

文章编号 1006-8147(2018)04-0291-03

论 著

缺血大鼠心肌细胞晚钠电流的变化规律和阿托伐他汀的作用

李小龙, 万 征

(天津医科大学总医院心内科, 天津 300052)

摘要 **目的:**观察不同模拟缺血时间下大鼠左室心肌细胞晚钠电流(I_{NaL})的变化规律及阿托伐他汀对该过程的作用。**方法:**Wistar大鼠共40只,分离左室心肌细胞,分为正常组、缺血组、正常-他汀组和缺血-他汀组。用全细胞膜片钳分别记录4组细胞基线状态下 I_{NaL} ,再灌流3 min后,每2 min记录1次,记录10 min,观察 I_{NaL} 的变化规律。计算 I/I_{max} 作为标准化 I_{NaL} ,比较4组 I_{NaL} 标准化值。**结果:**取-40 mV测试电压下,(1)正常组,基线状态和记录3、5、7、9 min 4个时间点的 I_{NaL} 分别为 1.082 ± 0.024 、 1.00 ± 0.36 、 0.92 ± 0.32 和 1.03 ± 0.38 ,各记录时间点与基线之间均无差别(分别 $P > 0.05$);(2)缺血组,基线状态 I_{NaL} 为1,在模拟缺血3~7 min时, I_{NaL} 增大,并于3 min时达峰(1.79 ± 0.66);(3)正常-他汀组,基线状态和4个记录时间点的 I_{NaL} 分别为 1.088 ± 0.28 、 1.06 ± 0.23 、 1.03 ± 0.27 和 0.94 ± 0.19 ,各记录时间点与基线之间均无差别(分别 $P > 0.05$);(4)缺血-他汀组,与基线状态相比,模拟缺血3 min时的 I_{NaL} 无变化,5 min时较基线值减少 0.43 ± 0.31 ($P = 0.035$),7 min时较基线值减少 0.48 ± 0.37 ($P = 0.044$);(5)在模拟缺血3 min时,相比于正常组,缺血组 I_{NaL} 增大($P = 0.001$);相比于缺血组,缺血-他汀组 I_{NaL} 则减小($P = 0.004$);正常组和缺血-他汀组的 I_{NaL} 之间并无差别($P > 0.05$)。**结论:**模拟缺血早期(10 min内)心室肌细胞 I_{NaL} 呈时间依赖性增大;5 $\mu\text{mol/L}$ 阿托伐他汀不改变正常状态下的 I_{NaL} ,却可抑制缺血状态下 I_{NaL} 的异常增大。

关键词 模拟缺血;晚钠电流;阿托伐他汀;膜片钳

中图分类号 R331.3*8

文献标志码 A

Effects of atorvastatin on late sodium current in ventricular myocytes in rats suffering from simulated ischemia

LI Xiao-long, WAN Zheng

(Department of Cardiology, General Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China)

Abstract **Objective:** To observe the changes of late sodium current (I_{NaL}) in left ventricular myocytes in rats suffering simulated ischemia at different time points and the effect of atorvastatin on that process. **Methods:** Left ventricular myocytes were isolated from forty wistar rats and randomly divided into normal group, ischemia group, normal-statin group and ischemia-statin group. Firstly, baseline I_{NaL} of all cells were recorded by whole-cell patch clamp. Secondly, cells were perfused for 3 min. Finally, I_{NaL} was recorded once every 2 min. The recording time was totally 10 min. The changes of I_{NaL} were observed. I/I_{max} was calculated as the standardized value of I_{NaL} . Standardized values of I_{NaL} of four groups were compared. **Results:** At the testing potential of -40 mV, (1) normal group, I_{NaL} of baseline and four time points was 1.082 ± 0.024 , 1.00 ± 0.36 , 0.92 ± 0.32 and 1.03 ± 0.38 , respectively; there was no significant difference between baseline and different time points ($P > 0.05$, respectively); (2) ischemia group, I_{NaL} of baseline was 1; I_{NaL} was increased during 3~7 min of simulated ischemia, reaching the peak at 3 min (1.79 ± 0.66); (3) normal-statin group, I_{NaL} of baseline and four time points was 1.088 ± 0.28 , 1.06 ± 0.23 , 1.03 ± 0.27 and 0.94 ± 0.19 , respectively; there was no significant difference between baseline and different time points ($P > 0.05$), respectively; (4) ischemia-statin group, compared with the baseline value, I_{NaL} at 3 min of simulated ischemia didn't change, I_{NaL} at 5 min reduced by 0.43 ± 0.31 ($P = 0.035$), I_{NaL} at 7 min reduced by 0.48 ± 0.37 ($P = 0.044$); (5) at 3 min of simulated ischemia: compared with normal group, I_{NaL} of ischemia group increased ($P = 0.001$); compared with ischemia group, I_{NaL} of ischemia-statin group decreased ($P = 0.004$), and there was no difference between normal group and ischemia-statin group ($P > 0.05$). **Conclusion:** I_{NaL} of ventricular myocytes increases in a time-dependent manner at the early stage of simulated ischemia (10 min), and 5 $\mu\text{mol/L}$ atorvastatin does not change I_{NaL} in normal state but could inhibit the abnormal increase of I_{NaL} in ischemic state.

Key words simulated ischemia; late sodium current; atorvastatin; patch clamp

临床上,急性冠脉综合征(acute coronary

syndrome, ACS)患者在缺血早期即可发生致死性室性心律失常^[1]。目前,他汀类药物作为治疗冠状动脉性心脏病的常用药,可减少室性心律失常的发生^[2-3],但机制尚未完全明确。在缺血动物模型中室性心律失常

作者简介 李小龙(1992-),男,硕士在读,研究方向:临床医学心血管内科专业与细胞电生理学;通信作者:万征,E-mail:wanzh@vip.126.com。

常的发生常伴随心室肌细胞晚钠电流(I_{NaL})增大^[4],而缺血介导的心律失常可被 I_{NaL} 抑制剂减轻^[5]。本实验室曾报道阿托伐他汀可抑制快钠电流(I_{NaF})异常增大,而在细胞水平上直接观察阿托伐他汀对 I_{NaL} 的研究尚罕见报道。本实验拟用膜片钳方法记录不同模拟缺血时间下大鼠左室心肌细胞 I_{NaL} 的变化规律及阿托伐他汀对该过程的作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物 Wistar大鼠40只,雄性,200~250 g,购于中国医学科学院放射医学研究所试验动物中心。

1.2 试剂和溶液 阿托伐他汀钙购于USP公司(批号:344423-98-9)。无钙台氏液(mmol/L):NaCl 137、KCl 5.4、MgCl₂ 1、NaH₂PO₄ 0.33、HEPES 10、Glucose 10,以NaOH将pH调至7.4。KB液(mmol/L):L-谷氨酸50、KCl 40、MgCl₂ 3、KH₂PO₄ 20、牛磺酸20、KOH 70、EGTA 0.5、HEPES 10、Glucose 10,以KOH将pH调至7.4。记录 I_{NaL} 的电极内液成份(mmol/L):CsCl 140、NaCl 10、EGTA 5、HEPES 5、Na₂ATP 5,以CsOH将pH调至7.3。记录 I_{NaL} 的正常电极外液(以下简称正常外液)成份(mmol/L):Choline-Cl 120、NaCl 25、CsOH 4、CaCl₂ 0.1、CoCl₂ 2、MgCl₂ 1、HEPES 10、Glucose 10,以CsOH将pH调至7.4。记录 I_{NaL} 的缺血电极外液(以下简称缺血外液):记录 I_{NaL} 的正常电极外液中去除葡萄糖,加入乳酸钠(20 mmol/L)后,将pH调至6.8,使用前通入氮气5 min。将阿托伐他汀钙3.023 mg分别溶于500 mL记录 I_{NaL} 的正常电极外液和500 mL记录 I_{NaL} 的缺血电极外液中即得到正常药液和缺血药液(阿托伐他汀浓度为5 μ mol/L)。酶解液:11 mg 胶原酶和13 mg BSA溶于40 mL无钙台式液。

1.3 主要仪器设备 AXON公司产MultiClamp 700B放大器、Diadata 1440A数模转换器和pClamp10数据分析软件;SUTTER公司产MP-285R微操作器和P-97水平微电极控制器;OLYMPUS公司产IX71研究型倒置荧光显微镜。

1.4 细胞分离 称重大鼠,腹腔注射肝素钙5000 IU/kg,10 min后腹腔注射水合氯醛40 mg/kg麻醉;开胸取心脏,于4℃充氧无钙台氏液中修剪;迅速将主动脉套扎在Langendorff灌流系统上;保持灌注压70 cm H₂O,恒温38.1℃,先以充氧无钙台氏液经主动脉根部灌流5 min,后以充氧酶解液循环灌流约30 min;待流速变快(约20 mL/min),心脏呈膨大松弛、外观橘红透明状时,停止灌流;在充氧KB液中将左室游离壁分为若干大小相当的心肌条(约10 mm×3 mm),在KB液中剪碎、吹打,使细胞散落;以200目滤网

过滤后,在冰冻KB液中静置2 h,以备电生理实验。

1.5 I_{NaL} 记录与实验分组 在室温(25℃)下将细胞置于正常外液中,用正常外液以3 mL/min的速度灌流3 min,冲净残留KB液及细胞碎屑。电极入液后补偿液接电位,进行高阻封接,待稳定1 min后补偿电极电容,负压吸引破膜以形成全细胞记录模式。再次稳定1 min后,进行膜电容和全细胞补偿,补偿串联电阻至75%,随机分组记录。实验共分4组,各组均先在正常外液中记录基线 I_{NaL} 作为对照,后依照不同实验要求,以灌流方式更换电极外液:(1)正常组灌流正常外液;(2)缺血组灌流缺血外液,使细胞进入模拟缺血状态;(3)正常-他汀组灌流正常药液,使细胞接受5 μ mol/L阿托伐他汀处理;(4)缺血-他汀组灌流缺血药液,使细胞进入模拟缺血状态同时接受5 μ mol/L阿托伐他汀处理。灌流3 min后继续记录 I_{NaL} ,每2 min记录1次,持续10 min,观察 I_{NaL} 随时间的变化规律。

1.6 I_{NaL} 的记录程序 钳制电位-90 mV,测试电位从-80 mV开始,阶跃5 mV,逐步去极化到+50 mV,脉宽62.5 ms,频率2.5 Hz。

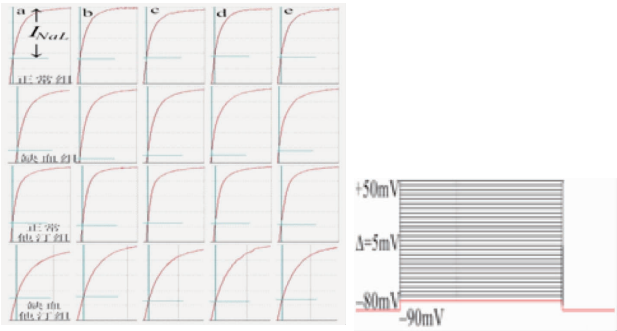
1.7 数据处理和统计学分析 对 I_{NaL} 进行标准化^[6],观察 I_{NaL} 标准化值的差异。实验数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用方差分析方法测定重复测量资料以观察时间依赖性及各组间差异, $P<0.05$ 表示差异有统计学显著性意义。

2 结果

I_{NaL} 的时间效应为单细胞 I_{NaL} 随时间变化,见图1,取-40 mV测试电压下的 I_{NaL} 标准化值进行分析。

2.1 组内比较 (1)正常组,基线状态和记录3、5、7、9 min等各个时间点的 I_{NaL} 之间并无差别(分别 $P>0.05$,表1);(2)缺血组,模拟缺血开始后, I_{NaL} 先增大后减小(图1):①模拟缺血3~7 min时, I_{NaL} 高于基线状态,并于3 min时达峰(表1);②模拟缺血9 min时的 I_{NaL} 和基线状态比较无差别(分别 $P>0.05$);(3)正常-他汀组,基线状态和各个记录时间点的 I_{NaL} 之间并无差别(分别 $P>0.05$);(4)缺血-他汀组,与基线状态相比, I_{NaL} 在模拟缺血5 min时减少 0.43 ± 0.31 ($P=0.035$),在模拟缺血7 min时减少 0.48 ± 0.37 ($P=0.044$)(表1)。

2.2 组间比较 各组间基线 I_{NaL} 并无差异,(1)与正常组相比,缺血组 I_{NaL} 在记录3~9 min内均增大(分别 $P<0.05$);(2)与正常组相比,正常-他汀组 I_{NaL} 在记录3~9 min内均未发生明显变化(分别 $P>0.05$);(3)与缺血组相比,缺血-他汀组 I_{NaL} 在记录3~7 min时减小(分别 $P<0.05$)(表1)。



a、b、c、d、e 分别代表基线和 3、5、7、9 min 时间点记录

图 1 单细胞 I_{NaL} 图

Fig1 Single cell I_{NaL} figure

表 1 各组在不同记录时间下的 I_{NaL} 标准化值($\bar{x}\pm s$)

Tab 1 The I_{NaL} standardized values of each group at different recording time($\bar{x}\pm s$)

组别	n	基线 状态	记录时间			
			3 min	5 min	7 min	9 min
正常组	7	1	0.82±0.24 ^Δ	1±0.36 [*]	0.92±0.32 ^Δ	1.03±0.38 [*]
缺血组	7	1	1.79±0.66 [#]	1.46±0.66 [#]	1.26±0.37 [#]	1.22±0.36
正常-他汀组	8	1	0.88±0.28 ^Δ	1.06±0.23 [*]	1.03±0.27 [*]	0.94±0.19 [*]
缺血-他汀组	6	1	0.83±0.46 ^Δ	0.72±0.45 ^{*#}	0.68±0.52 ^{*#}	0.74±0.52
P _{组间}			0.000	0.011	0.007	0.166

$F_{时间}=1.409$, $P_{时间}=0.265$; $F_{区组}=4.644$, $P_{区组}=0.011$; $F_{交互}=10.822$; $P_{交互}=0.000$ 0; 与缺血组相比, $*P<0.05$, $^{\Delta}P<0.01$; 与基线相比, $*P<0.05$

3 讨论

在正常组,各记录时间点 I_{NaL} 标准化值与基线相比无差别,说明正常状态下单细胞 I_{NaL} 不会随实验时间延长而发生明显变化。

由于 I_{NaL} 在缺血超早期存在时间依赖性变化^[8],为了观察 I_{NaL} 在缺血状态下是否也存在时间依赖性变化,本实验观察了缺血 10 min 内 I_{NaL} 的变化。又因缺血损伤的程度与缺血时间有关,为观察 I_{NaL} 的瞬间变化,将观察时间间隔设为 2 min。在模拟缺血 3 min 时, I_{NaL} 出现一过性增大并达峰。而在正常状态下 I_{NaL} 在 10 min 内保持不变,说明缺血是使 I_{NaL} 增大的唯一因素,这与文献报道相一致^[4]。 I_{NaL} 的增大可引起动作电位时程延长,容易引起早后除极而产生触发活动^[9];另一方面,由于缺血在时间和空间上的差异,可引起心肌动作电位 2 相复极离散度和各向异性增大^[10-11],从而形成折返发生的基础,因此 I_{NaL} 增大是缺血早期室性心律失常的重要原因之一。

I_{NaL} 增大是缺血状态引起心电活动异常变化的机制之一,而临床和基础研究均表明他汀类药物具有多效性作用,抑制心脏重构、抑制神经内分泌激活等,甚至直接影响心肌细胞膜离子通道功能,进而改善细胞生存环境、改善细胞电稳定性,从而

减少室性心律失常的发生^[7-9],有一定的抗心律失常作用,因此有必要研究 I_{NaL} 与他汀类药物作用之间的内在联系。本实验中,正常组和正常-他汀组 I_{NaL} 无差别,提示 5 $\mu\text{mol/L}$ 阿托伐他汀并未对 I_{NaL} 产生作用。而有研究报道,5 $\mu\text{mol/L}$ 阿托伐他汀可抑制大鼠左室心室肌细胞 I_{NaT} 和瞬时外向钾电流^[6,12]。临床上,阿托伐他汀的最大用量通常为 80 mg/d,而 2~10 $\mu\text{mol/L}$ 的浓度就相当于临床上 10~80 mg/d 的用药剂量。本文认为常规剂量阿托伐他汀不会对正常心肌细胞的 I_{NaL} 产生影响。而在缺血-他汀组中, I_{NaL} 在模拟缺血 3 min 时的一过性增大现象消失,说明 5 $\mu\text{mol/L}$ 阿托伐他汀可以抑制模拟缺血早期 I_{NaL} 异常增大,起到稳定细胞电活动的作用,进而有可能降低心律失常的触发阈值,减少其发生。本文结果表明阿托伐他汀的这一作用会对急性缺血心肌诱发的室性心律失常产生有益的抑制效应,从而可能减少不良心血管事件的发生。有研究显示,增强的 I_{NaL} 可使细胞内 Na^{+} 浓度增加,激活逆模式钠钙交换体,导致 Ca^{2+} 内流增加,引发心室肌细胞钙超载,可引起晚后除极、触发活动和尖端扭转性室性心律失常^[13-14]。而他汀类药物则可抑制缺血介导的氧化应激反应^[15-16],从而减少上述钙调控异常,进而抑制 I_{NaL} 异常增大带来的负面效应。近年来,有报道称他汀类可通过激活 PI3-kinase/Akt 信号通路拮抗上述缺血介导的心律失常,这或许能够成为探讨阿托伐他汀稳定 I_{NaL} 的途径之一^[17]。

参考文献:

[1] 王立祥,孟庆义,余涛. 2016 中国心肺复苏专家共识[J]. 中华危重病急救医学,2016,28(12):1059

[2] Ramasubbu K, Estep J, White D L, et al. Experimental and clinical basis for the use of statins in patients with ischemic and nonischemic cardiomyopathy[J]. J Am Coll Cardiol,2008,51(4):415

[3] Venturi E, Lindsay C, Lotteau S, et al. Simvastatin activates single skeletal RyR1 channels but exerts more complex regulation of the cardiac RyR2 isoform[J]. Br J Pharmacol, 2018, 175(6):938

[4] Undrovinas A I, Fleidervish I A, Makielski J C. Inward sodium current at resting potentials in single cardiac myocytes induced by the ischemic metabolite lysophosphatidylcholine[J]. Circ Res,1992, 71(5):1231

[5] Justo F, Fuller H, Nearing B D, et al. Inhibition of the cardiac late sodium current with eleclazine protects against ischemia-induced vulnerability to atrial fibrillation and reduces atrial and ventricular repolarization abnormalities in the absence and presence of concurrent adrenergic stimulation[J]. Heart Rhythm,2016,13(9):1860

[6] 李洪仕,万征,边波,等. 阿托伐他汀对大鼠左室心肌细胞瞬时钠通道电流的作用[J]. 中国心脏起搏与心电生理杂志,2009, 23(5):420

殖。p53 基因是一种调节细胞程序性死亡和细胞周期相关途径的关键调节因子,激活细胞周期检查点和促进细胞衰老,它已被认为是肿瘤抑制的主要参与者。p53 损失或失活促使异常细胞克隆扩增,导致基因组不稳定。高危型 HPV 的癌蛋白 E6 和 E7 通过干扰 p53 途径实现宫颈细胞转化和永生。YAP 通过调节 p53 活性来控制转录。已发现 YAP 与 p73 和 p63 通过 WW 结构域和 PPPY 结构相结合,p73 和 p63 为 p53 肿瘤抑制家族的新成员。此外,Xiao 等^[12]应用免疫组化的方法检测慢性炎症组、CIN 组、宫颈癌组 YAP 的表达,用 HPV 基因检测试剂盒检测各组 HPV 的感染率,结果表明,YAP 与 HPV 检测相结合,可以区别宫颈癌前病变和良性病变。

综上所述,本研究发现 YAP 可作为宫内上皮内瘤变和宫颈癌的预测标志物。联合检测 HPV 和 YAP 可以提高宫颈病变的诊断率,通过早期干预从而降低宫颈癌的患病率。

参考文献:

- [1] Parkin D M, Bray F, Ferlay J, et al. Estimating the world cancer burden: Globocan 2000[J]. *Int J Cancer*, 2001, 94(2):153
- [2] Martin-Hirsch P P, Paraskevaidis E, Bryant A, et al. Surgery for cervical intraepithelial neoplasia [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2013, 12:CD001318
- [3] Melsheimer P, Vinokurova S, Wentzensen N, et al. DNA aneuploidy and integration of human papillomavirus type 16 E6/E7 oncogenes in Intraepithelial neoplasia and invasive squamous cell carcinoma of the cervix uteri[J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(9):3059
- [4] Sudol M. Yes-associated protein (YAP65) is a proline-rich phosphoprotein that binds to the SH3 domain of the Yes proto-oncogene product[J]. *Oncogene*, 1994, 9(8):2145
- [5] Overholtzer M, Zhang J, Smolen G A, et al. Transforming properties of YAP, a candidate oncogene on the chromosome 11q22 amplicon[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(33):12405
- [6] Zhao B, Lei QY, Guan KL. The Hippo-YAP pathway: new connections between regulation of organ size and cancer[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2008, 20(6):638
- [7] Guo J, Kleeff J, Zhao Y, et al. Yes-associated protein (YAP65) in relation to Smad7 expression in human pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Int J Mol Med*, 2006, 17(5):761
- [8] Lam-Himlin D M, Daniels J A, Gayyed M F, et al. The hippo pathway in human upper gastrointestinal dysplasia and carcinoma: a novel oncogenic pathway[J]. *Int J Gastrointest Cancer*, 2006, 37(4):103
- [9] Zhao B, Wei X M, Li W Q, et al. Inactivation of YAP oncoprotein by the Hippo pathway is involved in cell contact inhibition and tissue growth control[J]. *Genes Dev*, 2007, 21(21):2747
- [10] Wang Y, Dong Q, Zhang Q, et al. Overexpression of yes-associated protein contributes to progression and poor prognosis of non-small-cell lung cancer[J]. *Cancer Sci*, 2010, 101(5):1279
- [11] Liu T B, Liu Y D, Gao H Y, et al. Clinical significance of yes-associated protein overexpression in cervical carcinoma: the differential effects based on histotypes[J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2013, 23(4):735
- [12] Xiao H, Wu L A, Zheng H X, et al. Expression of Yes-associated protein in cervical squamous epithelium lesions[J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2014, 24(9):1575

(2017-12-24 收稿)

(上接第 293 页)

- [7] Chadda K R, Jeevaratnam K, Lei M, et al. Sodium channel biophysics, late sodium current and genetic arrhythmic syndromes[J]. *Pflugers Arch*, 2017, 469(5/6):629
- [8] 李洪仕,边波,万征,等. 心室快钠电流在不同模拟缺血时间的变化及阿托伐他汀的作用[J]. *中国心脏起搏与心电生理杂志*, 2011, 25(1):61
- [9] Song Y, Shryock J C, Wu L, et al. Antagonism by ranolazine of the pro-arrhythmic effects of increasing late I_{Na} in guinea pig ventricular myocytes[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2004, 44(2):192
- [10] Antzelevitch C, Belardinelli L. The role of sodium channel current in modulating transmural dispersion of repolarization and arrhythmogenesis[J]. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2006, 17 Suppl 1:S79
- [11] Morita N, Lee J H, Xie Y, et al. Suppression of re-entrant and multifocal ventricular fibrillation by the late sodium current blocker ranolazine[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2011, 57(3):366
- [12] 赵青,李洪仕,万征,等. 阿托伐他汀对大鼠模拟缺血左室心肌细胞瞬时外向钾电流的作用[J]. *中国心脏起搏与心电生理杂志*, 2011, 25(5):426
- [13] Belardinelli L, Giles W R, Rajamani S, et al. Cardiac late Na⁽⁺⁾ current: proarrhythmic effects, roles in long QT syndromes, and pathological relationship to CaMKII and oxidative stress[J]. *Heart Rhythm*, 2015, 12(2):440
- [14] Wang X J, Wang L L, Fu C, et al. Ranolazine attenuates the enhanced reverse Na⁽⁺⁾-Ca⁽²⁺⁾ exchange current via inhibiting hypoxia-increased late sodium current in ventricular myocytes[J]. *J Pharmacol Sci*, 2014, 124(3):365
- [15] Liu C W, Yang F, Cheng S Z, et al. Rosuvastatin postconditioning protects isolated hearts against ischemia-reperfusion injury: The role of radical oxygen species, PI3K-Akt-GSK-3 β pathway, and mitochondrial permeability transition pore[J]. *Cardiovasc Ther*, 2017, 35(1):3
- [16] Wang F, Ma H, Liang W J, et al. Lovastatin upregulates microRNA-29b to reduce oxidative stress in rats with multiple cardiovascular risk factors[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(6):9021
- [17] Kisvari G, Kovacs M, Seprenyi G, et al. The activation of PI 3-kinase/Akt pathway is involved in the acute effects of simvastatin against ischaemia and reperfusion-induced arrhythmias in anaesthetised dogs[J]. *Eur J Pharmacol*, 2015, 769:185

(2018-01-16 收稿)