渐增加,但各时间点心肌细胞凋亡比例均较 IR 组降低,差异有统计学意义 ($F = 84.32$, $P < 0.05$)。见图 3。

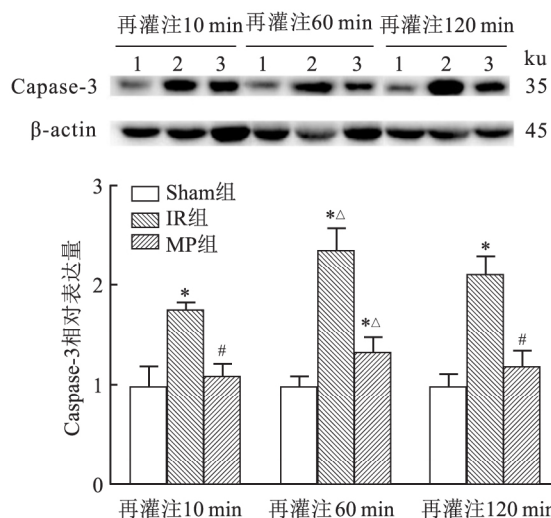


图 2 3 组大鼠心肌细胞 Caspase-3 蛋白表达的比较

1: Sham 组; 2: IR 组; 3: MP 组; 与 Sham 组比较: ^{*} $P < 0.05$; 与 IR 组比较: [#] $P < 0.05$; 与再灌注 10 min 时比较: [△] $P < 0.05$

3 讨论

参照参考文献^[5]介绍的方法,该研究采用 Langendorff 离体心脏灌注装置制备大鼠全心缺血再灌注模型模拟体外循环下心脏手术中心肌缺血再灌注过程。TTC 染色及心肌酶学检测显示,IR 组 IS/AAR 百分比及 LDH 水平显著增加,提示全心缺血再灌注损伤模型建立成功。该研究参照文献^[6]选择 MP 的浓度为 1 $\mu\text{mol/L}$,MP 组可显著逆转 IR 引起的 IS/AAR 百分比及再灌注 5 min 时 LDH 水平

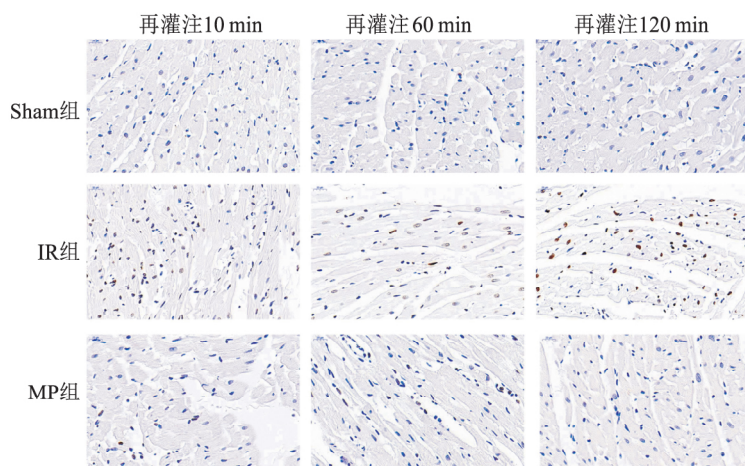
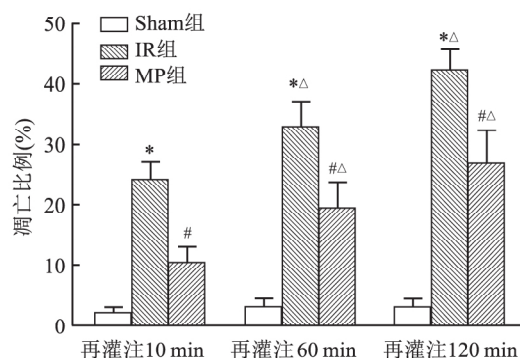


图 3 3 组大鼠心肌细胞 TUNEL 染色结果 HE × 400

与 Sham 组比较: ^{*} $P < 0.05$; 与 IR 组比较: [#] $P < 0.05$; 与再灌注 10 min 时比较: [△] $P < 0.05$



的升高,这与该课题前期研究结果一致^[7-8],提示 1 $\mu\text{mol/L}$ MP 具有心肌保护作用。

细胞凋亡是缺血再灌注损伤过程中主要机制之一,Caspase-3 作为细胞凋亡关键调控因子,抑制再灌注期间 Caspase-3 蛋白的表达可以显著减轻心肌缺血后再灌注损伤^[9-10]。吗啡作为临床中经典的强效阿片类镇痛药物,不仅可以减轻正常心肌的缺血后损伤,还可以对病理状态下的缺血后心肌发挥保护作用^[6,11]。该研究检测到 MP 可以显著逆转缺血后再灌注后心肌组织各时点的 Caspase-3 蛋白表达水平,同时降低再灌注后各时间点心肌细胞凋亡百分比。该课题前期研究显示 MP 减轻全心缺血后损伤与再灌注损伤补救激酶细胞外调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK) 蛋白的表达升高密切相关^[6-7]。结合该实验后期将进一步探讨 MP 的心肌保护机制是否经阿片受体介导后调控 ERK 蛋白激酶,进一步抑制 Caspase-3 等凋亡蛋白的表达,降低再灌注后心肌细胞凋亡。Hausenloy et al^[12] 研究提示再灌注损伤补救激酶 ERK 蛋白的表达水平在心肌再灌注后起始阶段升高,该研究表明 LDH 的水平在再灌注初始阶段最高,随着再灌注时间的延长逐渐降低,同时 Caspase-3 蛋白水平在心肌再灌注后 60 min 内逐渐达到高峰,与之不同的是心肌细胞凋亡率随着再灌注时间的延长逐渐升高,这提示心肌再灌注早期可能是 MP 发挥心肌保护作用的关键阶段。

参考文献

- [1] Maltesen R G, Wimmer R, Rasmussen B S. A longitudinal serum NMR-based metabolomics dataset of ischemia-reperfusion injury in adult cardiac surgery[J]. *Sci Data*, 2020, 7(1): 198.
- [2] Cheng X Y, Chen C, He S F, et al. Spinal NGF induces anti-intrathecal opioid-initiated cardioprotective effect *via* regulation of TRPV1 expression[J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 844: 145–55.
- [3] Kawaguchi J, Hamatani Y, Hirayama A, et al. Experience of morphine therapy for refractory dyspnea as palliative care in advanced heart failure patients[J]. *J Cardiol*, 2020, 75(6): 682–8.
- [4] Sun T, Liu H, Cheng Y, et al. 2,3,5,4'-Tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glucoside eliminates ischemia/reperfusion injury-induced H9c2 cardiomyocytes apoptosis involving in Bel-2, Bax, caspase-3, and Akt activation[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 10: 1002.
- [5] Muessig J M, Kaya S, Moellhoff L, et al. A model of blood component-heart interaction in cardiac ischemia-reperfusion injury using a langendorff-based *ex vivo* assay[J]. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2020, 25(2): 164–73.
- [6] He S F, Jin S Y, Wu H, et al. Morphine preconditioning confers cardioprotection in doxorubicin-induced failing rat hearts *via* ERK/GSK-3 β pathway independent of PI3K/Akt[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2015, 288(3): 349–58.
- [7] 黄俊,杨婉,金世云,等. ERK 信号蛋白在吗啡预处理减轻大鼠全心缺血/再灌注损伤中的作用[J]. *中国药理学通报*, 2018, 34(2): 232–6.
- [8] 徐凯生,张丽,张野. β -内啡肽在 RVLM 吗啡预处理减轻大鼠心肌缺血再灌注损伤中的变化[J]. *安徽医科大学学报*, 2020, 55(4): 557–62.
- [9] Liang H, Li F, Li H, et al. Overexpression of lncRNA HULC attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury in rat models and apoptosis of hypoxia/reoxygenation cardiomyocytes *via* targeting mir-377-5p through NLRP3/Caspase-1/IL-1 β signaling pathway inhibition[J]. *Immunol Invest*, 2020: 1–14.
- [10] Fang J, Wei Z, Zheng D, et al. Recombinant extracellular domain (p75ECD) of the neurotrophin receptor p75 attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury by inhibiting the p-JNK/Caspase-3 signaling pathway in rat microvascular pericytes[J]. *J Am Heart Assoc*, 2020, 9(13): e016047.
- [11] He S F, Jin S Y, Yang W, et al. Cardiac μ -opioid receptor contributes to opioid-induced cardioprotection in chronic heart failure[J]. *Br J Anaesth*, 2018, 121(1): 26–37.
- [12] Hausenloy D J, Tsang A, Mocanu M M, et al. Ischemic preconditioning protects by activating prosurvival kinases at reperfusion[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2005, 288(2): H971–6.

Morphine preconditioning reduces global ischemia/reperfusion injury *via* regulating Caspase-3 and cardiomyocyte apoptosis in isolated rat hearts

Zhu Rui^{1,2}, Jin Shiyun^{1,2}, Guo Chengxiao^{1,2}, et al

(¹Dept of Anesthesiology, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601;

²Key Laboratory of Anesthesiology and Perioperative Medicine of Anhui Higher Education, Anhui Medical University, Hefei 230032)

Abstract Objective To investigate the effect of morphine pretreatment on the expression level of Caspase-3 and apoptosis of myocardial cells after ischemia reperfusion injury in rats. **Methods** A total of 51 male adult SD rats were randomly divided into 3 groups: the control group (Sham), ischemia-reperfusion group (IR) and morphine preconditioning group (1 $\mu\text{mol/L}$, MP). The Sham group was perfused with K-H solution for 195 min. In IR

去甲肾上腺素对腹外侧视前区神经元的作用途径研究

邴利洁 张平平 程娟 张乐莎 王烈成

摘要 目的 研究去甲肾上腺素(NA)对腹外侧视前区(VLPO)中两种类型神经元(促睡眠神经元和中间神经元)的作用途径。方法 采用全细胞膜片钳技术,通过药理学方法在C57BL/6小鼠脑片上,研究NA对VLPO中两种类型神经元兴奋或抑制作用的途径。通过RT-PCR鉴定VLPO脑区NMDA受体表达的类型。结果 电生理结果显示,NA(100 $\mu\text{mol/L}$)对VLPO中间神经元的兴奋作用能被NMDA受体阻断剂(AP5)阻断($P < 0.05$, $n = 8$),不能被AMPA受体阻断剂(CNQX)和 γ -氨基丁酸受体阻断剂阻断。NA(100 $\mu\text{mol/L}$)对VLPO促睡眠神经元的抑制作用均不能被AP5、CNQX和氟马西尼(flumazenil)阻断。RT-PCR结果显示NMDA受体的3种亚型(GluN2A、GluN2B、GluN1)在VLPO中均有表达。结论 NA对VLPO中间神经元的兴奋作用是通过谷氨酸能神经元释放谷氨酸引起的间接效应,该兴奋效应由VLPO中间神经元上的NMDA受体介导。

关键词 去甲肾上腺素;腹外侧视前区;谷氨酸受体
中图分类号 R 338.3

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2021)07-1026-06
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.07.005

腹外侧视前区(ventrolateral preoptic nucleus, VLPO)是促进睡眠的中枢^[1-2],其在睡眠启动中起着重要作用。在中枢神经系统中,去甲肾上腺素(noradrenalin, NA)主要由蓝斑(locus coeruleus, LC)的神经元释放,是觉醒的重要递质^[3]。曾有学者^[4]提出促睡眠神经元与促觉醒神经元相互抑制的假说,其控制着睡眠觉醒之间的时相转换来维持睡眠或觉醒状态。80%的VLPO神经元为 γ -氨基丁酸(GABA)能神经元和甘丙肽能神经元,向脑中与觉醒相关的众多区域发出纤维投射^[5],调节睡眠觉醒时相间的相互转换,是调节睡眠-觉醒节律的关键因素。有研究^[6]表明,在VLPO区域中促睡眠神经元约占2/3,中间神经元约占1/3。NA能够兴奋或抑制VLPO中两种类型神经元的兴奋性。有文献^[7]表明促睡眠神经元的激活有助于睡眠。然而,目前NA对VLPO区域的这两类神经元的兴奋和抑制作用途径是直接作用途径还是间接作用途径未见报道。该研究利用全细胞膜片钳技术和RT-PCR检测,探究NA对VLPO两种类型神经元的兴奋或

2021-03-11 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81971236、81903590、81801317、31800997)

作者单位: 安徽医科大学基础医学院生理学教研室,合肥 230032

作者简介: 邴利洁,女,硕士研究生;

王烈成,男,教授,博士生导师,责任作者, E-mail: wanglicc-heng@ahmu.edu.cn

group, K-H solution was infused for 45 min to prepare *in vitro* whole heart ischemia for 30 min, and 10, 60 and 120 min post-ischemia reperfusion models were made. In MP group, K-H solution with morphine was perfused and K-H solution without morphine was perfused for 5 min each before ischemia, with a total of 3 cycles. Infarct volume (IS), area at risk (AAR) and IS / AAR were determined by 2, 3, 5-triphenyl-tetrazolium (TTC) staining. Lactic dehydrogenase (LDH) activity in coronary artery outflow was measured by chemical colorimetry. Caspase-3 and cardiomyocyte apoptosis were detected after 10, 60 and 120 min of reperfusion *via* Western blot and TUNEL staining, respectively. **Results** Compared with sham group, the percentage of infarct volume at the end of reperfusion increased in IR group, LDH activity, Caspase-3 protein expression and cardiomyocyte apoptosis ratio significantly increased in IR group at each time point after reperfusion ($P < 0.05$). Compared with IR group, morphine pretreatment significantly decreased IS/AAR ratio, LDH active Caspase-3 protein level and myocardial apoptosis ratio ($P < 0.05$). LDH level at 10 min reperfusion, Caspase-3 protein expression at 60 min reperfusion and apoptosis rate at 120 min reperfusion were the highest in IR group and MP group. **Conclusion** The protective effect of morphine pretreatment on myocardium is associated with decreased expression of Caspase-3 protein at the early stage of reperfusion and decreased apoptosis of myocardial cells after reperfusion.

Key words morphine; Caspase-3; apoptosis; ischemia-reperfusion injury