

· 基础研究 ·

电针对心肌缺血大鼠模型心肌 ATP 敏感钾通道及蛋白激酶 mRNA 表达的影响

王 巍 李记泉 孟祥宇 陈以国 荆 秦

摘要 目的 观察针刺不同经脉穴位对心肌缺血大鼠模型心肌细胞 ATP 敏感钾通道 (Kir6.1、Kir6.2) 及其结合蛋白 (SUR2A、SUR2B) 和蛋白激酶 (PKA、PKG、PKC β_2) mRNA 表达水平的影响。**方法** 健康雄性 SD 大鼠采用皮下多点位 (四肢内侧根部和背部) 注射 ISO (85 mg/kg) 制备心肌缺血模型后随机分成模型组、内关穴组、列缺穴组、非经非穴组 (每组 10 只), 另选择 10 只健康大鼠作为对照组。给予内关穴组、列缺穴组、非经非穴组大鼠相应电针干预, 采用疏密波, 强度 2~3 mA, 频率 2~20 Hz, 留针 20 min, 每日 1 次, 连续 7 日。应用 Real-time PCR 检测左心室肌 Kir6.1、Kir6.2 及 SUR2A、SUR2B、PKA、PKG、PKC β_2 mRNA 表达水平。**结果** 与对照组比较, 模型组各指标 mRNA 表达升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 内关穴组、列缺穴组各指标 mRNA 表达降低 ($P < 0.01$)。与内关穴组比较, 列缺穴组、非经非穴组各指标 mRNA 表达升高 ($P < 0.01$); 与列缺穴组比较, 非经非穴组各指标 mRNA 表达升高 ($P < 0.05$)。**结论** 电针内关穴可逆转缺血心肌细胞 ATP 敏感型钾通道 (Kir6.1、Kir6.2) 及其结合蛋白 (SUR2A、SUR2B) 与蛋白激酶 (PKA、PKG、PKC β_2) mRNA 表达的变化。

关键词 心肌缺血; ATP 敏感钾通道; 蛋白激酶; 电针; 内关穴

Effect of Electroacupuncture on ATP-sensitive Potassium Channel and Protein Kinase mRNA Expression in Myocardial Ischemia Model Rats WANG Wei, LI Ji-quan, MENG Xiang-yu, CHEN Yiguang, and JING Qin College of Acupuncture and Massage, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang (110847)

ABSTRACT Objective To observe the effect of electroacupuncture (EA) at different acupoints on mRNA expressions of ATP-sensitive potassium channel (Kir6.1, Kir6.2) and conjugated protein (SUR2A, SUR2B) and protein kinases (PKA, PKG and PKC β_2) in myocardial ischemia model rats. **Methods** Myocardial ischemia model was established in healthy male SD rats via subcutaneously injecting ISO (85 mg/kg) multipointedly (medial root of limbs and the back). Then they were randomly divided into 4 groups, i.e., the model group, Neiguan (PC6) group, Lieque (LU7) group, non-acupoint group, 10 in each group. Besides, another 10 healthy rats were recruited as the control group. Corresponding EA was performed at respective acupoints to rats in Neiguan (PC6) group, Lieque (LU7) group, non-acupoint group, with dense-sparse wave, 2–3 mA, 2–20 Hz, needle retaining time of 20 min, once per day for 7 successive days. mRNA expression levels of Kir6.1 and Kir6.2, SUR2A, SUR2B, PKA, PKG, and PKC β_2 in left ventricular myocardium were analyzed by Real-time PCR. **Results** Compared with the control group, mRNA expressions of each index increased in the model group ($P < 0.01$). Compared with the model group, mRNA expressions of each index significantly decreased in Neiguan (PC6) group and Lieque (LU7) group ($P < 0.01$). Compared with Neiguan (PC6) group, mRNA expressions of each index significantly increased in Lieque (LU7) group and non-acupoint group ($P < 0.01$). Compared with Lieque (LU7) group, mRNA expressions of each index significantly increased in non-acupoint group ($P < 0.05$).

基金项目:国家重点基础研究发展计划 973 资助项目 (No.2012CB518503)

作者单位:辽宁中医药大学针灸推拿学院 (沈阳 110847)

通讯作者:陈以国, Tel:024-31207134, E-mail:cyg@lnutcm.edu.cn

DOI: 10.7661/j.cjim.20170203.013

Conclusion EA at Neiguan (PC6) could reverse mRNA expression changes of ATP-sensitive potassium channel (Kir6.1 and Kir6.2) and conjugated proteins (SUR2A and SUR2B) and protein kinases (PKA, PKG, and PKC β_2).

KEYWORDS myocardial ischemia; ATP-sensitive potassium channel; protein kinase; electroacupuncture; Neiguan (PC6)

冠状动脉粥样硬化呈现年轻化的趋势,20~30 岁人群也出现心肌缺血的表现。研究提示,针刺内关穴抗心肌缺血疗效确切^[1-4]。关于针灸治疗心肌缺血的机制研究,在中枢神经系统、心血管活性物质、局部心肌组织调节以及抗氧自由基作用等方面^[5,6]取得一些成果,但是在分子生物学层面探索稍显不足。

心肌细胞钾(K⁺)通道在维持膜兴奋性、膜静息电位以及膜复极化速率等方面起着关键性的作用,并且与心肌细胞代谢密不可分。三磷酸腺苷敏感钾(ATP-sensitive potassium, K_{ATP})通道作为抗心肌缺血的药物作用靶点日益受到广泛关注^[7],然而关于针灸对其影响的研究尚缺乏报道。基于此,为观察电针内关穴对缺血心肌细胞 K_{ATP}通道 mRNA 表达的影响,笔者进行了以下研究。

材料与方 法

1 实验动物 健康雄性 SPF 级 SD 大鼠 72 只(3 月龄,辽宁长生生物技术有限公司,许可证号:SCXK2010-0001),体重(250±20)g。根据中华人民共和国科技部颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》^[8],饲养条件为室温(24±1)℃,湿度 50%,光照:黑暗 12 h:12 h,每笼 5 只,适应性喂养(自由摄取普通清洁级饲料和饮用矿泉水)7 日。

2 试剂及仪器 生理盐水(250 mL,吉林省广春药业有限公司,批号:B12050802);盐酸异丙肾上腺素(ISO,50 mg,美国 Sigma 公司,批号:I5627-5G);TRIZOL 试剂(美国 Invitrogen 公司,批号:51512101);戊巴比妥钠(25 g,北京博奥拓达科技有限公司,批号:P11011),引物合成(北京华大基因公司);Real-time PCR 试剂盒(大连宝 TaKaRa 生物公司)。6805-D 电针仪(汕头市医用设备有限公司);电子天平(BS223,北京赛多利斯仪器系统有限公司);华佗牌无菌针灸针(0.18 mm×25 mm,苏州医疗用品厂有限公司);BL-420S 生物机能实验系统(成都泰盟科技有限公司);-80℃超低温冰箱(日本 SANYO 电器集团);小型台式离心机(美国 Sigma,1-13);高速冷冻离心机(美国 Sigma,31k5 型);

PCR 扩增仪(德国 Biometra);Real-time PCR 扩增仪(美国 ABI,7500 型);紫外分光光度计(英国 UV-visible Spectrometer,UV300)。

3 模型制备 参照随机数字表随机抽取 10 只大鼠作为对照组,其余大鼠进行造模,持续 2 日。操作时间每天上午 8:30。采用 0.3% 戊巴比妥钠,按照 1 mL/100 g 剂量,即 30 mg/kg^[9],选择左下腹进行腹腔注射。在麻醉状态下,首先利用心电图机描记正常状态下大鼠心电图;然后,对照组大鼠采用皮下多点位(四肢内侧根部和背部)注射生理盐水(85 mg/kg),造模组采用皮下多点位(四肢内侧根部和背部)注射 ISO (85 mg/kg)^[10,11]。各组均注射 2 次,单次间隔 24 h。每次注射药物后,利用心电图机分别描记“即刻、5 min、10 min、15 min、20 min”时刻的心电图。确认造模成功的心电图变化是:T 波由正向变为负向或呈双相,并伴有 S-T 段抬高,QRS 波增宽,窦性心动过速,期前收缩或其他类型心律失常^[12,13]。将造模成功的 40 只(造模过程中死亡 22 只)大鼠按随机数字表分为模型组、内关穴组、列缺穴组、非经非穴组,每组 10 只。

4 干预方法 “内关穴”和“列缺穴”定位参照《实验针灸学》^[14]和《针灸学》^[15]中腧穴定位原则,同时比照解剖标志法和骨度分寸法。内关穴定位于前肢内侧,离腕关节约 3 mm 左右的尺桡骨缝间;列缺穴定位于前肢内侧,腕关节横纹桡侧上 2.5 mm;非经非穴点选取大鼠腹部神阙与天枢连线的中点。

造模成功后,每天上午 8:30 进行电针操作。在清醒状态下,将大鼠固定之后,对内关穴组、列缺穴组、非经非穴组大鼠分别给予相应穴位的电针处理,每日 1 次,连续针刺 7 日。处理方法为:毫针顺经 30°角斜刺入皮下 2~3 mm,采用疏密波,强度 2~3 mA,频率 2~20 Hz,以局部肌肉出现收缩为度,留针 20 min。对照组与模型组不施针刺,每天在同一时间、以同样方法进行抓取和固定。

5 检测指标及方法 针刺结束后各组大鼠于次日 8:30 在辽宁中医药大学实验中心取材。以戊巴比妥钠麻醉,采用断脊法处死各组大鼠;在无菌条件下,开胸、快速取出左心室,将心肌组织放入已消毒并编号的 EP 管中,加入 1 mL 的 TRIZOL 试剂,迅速用液氮冷

冻,即刻放入-80℃超低温冰箱保存。

5.1 一般状态 每日观察并记录大鼠的毛色、活动量、饮水量、二便、体重等情况,制备心肌缺血模型后密切观察大鼠一般状态。

5.2 基因检测

5.2.1 总 RNA 提取 提取大鼠左室心肌组织 0.1 g,根据 TRIzol 说明书采取一步法提取总 RNA,步骤为裂解、分层、RNA 沉淀、RNA 洗涤和 RNA 溶解。取 1 μL RNA 样本,加 79 μL DEPC 水,采用紫外分光光度计测 OD₂₆₀ 与 OD₂₈₀,二者比值为 1.8~2.0,提示样本中 RNA 纯度合格。RNA(μg/μL)浓度=OD₂₆₀×40×稀释倍数/1000,样品-80℃保存备用。参照 Gene Bank 序列,采用 Primer5.0 软件进行引物设计,设计 GAPDH 为内参基因(引物序列见表 1)。

表 1 引物序列		
基因	引物	片段长度(bp)
Kir6.1	F:5'-CAACCTGGCTCACAAGAAC-3'	147
	R:5'-CACCACATGATAGCGAAGA-3'	
Kir6.2	F:5'-TCCCCGAAAGGGCATTAT-3'	361
	R:5'-AAAGGAAGGCAGACGAAA-3'	
SUR2A	F:5'-GAGGGCGGTGACGAAT-3'	156
	R:5'-GCCAAGTAGCGGAACG-3'	
SUR2B	F:5'-GAGGGCGGTGACGAAT-3'	156
	R:5'-GCCAAGTAGCGGAACG-3'	
PKA	F:5'-AAGACCCCTTGGCACCG-3'	284
	R:5'-GGCTCACTGAACCTCCC-3'	
PKG	F:5'-CTTCTTCGCCAACCTG-3'	212
	R:5'-TGAAATCGGAATGAGCC-3'	
PKCβ ₂	F:5'-TTTGGAGTCCTGCTGTAT-3'	170
	R:5'-CGTTTGCCTGGGTGT-3'	
GAPDH	F:5'-CGTATCGGACGCCTGGTT-3'	124
	R:5'-CGTGGGTAGAGTCATACTGGAAC-3'	

5.2.2 RNA 逆转录 将提取的总 RNA 逆转录成 cDNA。反应条件:42℃、15 min,70℃、15 min。反应体系:RT-Mix 6 μL、TotalRNA 2 μL、Rnase Free dH₂O 2 μL。

5.2.3 Real-time PCR 按 PCR 扩增试剂盒说明书,扩增靶基因和内参基因。反应条件:95℃、10 min,1 个循环;95℃、15 s,60℃、1 min,40 个循环;

95℃、15 s,55℃、30 s,95℃、15 s,1 个循环。反应体系成分为 GoTaq qPCR Master Mix10 μL、PCR Forward Primer 0.4 μL、PCR Reverse Primer 0.4 μL、cDNA 模板 2 μL 和 Rnase Free dH₂O 7.2 μL。

5.2.4 结果分析 Real-time PCR 结果以 Ct 值表示,Ct 值为每个反应管内的荧光信号达到设定的阈值时所经历的循环数,Ct 值越大,表达量越低。根据计算公式:ΔΔCt 值=(靶基因 Ct 值-内参 Ct 值)处理组-(靶基因 Ct 值-内参 Ct 值)未处理组,用 2^{-ΔΔCt} 表示靶基因的表达相对于内参基因的改变倍数,即相对表达量^[16],进行统计学分析。

7 统计学方法 采用 SPSS 17.0 版统计软件分析。实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异比较用单因素方差分析,各组间均数两两比较采用 LSD 检验,P<0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1 大鼠一般状态 72 只大鼠在适应性喂养以及针刺过程中无死亡,对照组 10 只均存活,62 只接受造模大鼠死亡 22 只,存活率为 64.5%。实验期间对照组大鼠毛色光滑,反应敏捷,两目有神,较为活跃,饮食与二便正常,体重逐日增加。造模后:三个实验组大鼠毛色不光泽,反应呆滞,两目无神,懒动蜷曲,饮食欠佳,二便减少,体重减轻。针刺后:内关穴组与列缺穴组大鼠毛色逐渐光泽,活动量渐多,反应逐渐敏感,饮食与二便逐渐正常,体重增加,其中内关穴组改善更明显;非经非穴组大鼠治疗期间一般状态无明显改善。

2 各组大鼠心肌细胞 Kir6.1、Kir6.2、SUR2A、SUR2B、PKA、PKG 及 PKCβ₂ mRNA 表达比较(表 2) 与对照组比较,模型组各指标 mRNA 表达升高(P<0.01)。与模型组比较,内关穴组、列缺穴组各指标 mRNA 表达降低(P<0.01)。与内关穴组比较,列缺穴组、非经非穴组各指标 mRNA 表达升高(P<0.01)。与列缺穴组比较,非经非穴组各指标 mRNA 表达升高(P<0.05)。

表 2 各组大鼠心肌细胞 Kir6.1、Kir6.2、SUR2A、SUR2B、PKA、PKG 及 PKCβ ₂ mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)								
组别	n	Kir6.1	Kir6.2	SUR2A	SUR2B	PKA	PKG	PKCβ ₂
对照	10	0.98±0.14 [*]	0.96±0.12 [*]	1.24±0.31 [*]	0.19±0.04 [*]	0.65±0.09 [*]	0.73±0.14 [*]	1.39±0.15 [*]
模型	10	1.66±0.24	1.75±0.40	2.02±0.20	1.18±0.28	1.09±0.10	1.28±0.20	2.22±0.12 [*]
内关穴	10	1.20±0.13 [*]	1.24±0.21 [*]	1.51±0.22 [*]	0.58±0.13 [*]	0.79±0.09 [*]	0.89±0.14 [*]	1.64±0.17 [*]
列缺穴	10	1.40±0.20 ^{*△}	1.49±0.18 ^{*△}	1.72±0.24 ^{*△}	0.91±0.10 ^{*△}	0.95±0.16 ^{*△}	1.04±0.16 ^{*△}	1.87±0.20 ^{*△}
非经非穴	10	1.59±0.14 ^{△▲}	1.71±0.17 ^{△▲}	1.94±0.17 ^{△▲}	1.08±0.07 ^{△▲}	1.08±0.21 ^{△▲}	1.19±0.15 ^{△▲}	2.11±0.39 ^{△▲}

注:与模型组比较,*P<0.01;与内关穴组比较,△P<0.01;与列缺穴组比较,▲P<0.05

讨 论

心肌缺血属中医学“胸痹”的范畴。认为胸痹主要中医病机是心脉痹阻、心失所养^[17]。ISO 作用机制是增强心肌收缩力,加快心率,使心肌代谢旺盛,增加心肌耗氧量,造成心脏负荷过重;同时它还能使外周血管扩张,回心血量减少,冠脉流量减少^[18-20]。85 mg/kg 及以上剂量的 ISO 多用于诱导心肌缺血致心肌梗死、坏死、纤维化方面的研究,损伤多为不可逆性^[21]。因此,本实验通过大剂量(85 mg/kg)注射 ISO 而建立的大鼠心肌缺血模型与中医学“胸痹”的病机相符。

K_{ATP} 由 Noma A 于 1983 年在豚鼠心肌细胞中发现^[22],因其活性随细胞内 ATP 浓度的升高而被抑制,故得名 K_{ATP} 通道。研究证实 K_{ATP} 由内向整流钾通道(Kir)和 ATP 结合蛋白(ABC)两部分构成,Kir 形成离子通道,而 ABC 决定着 Kir 的功能^[23,24]。 K_{ATP} 就是由 Kir 和 SUR 按照 1:1 的比例,以四聚体模式构成的大异源多聚体(SUR/Kir6.X)^[24]。构成 K_{ATP} 的 ABC 主要是指磺酰脲类受体 SUR, SUR 是磺酰脲类药物的主要靶点,可以增强 Kir6.x 对 ATP 的敏感性,还能够使 K_{ATP} 的功能得以完整表达。在心肌细胞上, SUR 所表现的亚型主要是 SUR2 (SUR2A、SUR2B)。 K_{ATP} 主要功能是将细胞代谢和生物电活动联系起来,对心、脑等部位的缺血、缺氧预适应以及胰岛素分泌的调节等具有重要意义。 K_{ATP} 在生理状态下处于关闭状态,但在缺血时开放,对心肌缺血起到保护和预适应作用,被认为是心肌缺血的终末效应通道。有报道显示,大鼠缺血心肌细胞 Kir6.1、Kir6.2、SUR2A、SUR2B 基因表达明显升高,中成药冠心康干预后可明显增加各亚基基因的表达^[25]。

本研究显示,心肌缺血模型大鼠左心室肌 Kir6.1、Kir6.2、SUR2A、SUR2B mRNA 表达水平均上调。正常大鼠心室肌细胞 SUR2B 几乎不表达,与以往报道一致^[26]。针刺内关穴和列缺穴可降低缺血左心室肌已上调的 Kir6.1、Kir6.2、SUR2A、SUR2B mRNA 的表达,以内关穴疗效显著,表明电针内关穴后大鼠心肌缺血得到缓解。本研究结果与冠心康干预大鼠心肌缺血再灌注^[25]结果不同,可能与造模方法不同,造成心肌缺血、缺氧程度有差别相关。此外,针灸治病特点是依靠促进机体自身调节机能实现良性转归^[27],作用途径是经络,特异性循经取穴发挥了作用,与中药作用途径不同。

K_{ATP} 活性还受 PKA、PKC、PKG 等磷酸化的调

节。PKA 与 PKG 磷酸化可激活血管平滑肌细胞 K_{ATP} , PKC 可激活心肌细胞 K_{ATP} 。PKC 对心肌细胞 K_{ATP} 的作用与 APT 的浓度有关,呈浓度依赖性 S 形曲线:在较高浓度的 APT 时,PKC 激活心脏 K_{ATP} 通道;但在较低浓度的 ATP 时,PKC 反而抑制心脏 K_{ATP} ^[28]。报道指出,缺血再灌注大鼠模型组 PKC 蛋白的表达明显增高,针刺耳厥阴经穴后阳性表达率明显降低^[29]。本研究显示,心肌缺血模型大鼠左心室肌 PKA、PKG、PKC β_2 mRNA 表达水平均上调;电针干预后,内关穴和列缺穴可降低缺血左心室肌已上调的 PKA、PKG、PKC β_2 mRNA 的表达,而且以内关穴疗效显著,表明电针内关穴发挥了对心肌细胞的保护作用。

内关穴是手厥阴心包经的络穴,别走手少阳三焦经,是八脉交会穴之一,通于阴维脉。《难经·二十九难》曰:“阴维为病苦心痛。”^[30]内关穴的特性决定了它是治疗心痛病证的首选穴。列缺穴是手太阴肺经的络穴,是八脉交会穴之一,通于任脉,不与心脏直接联系,有调理肺气之功。本研究显示内关穴组的疗效明显优于列缺穴组,且非经非穴点无疗效,此结果证实了中医针灸的循经特异性理论。

综上所述, Kir6.1、Kir6.2、SUR2A、SUR2B、PKA、PKG、PKC β_2 mRNA 的表达变化表明内关穴改善心肌缺血作用显著,是针刺抗心肌缺血的分子机制之一。本研究进一步证实了针刺耳厥阴心包经内关穴保护缺血心肌具有循经特异性。本研究立题基于心肌细胞生理活动中最常见的钾离子通道进行研究,以探讨针刺内关穴与心肌缺血之间的相关性。从分子生物学层面来讲,针刺干预心肌缺血的所涉及的离子通道还有很多,如钙离子等。该领域更深入而系统的研究,有待进一步探索。

参 考 文 献

- [1] 刁利红, 杨宗保, 周国祥, 等. 电针内关穴为主治疗无症状性心肌缺血疗效观察[J]. 中国针灸, 2011, 31(7): 591-594.
- [2] 王霭平, 潘怡静. 针灸治疗冠心病的临床和实验研究进展[J]. 中国中医急症, 2004, 13(9): 615-616.
- [3] Ballegaard S, Borg E, Karpatschof B, et al. Long-term effects of integrated rehabilitation in patients with advanced angina pectoris: a nonrandomized comparative study [J]. J Altern Complement Med, 2004, 10(5): 777-783.
- [4] Ballegaard S. Comments on the editorial ischemic heart disease and integrated rehabilitation [J]. Ugeskr Laeger, 2000, 162(37): 4948-4949.

- [5] 李容, 王友京. 针灸改善心肌缺血作用机理研究概况[J]. 中国针灸, 2002, 22(8): 566-569.
- [6] 曹建萍. 针灸治疗冠心病(心肌缺血)时对多种体液因素的良性调节作用[J]. 针刺研究, 2006, 31(3): 185-189.
- [7] 白纪红, 吕秋军. 抗心肌缺血药物的作用靶点[J]. 国际心血管病杂志, 2006, 33(2): 125-128.
- [8] 中华人民共和国科学技术部. 关于善待实验动物的指导性意见[OL]. http://www.most.gov.cn/fggw/zfwj/zfwj2006/200609/t20060930_54389.htm, 2006-9-30.
- [9] 梅福荣. 0.3% 戊巴比妥钠用于大鼠麻醉的方法[J]. 实验动物科学与管理, 2003, 20(3): 44-45.
- [10] Panda VS, N SR. Evaluation of cardioprotective activity of *Ginkgo biloba* and *Ocimum sanctum* in rodents[J]. Altern Med Rev, 2009, 14(2): 161-171.
- [11] Karthikeyan K, Bai BR, Devaraj SN. Efficacy of grape seed proanthocyanidins on cardioprotection during isoproterenol-induced myocardial injury in rats[J]. Cardiovasc Pharmacol, 2009, 53(2): 109-115.
- [12] Nandave M, Ojha SK, Joshi S, et al. *Moringa oleifera* leaf extract prevents isoproterenol-induced myocardial damage in rats: evidence for an antioxidant, anti-peroxidative, and cardioprotective intervention[J]. J Med Food, 2009, 12(1): 47-55.
- [13] Coyal SN, Arora S, Sharma AK, et al. Preventive effect of crocin of *Crocus sativus* on hemodynamic biochemical histopathological and ultrastructural alterations in isoproterenol-induced cardiotoxicity in rats[J]. Phytomedicine, 2010, 17(3-4): 227-232.
- [14] 李忠仁主编. 实验针灸学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 255-257.
- [15] 石学敏主编. 针灸学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 82.
- [16] Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method[J]. Methods, 2001, 25(4): 402-408.
- [17] 周仲瑛主编. 中医内科学[M]. 第2版. 北京: 中国中医药出版社, 2008: 135-146.
- [18] Yuan J, Wu J, Hang ZG, et al. Role of peroxisome proliferator-activated receptor alpha activation in acute myocardial damage induced by isoproterenol in rats[J]. Chin Med J, 2008, 121(16): 1569-1573.
- [19] Devika PT, Stanely Mainzen Prince P. ⁽⁻⁾Epigallocatechin-gallate (EGCG) prevents mitochondrial damage in isoproterenol-induced cardiac toxicity in albino Wistar rats: a transmission electron microscopic and *in vitro* study[J]. Pharmacol Res, 2008, 57(5): 351-357.
- [20] Prabhu S, Narayan S, Devi CS. Mechanism of protective action of mangiferin on suppression of inflammatory response and lysosomal instability in rat model of myocardial infarction[J]. Phytother Res, 2009, 23(6): 756-760.
- [21] 张云, 王阶, 郭丽丽. 异丙肾上腺素诱导心肌缺血损伤模型的研究进展[J]. 医学综述, 2010, 16(23): 3527-3531.
- [22] Noma A. ATP-regulated K⁺ channels in cardiac muscle[J]. Nature, 1983, 305(5930): 147-148.
- [23] Inagaki N, Gonoi T, Clement JP, et al. Reconstitution of IATP: an inward rectifier subunit plus the sulfonylurea receptor[J]. Science, 1995, 270(5239): 1166-1170.
- [24] Yokoshiki H, Sunagawa M, Seki T, et al. ATP-sensitive K⁺ channels in pancreatic, cardiac and vascular smooth muscle cells[J]. Am J Physiol, 1998, 274(Pt 1): C25-C37.
- [25] 陈富荣, 张娜, 刘萍, 等. 冠心康对大鼠缺血心肌细胞 ATP 敏感钾通道亚基 Kir6.1、Kir6.2、SUR2A 和 SUR2B 表达的影响[J]. 中西医结合学报, 2010, 8(5): 458-464.
- [26] Ren YJ, Tong XY, Wang XL. Expression of ATP sensitive potassium channels subunit in rat tissues[J]. Chin Pharmacol Bull, 2000, 16(2): 148-150.
- [27] 王华, 杜元灏主编. 针灸学[M]. 第3版. 北京: 中国中医药出版社, 2012: 211.
- [28] Rodrigo GC, Standen NB. ATP-sensitive potassium channels[J]. Curr Pharm Des, 2005, 11(15): 1915-1940.
- [29] 田岳凤, 王荣, 李雷勇, 等. 针刺手厥阴经穴对缺血再灌注损伤心肌细胞蛋白激酶 C 表达的影响[J]. 中医杂志, 2007, 48(8): 713-715.
- [30] 黄元御. 黄元御医学全书[M]. 太原: 山西科学技术出版社, 2010: 236.

(收稿: 2015-09-04 修回: 2016-12-31)

责任编辑: 赵芳芳
英文责编: 张晶晶