



[DOI] 10.3969/j.issn.1001-9057.2020.11.014

http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2020.11.014

· 临床研究 ·

尼可地尔通过磷脂酰肌醇-3 激酶通路对缺氧/复氧心肌细胞抗凋亡作用的研究

师幸伟 石美晶 彭世平

【摘要】 目的 探讨尼可地尔通过磷脂酰肌醇-3 激酶 (PI3K) 通路对大鼠缺氧/复氧 (H/R) 心肌细胞发挥抗凋亡作用的机制。**方法** 原代培养 SD 乳鼠的心肌细胞, 建立 H/R 模型, 实验随机分为 4 组, Con 组: 在正常培养箱中孵育; H/R 组: 在三气培养箱和正常培养箱先后孵育; Nic 组: 孵育前加入尼可地尔 50 $\mu\text{mol/L}$; Nic + Ly294002 组: 孵育前加入尼可地尔 50 $\mu\text{mol/L}$ 和 Ly294002 20 $\mu\text{mol/L}$ 。采用比色法检测心肌细胞乳酸脱氢酶 (LDH) 漏出率, CCK-8 法检测心肌细胞存活率, 流式细胞仪检测心肌细胞凋亡率, 蛋白质印迹法 (Western blot) 检测淋巴瘤-2 (Bcl-2)、Bcl-2 相关 x 蛋白 (Bax) 及磷酸化的蛋白激酶 B (p-Akt) 表达水平。**结果** H/R 组、Nic 组和 Nic + Ly294002 组心肌细胞凋亡率、LDH 漏出率和 Bax 表达水平均高于 Con 组; Nic 组和 Nic + Ly294002 组上述指标均低于 H/R 组; Nic 组上述指标均低于 Nic + Ly294002 组 ($P < 0.05$)。H/R 组、Nic 组和 Nic + Ly294002 组心肌细胞存活率和 Bcl-2 表达水平均低于 Con 组; Nic 组和 Nic + Ly294002 组上述指标均高于 H/R 组; Nic 组上述指标均高于 Nic + Ly294002 组 ($P < 0.05$)。Nic 组心肌细胞 p-Akt 表达水平高于 Con 组和 H/R 组, Nic + Ly294002 组低于 Con 组、H/R 组和 Nic 组 ($P < 0.05$)。**结论** 尼可地尔可阻止 H/R 引起的心肌细胞凋亡, 其作用的发挥与 PI3K 信号通路关系密切。

【关键词】 尼可地尔; ATP 敏感性钾通道; 磷脂酰肌醇-3 激酶信号通路; 细胞凋亡

Research of anti-apoptosis effect of nicorandil to hypoxia/re-oxygenation cardiomyocytes through phosphatidylinositol 3-kinase pathway Shi Xingwei*, Shi Meijing, Peng Shiping. * Department of Cardiology, General Hospital of Yangtze River Shipping, Wuhan 430010, China

【Abstract】 Objective To explore anti-apoptosis mechanism of nicorandil to hypoxia/re-oxygenation (H/R) cardiomyocytes of rats through phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) pathway. **Methods** Primary cultured cardiomyocytes of SD suckling rat were established H/R model, and they were divided into 4 groups randomly. Con group: incubated in normal incubator. H/R group: incubated in three gas incubator and normal incubator successively. Nic group: added nicorandil 50 $\mu\text{mol/L}$ before incubation. Nic + Ly294002: add 50 $\mu\text{mol/L}$ nicorandil and Ly294002 20 $\mu\text{mol/L}$ before incubation. Leakage rate of lactate dehydrogenase (LDH) was detected and evaluated by colorimetry, survival rate of cardiomyocytes was detected and evaluated by CCK-8 method, apoptosis rate of cardiomyocytes was detected by flow cytometry, and the expression levels of apoptotic protein lymphoma-2 (Bcl-2), Bcl-2 related x protein (Bax) and phosphorylated protein kinase B (p-Akt) were detected by Western blotting. **Results** Apoptosis rate of cardiomyocyte, leakage rate of LDH and expression level of Bax in H/R group, Nic group and Nic + Ly294002 group were higher than those in Con group, above indexes in Nic group and Nic + Ly294002 group were lower than those in H/R group, and above indexes in Nic group were lower than those in Nic + Ly294002 group ($P < 0.05$). Survival rate of cardiomyocytes and expression level of Bcl-2 in H/R group, Nic group and Nic + Ly294002 group were lower than those in Con group, above indexes in Nic group and Nic + Ly294002 group were higher than those in H/R group, and above indexes in Nic group were higher than those in Nic + Ly294002 group ($P < 0.05$). Expression level of p-Akt in Nic group was higher than that in Con group and H/R group, above index in Nic + Ly294002 group was lower than that in Con group, H/R group and Nic group ($P < 0.05$). **Conclusion** Nicorandil can prevent the apoptosis of cardiomyocyte induced by H/R, which is closely related to PI3K signaling pathway.

【Key words】 Nicorandil; ATP sensitive potassium channel; Phosphatidylinositol-3 kinase signal pathway; Cell apoptosis

基金项目: 武汉市卫生和计划生育委员会科研项目 (WX15D30)

作者单位: 430010 武汉, 长江航运总医院心血管内科 (师幸伟、石美晶); 深圳市第三人民医院心血管内科 (彭世平)

通讯作者: 彭世平, E-mail: W143000115@163.com

近年来,急性心肌梗死(AMI)的发病率逐年上升,且发病年龄日趋年轻化,严重威胁人类健康,2000~2017 年我国 18 岁以上人群的 AMI 住院粗病死率为 8.5%,冠状动脉再通后的心肌缺血再灌注损伤(MIRI)是其重要原因之一^[1]。如何减轻 MIRI、最大限度地保护心肌,一直是临床上关注的焦点。既往已有较多研究证实 MIRI 中存在细胞凋亡现象,进一步研究也发现在 MIRI 中有多种机制引起心肌细胞凋亡,其中线粒体损伤机制受到广泛关注。有研究结果显示,线粒体内 Ca^{2+} 超载可导致线粒体严重损伤,体积增大至 10% 左右,在 ATP 敏感性钾通道(K_{ATP})开放剂作用下,线粒体损伤明显减轻,同时 K_{ATP} 开放剂也可调节细胞内自由基的产生,继而起到抑制细胞凋亡的作用^[2-3]。蛋白激酶 B(Akt)是磷脂酰肌醇-3 激酶(PI3K)信号通路中的关键激酶,也是细胞内最重要的原癌基因之一,其能够影响胰岛素、生长因子、凝血酶等多种细胞生存所需因子的分泌,通过多种途径对细胞的生长和死亡发挥重要调控作用。深入研究后发现, K_{ATP} 开放对多种凋亡信号通路如 PI3K、细胞外调节蛋白激酶(ERK)均有影响,可能与 Akt、活性氧(ROS)、一氧化氮(NO)等中介物质的变化有关,相互关系复杂。本研究通过建立大鼠心肌细胞缺氧复氧(H/R)模型,采用 K_{ATP} 开放剂尼可地尔和 PI3K/Akt 抑制剂 Ly294002 干预心肌细胞,探讨尼可地尔通过 PI3K/Akt 信号通路发挥抗凋亡作用的内在机制,为尼可地尔应用于 AMI 的临床防治提供依据。

材料与方法

1. 材料:胎牛血清(FBS)和 DMEM/F-12 培养基购于 GIBCO 公司,碘化丙啶(PI)购于 Sigma 公司,CCK-8 购于 Dojindo 公司,尼可地尔购于北京四环科宝公司,乳酸脱氢酶(LDH)购于南京建成生物公司, Ly294002、凋亡蛋白淋巴瘤细胞瘤-2(Bcl-2)、Bcl-2 相关 x 蛋白(Bax)、Akt、p-Akt 和 GAPDH 抗体购于 Cell Signaling 公司,三气培养箱(95% N_2 + 5% CO_2 混合气体)购于 Esco 公司,二氧化碳培养箱购于 Sanyo 公司,流式细胞仪购于 Epics Elite 公司,酶标仪购于 Tecan 公司,凝胶成像系统购于 Bio-Rad 公司。

2. 方法

(1)原代心肌细胞培养:选取出生 1~2 d 的 SD 乳鼠,处死后取其心脏心尖部组织,酒精浸泡 5 min,用预冷的 D-Hank's 液洗涤 3 遍,剪碎至 1 mm^3 左右,加入 0.125% 胰酶 8 ml,在 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 水浴箱中温浴 10 min,弃上清,加入 0.125% 胰酶和 0.08% II 型胶原酶各 3 ml, $37\text{ }^\circ\text{C}$ 水浴箱中再次温浴 5 min,收集上清液,加入等量

的含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液,吹打制备成细胞悬液,以 $1\,000\text{ r/min}$ 转速离心 5 min,重复 3 次,弃上清,培养液重悬细胞后置于 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 、5% 的 CO_2 培养箱中培养 90 min,利用差速贴壁分离法调整细胞浓度至 5×10^5 个/ml,将最后的细胞悬液接种于 96 孔板上。接种实验前 3 d 于接种板中加入 0.1 mmol/L 的 5-溴脱氧尿苷,抑制非心肌细胞的生长^[4]。

(2)H/R 模型的构建和实验分组:将原代心肌细胞置于含 10% FBS 的 DMEM/F-12 培养基中,于 5% CO_2 、 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下传代培养约 24 h,待细胞生长至约 80% 的融合状态时可用于实验。然后先将心肌细胞置于三气培养箱中孵育 3 h,再次更换培养液转移至正常培养箱(95% 空气 + 5% CO_2 混合气体)中复氧孵育 3 h,依此构建 H/R 心肌细胞损伤模型^[5]。实验随机分为 4 组,每组接种 6 个孔,①对照组(Con 组):仅在正常培养箱中孵育;②H/R 组:先后在三气培养箱和正常培养箱中孵育;③尼可地尔组(Nic 组):加入 $50\text{ }\mu\text{mol/L}$ 尼可地尔作用心肌细胞 60 min,磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤 2 次,更换含 10% FBS 的 DMEM 培养基,然后依次在三气培养箱和正常培养箱孵育;④尼可地尔 + PI3K/Akt 途径特异性抑制剂 Ly294002 组(Nic + Ly294002 组):加入 $50\text{ }\mu\text{mol/L}$ 尼可地尔和 $20\text{ }\mu\text{mol/L}$ LY294002 作用心肌细胞 60 min, PBS 洗涤 2 次,更换含 10% FBS 的 DMEM 培养基,然后依次在三气培养箱和正常培养箱孵育。

(3)比色法检测 LDH 漏出率:收集 4 组培养孔内的培养液,以 $3\,000\text{ r/min}$ 转速离心 10 min,取上清液备检。待培养液吸出后加入等量 PBS,超声波破碎细胞后的溶液待测。应用酶标仪于 490 nm 处测定上清液和破碎细胞液吸光度(OD)值, $\text{LDH 漏出率}(\%) = \frac{\text{上清液 OD 值}}{\text{上清液 OD 值} + \text{破碎细胞液 OD 值}} \times 100\%$ 。

(4)CCK-8 法检测心肌细胞存活率:将 4 组建模后的心肌细胞接种于 96 孔板上,调整细胞数量为 6×10^3 个/孔,设 6 个复孔,每孔加入培养液 $200\text{ }\mu\text{l}$ (内含 $20\text{ }\mu\text{l}$ CCK-8)。另设空白组,空白组不接种心肌细胞只加培养液,在 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中孵育 1 h。H/R 处理后除去培养液,再次加入 CCK-8 培养液置于培养箱中孵育 4 h。最后采用酶标仪在 450 nm 处测定 OD 值。细胞活力(%) = (处理组 OD 值 - 空白组 OD 值) / (对照组 OD 值 - 空白组 OD 值) $\times 100\%$ 。

(5)流式细胞仪检测细胞凋亡率:收集各组心肌细胞悬液,加入 95% 的冷乙醇 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 固定 12 h 以上,以 $2\,000\text{ r/min}$ 转速离心后加入等量 PBS,重复 3 次。取细胞悬液 $50\text{ }\mu\text{l}$,加入 PI $100\text{ }\mu\text{l}$,染色 20 min 以上, $4\text{ }^\circ\text{C}$ 下密封避光保存备检。流式细胞仪检测 5×10^3 个细

胞,激发光波长为 488 nm,发射光波长为 620 nm,用于检测 PI 荧光。采用 Cell Quest 软件计算凋亡率。

(6)蛋白质印迹法(Western blot)法检测 Bax、Bcl-2、Akt 和 p-Akt 蛋白表达水平:收集各组心肌细胞悬液,4 ℃ PBS 液反复洗涤 2 次,加入预冷的细胞裂解缓冲液,冰上裂解 15 min,裂解的产物再次于 4 ℃、12 000 r/min 离心 30 min。待蛋白变性后,先进行十二烷基磺酸钠(SDS)-聚丙烯酰胺凝胶(PAGE)电泳,电泳后转移至聚偏氟乙烯(PVDF)膜上,以 5% 脱脂奶粉室温封闭 2 h,用TBST 溶液洗膜 10 min×3 次,加入 Bax、Bcl-2、p-Akt 和 GAPDH 一抗(GAPDH 的稀释度为 1:5 000,其余蛋白的稀释度均为 1:1 000),4 ℃ 孵育过夜,用 TBST 溶液洗膜 10 min×3 次,加入辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗(1:5 000),37 ℃ 孵育 2 h,TBST 溶液洗膜 10 min×3 次,以化学发光试剂(ECL)显色后,置于凝胶成像系统上成像,采用 Image Lab 软件分析图像。凋亡蛋白(Bcl-2、Bax)的相对表达水平以其与内参(GAPDH)条带的灰度值比值表示,Akt 磷酸化水平以 p-Akt 和 Akt 条带的灰度值比值表示^[6]。

3. 统计学处理:应用 SPSS 18.0 软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 *t* 检验。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1.4 组心肌细胞 LDH 漏出率和存活率比较:H/R 组、Nic 组及 Nic + Ly294002 组 LDH 漏出率均高于 Con 组,Nic 组和 Nic + Ly294002 组 LDH 漏出率均低于 H/R 组,Nic 组 LDH 漏出率低于 Nic 组 + Ly294002 (*P* < 0.05);H/R 组、Nic 组及 Nic + Ly294002 组心肌细胞存活率均低于 Con 组,Nic 组和 Nic + Ly294002 组心肌细胞存活率均高于 H/R 组,Nic 组心肌细胞存活率高于 Nic + Ly294002 组(*P* < 0.05)。见表 1。

2.4 组心肌细胞凋亡率比较:Con 组、H/R 组、Nic 组、Nic + Ly294002 组心肌细胞凋亡率分别为(3.97 ± 1.30)%、(36.78 ± 2.38)%、(21.12 ± 2.05)%、(28.69 ± 1.84)%,其中 H/R 组、Nic 组及 Nic + Ly294002 组均高于 Con 组,Nic 组和 Nic + Ly294002 组均低于 H/R 组,

Nic 低于 Nic + Ly294002 组(*P* < 0.05)。见图 1。

表 1 各组间心肌细胞 LDH 漏出率和存活率比较
(*n* = 6,%, $\bar{x} \pm s$)

组别	LDH 漏出率	心肌细胞存活率
Con 组	5.10 ± 1.08	90.30 ± 4.24
H/R 组	36.40 ± 2.05 ^a	51.51 ± 3.12 ^a
Nic 组	25.63 ± 1.86 ^{ab}	81.23 ± 3.94 ^{ab}
Nic + Ly294002 组	31.63 ± 1.98 ^{abc}	62.41 ± 3.69 ^{abc}

注:与 Con 组比较,^a*P* < 0.05;与 H/R 组比较,^b*P* < 0.05;与 Nic 组比较,^c*P* < 0.05

3.4 组心肌细胞 Bcl-2、Bax 和 p-Akt 表达水平比较:H/R 组、Nic 组及 Nic + Ly294002 组 Bcl-2 表达水平均低于 Con 组,Nic 组和 Nic + Ly294002 组 Bcl-2 表达水平均高于 H/R 组,Nic 组 Bcl-2 表达水平高于 Nic + Ly294002 组(*P* < 0.05)。H/R 组、Nic 组及 Nic + Ly294002 组 Bax 表达水平均高于 Con 组,Nic 组和 Nic + Ly294002 组 Bax 表达水平均低于 H/R 组,Nic 组 Bax 表达水平低于 Nic + Ly294002 组(*P* < 0.05)。Nic 组 p-Akt 表达水平高于 Con 组和 H/R 组,Nic + Ly294002 组 p-Akt 表达水平低于 Con 组、H/R 组和 Nic 组(*P* < 0.05)。见表 2。

表 2 4 组心肌细胞 Bcl-2、Bax 和 p-Akt 表达水平比较
(*n* = 6, $\bar{x} \pm s$)

组别	Bcl-2	Bax	p-Akt
Con 组	1.06 ± 0.10	0.69 ± 0.09	0.59 ± 0.09
H/R 组	0.62 ± 0.09 ^a	1.40 ± 0.12 ^a	0.41 ± 0.06
Nic 组	0.86 ± 0.09 ^{ab}	0.84 ± 0.11 ^{ab}	0.85 ± 0.08 ^{ab}
Nic + LY294002 组	0.73 ± 0.09 ^{abc}	0.99 ± 0.11 ^{abc}	0.32 ± 0.06 ^{abc}

注:与 Con 组比较,^a*P* < 0.05;与 H/R 组比较,^b*P* < 0.05;与 Nic 组比较,^c*P* < 0.05

讨 论

根据在细胞上的分布情况,K_{ATP} 被分为 mK_{ATP} 和 sK_{ATP} 两种,前者存在于线粒体膜表面,后者存在于细胞膜表面,其在心脏保护方面发挥重要的正面作用。K_{ATP} 在正常生理情况下并不开放,当冠状动脉阻塞、心肌坏死、缺血、缺氧、能量匮乏时,K_{ATP} 开放以发挥阻止心肌细胞死亡、保护剩余心肌细胞的作用。既往研究

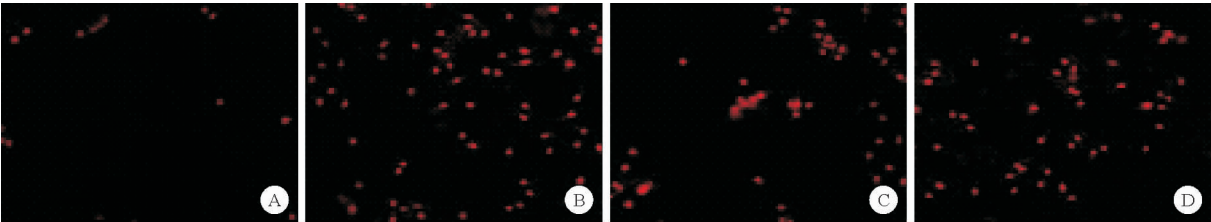


图 1 流式细胞仪检测心肌细胞凋亡情况(A:Con 组;B:H/R 组;C:Nic 组;D:Nic + Ly294002 组;PI 染色,×100;在荧光显微镜下,PI 染色的凋亡心肌细胞核显示为红色荧光)

结果显示, mK_{ATP} 可降低室颤的发生率, 缩小 AMI 的最后坏死面积; 选择性 mK_{ATP} 阻断剂 5-羟色胺 (5-HD) 可降低 AMI 期间恶性心律失常的发生率, 抑制 AMI 的梗死面积扩大^[7]。心肌缺血再灌注后心脏出现的心律失常和心电图监测发现的众多变化多数与心肌细胞的 K_{ATP} 状态有关, 主要表现包括静息膜电位和动作电位电压降低、时程缩短、除极化速度和电传导速率减慢。进一步研究发现, K_{ATP} 在 MIRI 中开放不足, 不能维持心肌细胞动作电位的复极化顺序时, 可能会产生早期后去极化 (EAD), 继而导致各种恶性心律失常的发生^[8]。

PI3K/Akt 是细胞内重要的信号通路, 在介导心肌细胞存活方面具有非常重要的作用, Akt 存在于细胞膜内面, 其表达在 PI3K 调控下被激活, 通过多条途径直接或间接调控心肌细胞凋亡, 主要途径如下: (1) 影响细胞转录因子的活性: 叉头转录因子磷酸化可在 p-Akt 作用下被激活, 在磷酸化的叉头转录因子的作用下, 促凋亡基因 (如 FasI) 的表达可能被抑制; 同时活化的 Akt 也能够上调 MDM2 的活性。(2) 抑制凋亡相关因子的释放: 在 PI3K/Akt 信号通路的活化作用下, 线粒体凋亡因子如细胞色素 C 释放减少, 促凋亡相关因子 (半胱天冬蛋白酶 Caspase-9) 可在 p-Akt 的活化作用下失去作用, 继而综合多方面发挥抗凋亡作用。(3) 通过级联激活直接调控细胞凋亡: p-Akt 能够激活促凋亡蛋白 (如 Bad、Bax 等), 同时也能够激活抗凋亡蛋白 (如 Bcl-2、Bcl-XL 等), 在整体作用下, 线粒体功能受到保护, 细胞凋亡受到明显抑制^[9-10]。

Ahmad 等^[11] 通过研究缺血预处理模型, 发现 PI3K/Akt 信号传导通道中关键酶 Akt 的磷酸化能被 mK_{ATP} 开放剂 BMS-191095 和二氮嗪激活, 且该节点被阻断后, mK_{ATP} 开放剂降低心肌细胞凋亡的作用明显下降, 对 K_{ATP} 开放剂保护心肌、抗凋亡的机制可能与 PI3K/Akt 信号传导通道相关做了系统研究。其他学者也发现 K_{ATP} 开放剂对 ERK 信号通路也有影响, 可能与 ROS 和 NO 相关, 进一步研究发现 P38MAPK/ERK 的保护作用可被 5-羟色胺阻断, 同时也表明 K_{ATP} 在体内的作用机制较复杂^[12-13]。另有研究结果显示, 在应激导致的心肌凋亡和线粒体损伤中, K_{ATP} 能通过与钙结合的方式进而与线粒体发生相互联系, 从而发挥抗心肌凋亡和抗线粒体损伤的重要保护作用^[14]。

本研究结果显示, K_{ATP} 开放剂尼可地尔对 H/R 损伤模型中心肌细胞的 LDH 漏出率和细胞凋亡有明显

抑制作用, 且此作用的发挥与 PI3K 信号通路关系密切。通过对凋亡相关蛋白 Bcl-2、Bax 和 p-Akt 表达水平的检测, 提示尼可地尔减轻细胞凋亡与影响凋亡蛋白有关, 同时其作用发挥也与 PI3K 信号通路关系密切。本研究中, 阻断 PI3K 信号通路关键酶 AKT 后, 尼可地尔的保护作用并未完全消失, 表明尼可地尔发挥抗凋亡作用存在多通路多方向, 这为今后探讨 K_{ATP} 和尼可地尔提供了更宽广的视角。

参 考 文 献

- [1] 李崎宝, 刘红旭, 邢文龙, 等. 我国 2001-2017 年 AMI 患者住院病死率的系统评价[J]. 世界中医药, 2018, 13(8): 1822-1827.
- [2] Anastacio MM, Kanter EM, Makepeace CM, et al. Relationship between mitochondrial matrix volume and cellular volume in response to stress and the role of ATP-sensitive potassium channel[J]. Circulation, 2013, 128(11 Suppl 1): S130-S135.
- [3] Paggio A, Checchetto V, Campo A, et al. Identification of an ATP-sensitive potassium channel in mitochondria[J]. Nature, 2019, 572(7771): 609-613.
- [4] 石美晶, 师幸伟, 石珍, 等. 丁香苷对 H/R 心肌细胞的保护作用及其机制研究[J]. 西部医学, 2019, 31(3): 364-369.
- [5] Xie J, Hu X, Yi C, et al. MicroRNA-451 protects against cardiomyocyte anoxia/reoxygenation injury by inhibiting high mobility group box 1 expression[J]. Mol Med Rep, 2016, 13(6): 5335-5341.
- [6] Song D, Liu X, Diao Y, et al. Hydrogen-rich solution against myocardial injury and aquaporin expression via the PI3K/Akt signaling pathway during cardiopulmonary bypass in rats[J]. Mol Med Rep, 2018, 18(2): 1925-1938.
- [7] Jang YH, Kim JH, Lee YC. Mitochondrial ATP-Sensitive Potassium Channels Play a Role in Reducing Both Myocardial Infarction and Reperfusion Arrhythmia in Remote Ischemic Preconditioned Hearts[J]. Anesth Pain Med, 2017, 7(1): e42505.
- [8] Dutta S, Mincholé A, Zacur E, et al. Early afterdepolarizations promote transmembrane reentry in ischemic human ventricles with reduced repolarization reserve[J]. Prog Biophys Mol Biol, 2016, 120(1-3): 236-248.
- [9] Song G, Ouyang G, Bao S. The activation of Akt/PKB signaling pathway and cell survival[J]. Cell Mol Med, 2005, 9(1): 59-71.
- [10] 李玉华, 赵敏. PI3K/Akt 信号通路调控心肌细胞凋亡的研究进展[J]. 疑难病杂志, 2019, 11(11): 1169-1173.
- [11] Ahmad N, Wang Y, Haider KH, et al. Cardiac protection by mitoK_{ATP} channels is dependent on Akt translocation from cytosol to mitochondria during late preconditioning[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2006, 290(6): H2402-H2408.
- [12] Zhao TC, Hines DS, Kukreja RC. Adenosine induced late preconditioning in mouse hearts: role of p38 MAP kinase and mitochondrial K_{ATP} channels[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2001, 280(3): H1278-H1285.
- [13] Goni-Allo B, Puerta E, Ramos M, et al. Minoxidil prevents 3,4 -methylenedioxymethamphetamine-induced serotonin depletions: role of mitochondrial ATP-sensitive potassium channels, Akt and ERK[J]. J Neurochem, 2008, 104(4): 914-925.
- [14] Zhang L, Cao S, Deng S, et al. Ischemic postconditioning and pinacidil suppress Calcium overload in anoxia-reoxygenation cardiomyocytes via down-regulation of the calcium-sensing receptor[J]. Peer J, 2016, 1(4): e2612.

(收稿日期: 2020-03-20)

(本文编辑: 周三凤)