

SAK - HV 蛋白通过上调 ABCG5/ABCG8 的表达降低胆固醇的吸收

袁敏 王旻 付文亮 蔡贵玲 徐东刚

摘要 目的 通过动物实验和体外细胞实验探讨 SAK - HV 蛋白降胆固醇的机制。**方法** 以 0.5mg/kg 浓度的 SAK - HV 蛋白治疗高脂喂养的 ApoE^{-/-} C57 小鼠, 酶法检测 ApoE^{-/-} C57 小鼠血脂水平, 定量 PCR 法 (real - time quantitative PCR, qPCR) 和蛋白质印迹 (Western blot) 法检测小肠 ABCG5 和 ABCG8 mRNA 和蛋白的表达水平。100μg/ml 的 SAK - HV 蛋白作用 caco - 2 细胞不同时间后, NBD 胆固醇作为荧光探针检测 SAK - HV 蛋白对 caco - 2 细胞胆固醇吸收的影响, q - PCR 和 Western blot 法检测 SAK - HV 蛋白对 caco - 2 细胞 ABCG5 和 ABCG8 mRNA 和蛋白表达水平的影响。**结果** SAK - HV 蛋白可以降低高脂喂养的 ApoE^{-/-} C57 小鼠的血清胆固醇水平, 同时上调小肠 ABCG5 和 ABCG8 mRNA 和蛋白的表达水平。体外实验表明, SAK - HV 蛋白可以抑制 caco - 2 细胞胆固醇的吸收, 同时上调 ABCG5 和 ABCG8 mRNA 和蛋白的表达水平。**结论** SAK - HV 蛋白通过上调 ABCG5 和 ABCG8 的表达抑制小肠胆固醇的吸收从而降低血清胆固醇水平。

关键词 SAK - HV 蛋白 ABCG5 ABCG8 小肠 胆固醇吸收

中图分类号 R972

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.07.006

SAK - HV Protein Inhibits Cholesterol Absorption through Up - regulation of ABCG5/ABCG8 Expression. Yuan Min, Wang Min, Fu Wenliang, et al. Institute of Basic Medical Sciences, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China

Abstract Objective To explore the mechanisms through that SAK - HV protein reduces cholesterol level. **Methods** We administrated high fat fed ApoE^{-/-} C57 mice with SAK - HV protein of 0.5mg/kg concentration. Blood lipid levels were analysed in enzymic method. qPCR and Western blot were used to evaluate the expression of ABCG5 and ABCG8 in the small intestinal. To see whether the cholesterol absorption in the caco - 2, cells was inhibited by SAK - HV protein. We pretreated the cells with SAK - HV protein of 100μg/ml concentration at different time followed by examination of the changes of cholesterol absorption in these SAK - HV - treated cells. Finally we determined whether SAK - HV protein affects the expression of ABCG5 and ABCG8 by both Western blot analysis and qPCR quantification. **Results** SAK - HV protein can reduce serum cholesterol levels of high fat fed ApoE^{-/-} C57 mice and up - regulate the expression of ABCG5 and ABCG8 at both mRNA and protein level in the small intestine. The SAK - HV protein can inhibit the absorption of cholesterol in caco - 2 cells and up - regulate the expression of ABCG5 and ABCG8 at both mRNA and protein level. **Conclusion** SAK - HV protein inhibits intestinal cholesterol absorption through up - regulation of ABCG5 and ABCG8 expression.

Key words SAK - HV protein; ABCG5; ABCG8; Small intestine; Cholesterol absorption

胆固醇是哺乳动物细胞膜的重要组成部分, 其在细胞内物质转运, 胚胎的发育, 细胞的分化等生理过程中发挥着重要作用, 但细胞内胆固醇水平升高会破坏细胞膜的结构并促进细胞凋亡。另外, 过高的胆固醇水平会诱发多种疾病, 如动脉粥样硬化和冠心病等, 同时高脂血症也是阿尔茨海默病早期病变的致病

因素^[1~4]。

机体主要通过胆固醇的合成, 小肠的吸收, 胆汁和粪便的排泄维持胆固醇的动态平衡。研究表明人类小肠胆固醇的吸收率高达 29% ~ 80%, 尽管这种吸收能力受遗传因素的影响, 但无疑小肠对胆固醇的吸收对于维持体内胆固醇的稳态作用重大^[5]。转运蛋白 ABCG5/ABCG8 [ATP - binding cassette (ABC) transporters G5/G8, ABCG5/ABCG8] 是 ATP 结合转运蛋白 G 亚家族 (ATP - binding cassette transporters subfamily G) 的成员, 它们以二聚体形式形成跨膜蛋白发挥其生理作用, 其主要功能是抑制小肠对胆固醇的吸收^[6,7]。

基金项目: 国家科技重大专项新药创制课题(2012ZX09102301 - 017); 重大新药创制生物技术大平台(2012zx09301003 - 001 - 005 - 026)

作者单位: 100850 北京, 中国人民解放军军事医学科学院基础医学研究所(袁敏、王旻、付文亮、蔡贵玲、徐东刚); 100094 北京, 中国航天员科研训练中心(袁敏)

通讯作者: 徐东刚, 电子信箱: xudg@nic.bmi.ac.cn

SAK - HV 蛋白是由本实验室构建的一种多功能融合蛋白,其分子结构包含 SAK 分子、RGD 序列以及一个 12 个氨基酸残基的凝血酶结合域^[8]。在药效学研究中笔者发现 SAK - HV 蛋白可以抑制动脉粥样硬化斑块的发展和血管内皮细胞的炎性反应,此外笔者发现其还可以降低动脉粥样硬化小鼠的血清胆固醇水平,但是其降胆固醇的机制尚不清楚。众多研究已经证明 ABCG5/ABCG8 二聚体蛋白可以抑制小肠胆固醇的吸收,是机体胆固醇代谢中的关键因子,因此本研究拟选择它们为切入点分析 SAK - HV 蛋白的降脂作用是否与 ABCG5/ABCG8 的表达水平存在关联,为阐明其作用机制奠定基础。

材料与方法

1. 动物及试剂:ApoE^{-/-} C57 小鼠(北京华府康生物科技有限公司,实验动物批号:11401300002735),C57 小鼠、高脂饲料(军事医学科学院实验动物中心),小鼠血脂检测试剂盒(南京建成生物公司),caco - 2 细胞(中国协和细胞库),胎牛血清(FBS)、MEM 培养基(Gibco 公司),NBD - cholesterol(Life Technology 公司),TRIzol(Invitrogen 公司),ABCG5 抗体(Santa Cruze 公司),ABCG8 抗体(Novus 公司)。

2. 动物模型的建立:24 只 16 周龄雄性 ApoE^{-/-} C57 小鼠,随机分为模型组($n = 12$)和 SAK - HV 蛋白给药组($n = 12$),同时选择 16 周龄雄性野生型 C57 小鼠作为正常组($n =$

12)。正常组 C57 小鼠普通饲料喂养,模型组和给药组 ApoE^{-/-} C57 小鼠高脂饲料(胆固醇 2%,猪大油 21%,基础饲料 77%)喂养 1 周后开始给药,给药组小鼠按照 0.5mg/kg 的剂量尾静脉注射给予 SAK - HV 蛋白,模型组尾静脉给予同等体积的生理盐水。连续给药 2 周后,戊巴比妥麻醉动物后摘除眼球取血,同时取小肠组织液氮保存直至提取 RNA 和蛋白。

3. 细胞培养:以含 10% 胎牛血清,1% 非必须氨基酸,1% 双抗的 MEM 培养基于 37°C,5% CO₂ 的培养箱中培养 caco - 2 细胞,待细胞 90% 融合后 0.05% 含 EDTA 的胰酶消化细胞传代,培养过程中每隔 2 天更换培养基 1 次。以 3×10^5 个细胞/每孔接种 caco - 2 细胞于 6 孔细胞培养板,待细胞生长 2~3 天后更换培养基以 100μg/ml SAK - HV 蛋白分别孵育细胞 0、3、6、12、24h,收集细胞提取 RNA 和蛋白。

4. 动物血清胆固醇检测:小鼠麻醉后摘除眼球取血,2500r/min 离心取血清后按照试剂盒说明书采用酶法检测小鼠血脂水平。

5. RNA 提取和 qPCR:使用 TRIzol 试剂提取组织和细胞总 RNA,使用 Thermo 公司的反转录试剂盒反转录得到 100ng/μl 的 cDNA。qPCR 使用 2 × SYBR Green PCR master mix(Thermo Scientific 公司),根据说明书使用 25μl 反应体系,qPCR 仪为 ABI7500,反应中所用引物由生工生物公司合成,具体序列见表 1,以 GAPDH 作为内参基因,以基因的相对表达量作为统计参数。

表 1 qPCR 中所用引物

基因	上游引物(5'→3')	下游引物(5'→3')
HGAPDH	GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT	GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG
HABCG5	CCCAAGGGACTCCGGGGTCA	GACCCATGGACCCTCCGGGG
HABCG8	AGCCGCCCTCTTGTTCATG	GAGTAACATTGGAGATGACATCCA
MGAPDH	TGACCTCAACTACATGGTCTACA	CTTCCCATTCTCGGCCTTG
MABCG5	CGCGAGACGTTGCGATACA	CTGCCAACATTTGGTCCCG
MABCG8	CTGTGGAATGGGACTGTACTTC	TGTTGTCACTTCCGAGGAGA

6. Western blot 法检测:使用 RIPA 裂解液提取组织和细胞总蛋白,Lorry 法测定蛋白浓度。蛋白样品经 12% SDS - PANG 凝胶电泳分离,通过蛋白质印迹法将蛋白转移至 0.25 μm 孔径的 PVDF 膜上。含 0.1% Tween20 的 Tris 缓冲溶液(TBST)配制 5% 脱脂奶粉,室温封闭 PVDF 膜 2h,按照抗体说明书要求用 5% 脱脂奶粉或 5% BSA 稀释一抗,4°C 孵育 PVDF 膜过夜,TBST 缓冲液洗膜 4 次,10 分钟/次,使用辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗室温旋转孵育 PVDF 膜 1h,TBST 缓冲液洗膜 4 次,10 分钟/次,加 ECL 底物后于暗室显影,以管家基因 GAPDH 作为内参。

7. 体外胆固醇吸收实验:NBD - cholesterol 为一种荧光标记的胆固醇替代物,被广泛应用于研究在体和离体胆固醇的吸收情况。根据文献报道,用无水乙醇溶解 NBD - cholesterol,配制成 2mg/ml NBD - cholesterol 储存液^[9]。caco - 2 细胞

接种于 6 孔细胞培养板,100μg/ml 的 SAK - HV 蛋白分别孵育细胞 0、3、6、12、24h 后更换新的不含血清的 MEM 培养基,以终浓度 100μmol/L 的 NBD - cholesterol 孵育细胞 2h 后用 MEM 培养基清洗细胞 3 次去除未结合的 NBD - cholesterol,荧光显微镜下观察细胞胆固醇的吸收情况。

8. 统计学方法:应用 SAS 9.2 统计软件进行统计学分析,实验数据以均值 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用成组设计 T 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. SAK - HV 蛋白降低高脂喂养 ApoE^{-/-} C57 小鼠的血清胆固醇水平:如图 1 所示,高脂喂养后模型组的总胆固醇、甘油三酯和低密度脂蛋白水平明显高于正常组($P < 0.05$),高密度脂蛋白(HDL)的变化无

统计学意义,说明高脂模型建立成功。SAK - HV 蛋白给药组血清总胆固醇(TC)水平较模型组显著降低

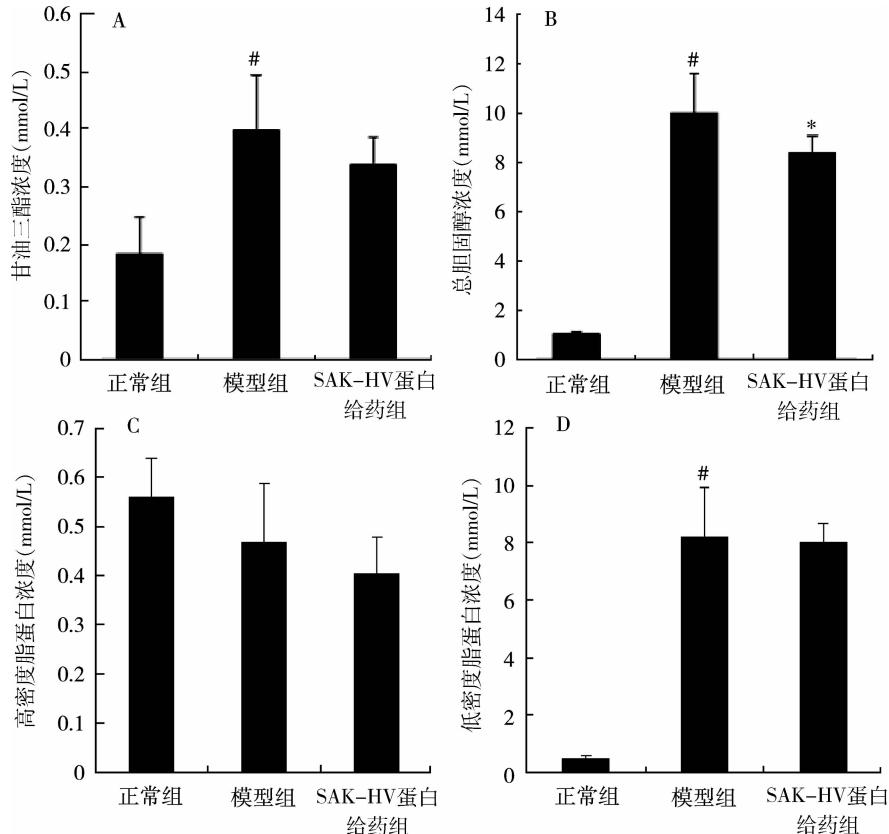


图 1 SAK - HV 蛋白对高脂喂养的 $\text{ApoE}^{-/-}$ C57 小鼠血脂水平的影响

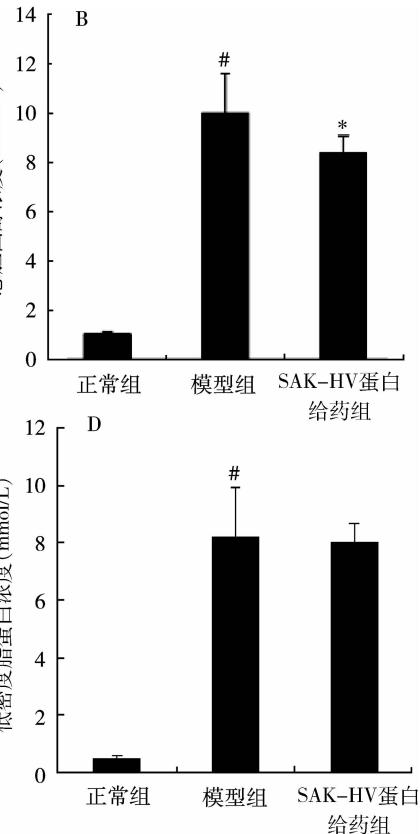
A. 各组甘油三酯浓度; B. 各组总胆固醇浓度; C. 各组高密度脂蛋白浓度;
D. 各组低密度脂蛋白浓度;与正常组比较, * $P < 0.05$;与模型组比较, * $P < 0.05$

2. SAK - HV 蛋白上调高脂喂养 $\text{ApoE}^{-/-}$ C57 小鼠小肠 ABCG5 和 ABCG8 的表达:笔者应用 qPCR 和 Western blot 法分别检测了小肠 ABCG5/ABCG8 mRNA 和蛋白的表达水平,结果如图 2 所示,SAK - HV 蛋白给药组小鼠小肠 ABCG5 和 ABCG8 mRNA 和蛋白的表达水平均明显上调。

3. SAK - HV 蛋白抑制 caco - 2 细胞胆固醇的吸收:使用荧光显微镜观察 SAK - HV 蛋白处理后 caco - 2 细胞胆固醇吸收情况,结果如图 3 所示,在 SAK - HV 蛋白作用 6h 时可以看到 caco - 2 细胞的胆固醇吸收降低,在作用 12h 时 caco - 2 细胞的胆固醇吸收明显降低。

4. SAK - HV 蛋白上调 caco - 2 细胞 ABCG5 和 ABCG8 的表达:通过 qPCR 和 Western blot 法检测了 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ SAK - HV 蛋白作用 caco - 2 细胞不同时间后 ABCG5/ABCG8 mRNA 和蛋白表达的变化,从图 4 可以看到,当 SAK - HV 蛋白作用 12h 时,ABCG5 和

($P < 0.05$),而其他血脂指标在给药后的变化差异无统计学意义($P > 0.05$)。



ABCG8 mRNA 的表达开始升高,在蛋白水平,当 SAK - HV 蛋白作用 3h 时已经看到 ABCG5 和 ABCG8 蛋白表达水平的升高。

讨 论

随着生活水平的提高,人们从饮食中摄取了过多的胆固醇,因此高胆固醇血症成为人们普遍面临健康问题,而由此引发的动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)和冠心病等心脑血管疾病已成为世界人口死亡的主要原因,因此近年来关于降胆固醇药物和抗动脉粥样硬化药物的研制已经成为医学研究的热点。

葡激酶(staphylokinase, SAK)的溶栓作用已经被人们所熟知,在临幊上作为溶栓药物使用。笔者所在实验室以 SAK 为骨架,增加了 RGD 序列和水蛭素 12 肽构建了新的融合蛋白 SAK - HV 蛋白,期望针对抗凝、抗炎和溶栓三方面实现抗 AS 作用。前期药效学研究发现,SAK - HV 蛋白除了可以抑制动脉粥样斑块的发展和血管内皮细胞的炎性反应外(数据未提

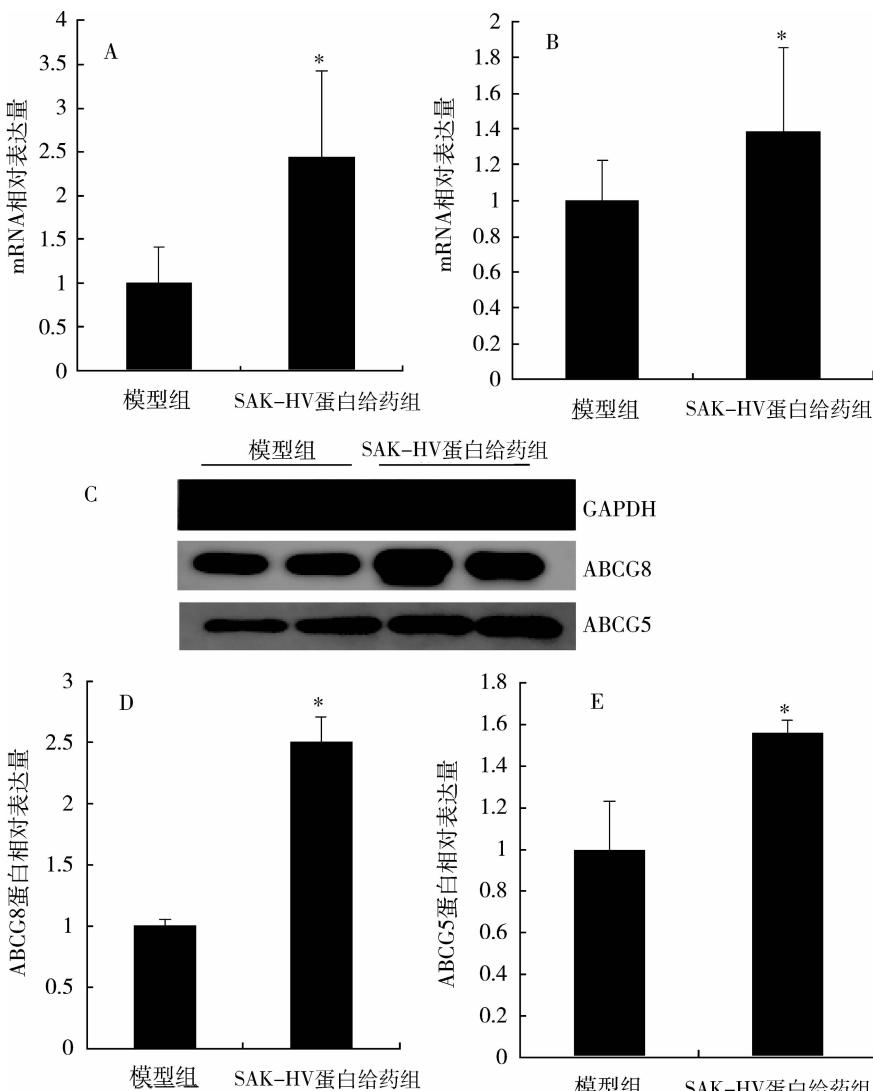


图 2 SAK - HV 蛋白对高脂喂养的 $\text{ApoE}^{-/-}$ C57 小鼠小肠 ABCG5 和 ABCG8 表达的影响

A. qPCR 检测 ABCG8 mRNA 表达的变化；B. qPCR 检测 ABCG5 mRNA 表达的变化；

C. Western blot 法检测 ABCG5 和 ABCG8 蛋白表达的变化；D、E. ABCG5 和 ABCG8 蛋白表达的光密度图；与模型组相比，* $P < 0.05$

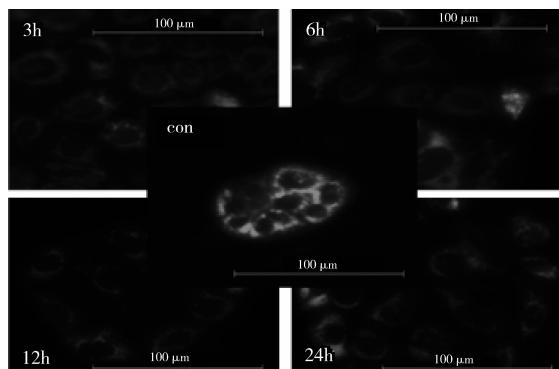


图 3 SAK - HV 蛋白对 caco - 2 细胞胆固醇吸收的影响

供), 还可以降低动脉粥样硬化小鼠的血清胆固醇水平, 但这一新功能的作用机制尚不清楚。由于小肠对

胆固醇的吸收是影响血清胆固醇水平的重要因素, 所以笔者选择 SAK - HV 蛋白是否通过抑制小肠胆固醇的吸收而降低血清胆固醇为切入点进行了深入研究。动物实验结果表明, 尾静脉给予 0.5mg/kg SAK - HV 蛋白 2 周后, 高脂喂养的 $\text{ApoE}^{-/-}$ C57 小鼠血清胆固醇水平较模型组明显降低, 说明 SAK - HV 蛋白可以降低高脂喂养的 $\text{ApoE}^{-/-}$ C57 小鼠血清胆固醇水平。同时笔者研究了 SAK - HV 蛋白对 caco - 2 细胞胆固醇吸收的影响, 结果表明 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的 SAK - HV 蛋白作用 caco - 2 细胞 6h 后即可观察到 caco - 2 细胞胆固醇吸收的降低, 作用 12h 后 caco - 2 细胞胆固醇吸收明显降低, 基于以上结果, 可以认为 SAK - HV 蛋白通过抑制小肠胆固醇的吸收降低血清胆固醇水平。

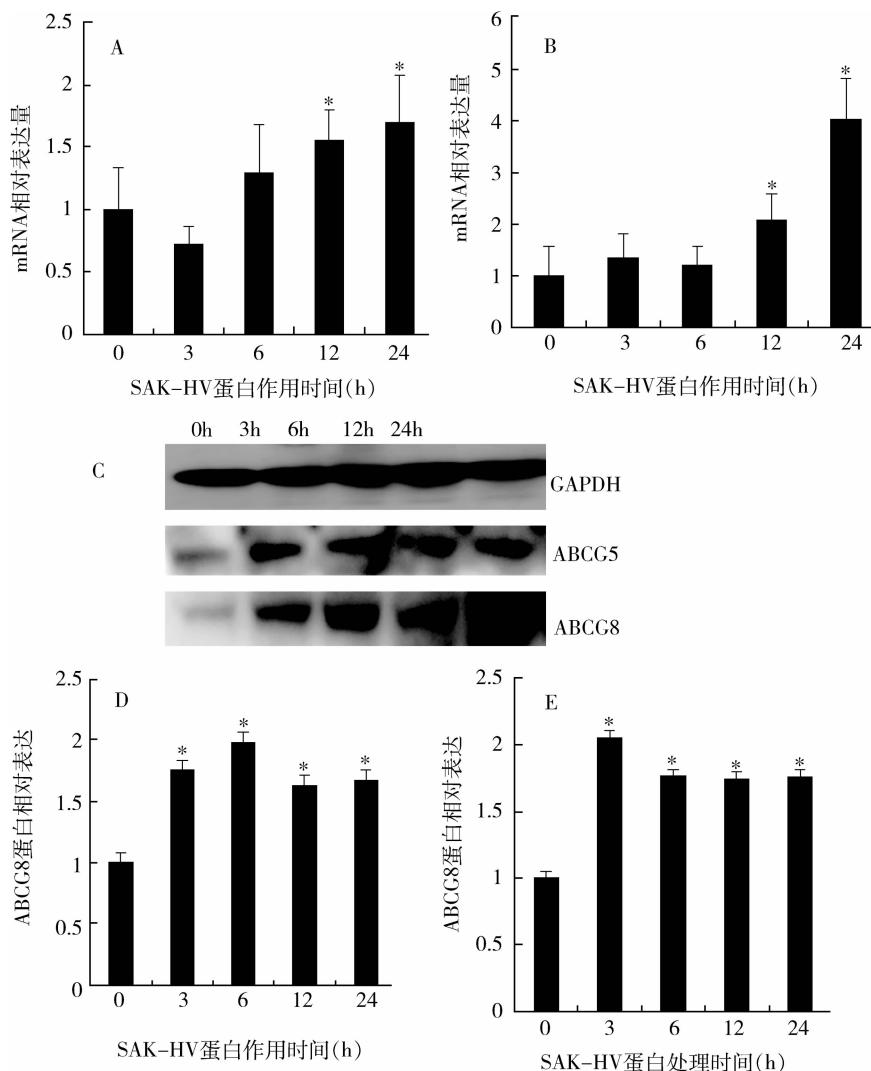


图 4 SAK - HV 蛋白对 caco - 2 细胞 ABCG5 和 ABCG8 表达的影响

A. qPCR 检测 ABCG8 mRNA 表达的变化；B. qPCR 检测 ABCG5 mRNA 表达的变化；C. Western blot 法检测 ABCG5 和 ABCG8 蛋白表达的变化；D、E. ABCG5 和 ABCG8 蛋白表达的光密度图；与 0h 相比较，^{*} $P < 0.05$

ABCG5/ABCG8 作为参与小肠胆固醇吸收的重要蛋白,已经有大量研究证明 ABCG5/ABCG8 表达的上调可以抑制小肠胆固醇的吸收,同时 ABCG5/ABCG8 的表达受多种因子的调节,大量研究证明转录因子肝 X 受体(liver X receptor, LXR)家族的 LXRx/β 可以上调小肠 ABCG5/ABCG8 的表达,miR - 200 家族的 miR - 200c 则可以显著抑制 ABCG5 的表达,此外转录因子 HNF4α (hepatocyte nuclear factor 4α) 和 GATA4 (GATA - binding protein4) 可以协同激活 HepG2 细胞 ABCG5/ABCG8 的表达^[10~14]。笔者研究结果表明,SAK - HV 蛋白可以上调高脂喂养的 ApoE^{-/-} C57 小鼠的小肠 ABCG5 和 ABCG8 的 mRNA 和蛋白的表达水平,在细胞水平,SAK - HV 蛋白同样

上调了 caco - 2 细胞 ABCG5 和 ABCG8 的 mRNA 和蛋白的表达水平,这些结果提示 SAK - HV 蛋白的降胆固醇的机制与 ABCG5 和 ABCG8 表达的上调密切相关。

结合动物实验和细胞实验的结果笔者认为 SAK - HV 蛋白通过上调 ABCG5 和 ABCG8 的表达抑制小肠胆固醇的吸收从而降低血清胆固醇水平。SAK - HV 蛋白是作为一种多靶点抗 AS 药物而构建表达的,除了预期的功能外,降胆固醇作用是我们在药效学研究中的重大发现,SAK - HV 蛋白是否通过作用于 ABCG5/ABCG8 上游的某个调节因子从而参与了 ABCG5/ABCG8 的调节,这是需要进一步深入研究的问题。目前还没有以 ABCG5/ABCG8

为靶点的降胆固醇药物上市,阐明 SAK - HV 蛋白的降胆固醇机制对于整个药物作用机制的阐明意义重大,同时对该药物后续的研发也具有重大意义。

参考文献

- 1 Barton M. Cholesterol and atherosclerosis: modulation by oestrogen [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2013, 24(3): 214–220
- 2 Kihara S. Dyslipidemia [J]. *Nihon Rinsho*, 2013, 71(2): 275–279
- 3 Wellington CL. Cholesterol at the crossroads: Alzheimer's disease and lipid metabolism [J]. *Clin Genet*, 2004, 66(1): 1–16
- 4 Lu K, Lee MH, Patel SB. Dietary cholesterol absorption; more than just bile [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2001, 12(7): 314–320
- 5 Bosner MS, Lange LG, Stenson WF, et al. Percent cholesterol absorption in normal women and men quantified with dual stable isotopic tracers and negative ion mass spectrometry [J]. *J Lipid Res*, 1999, 40(2): 302–308
- 6 Yu L, Li - Hawkins J, Hammer RE, et al. Overexpression of ABCG5 and ABCG8 promotes biliary cholesterol secretion and reduces fractional absorption of dietary cholesterol [J]. *J Clin Invest*, 2002, 110(5): 671–680
- 7 Duan LP, Wang HH, Wang DQ. Cholesterol absorption is mainly regulated by the jejunal and ileal ATP – binding cassette sterol efflux transporters Abcg5 and Abcg8 in mice [J]. *J Lipid Res*, 2004, 45(7): 1312–1323
- 8 Wang M, Wang YY, Wang JF, et al. Construction and characterization

of a novel staphylokinase variant with thrombin – inhibitor activity [J]. *Biotechnol Lett*, 2009, 31(12): 1923–1927

- 9 Leifert WR, Abeywardena MY. Grape seed and red wine polyphenol extracts inhibit cellular cholesterol uptake, cell proliferation, and 5 – lipoxygenase activity [J]. *Nutr Res*, 2008, 28(12): 842–850
- 10 Gonzalez – Granillo M, Steffensen KR, Granados O, et al. Soy protein isoflavones differentially regulate liver X receptor isoforms to modulate lipid metabolism and cholesterol transport in the liver and intestine in mice [J]. *Diabetologia*, 2012, 55(9): 2469–2478
- 11 Repa JJ, Berge KE, Pomajzl C, et al. Regulation of ATP – binding cassette sterol transporters ABCG5 and ABCG8 by the liver X receptors alpha and beta [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(21): 18793–18800
- 12 Yu L, York J, von Bergmann K, et al. Stimulation of cholesterol excretion by the liver X receptor agonist requires ATP – binding cassette transporters G5 and G8 [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(18): 15565–15570
- 13 Liu S, Tetzlaff MT, Cui R, et al. miR – 200c inhibits melanoma progression and drug resistance through down – regulation of BMI – 1 [J]. *Am J Pathol*, 2012, 181(5): 1823–1835
- 14 Sumi K, Tanaka T, Uchida A, et al. Cooperative interaction between hepatocyte nuclear factor 4 alpha and GATA transcription factors regulates ATP – binding cassette sterol transporters ABCG5 and ABCG8 [J]. *Mol Cell Biol*, 2007, 27(12): 4248–4260

(收稿日期:2014-11-28)

(修回日期:2014-12-11)

(上接第3页)

- 7 Tsuji Y, Hojo M, Voigt N, et al. Ca²⁺ – related signaling and protein phosphorylation abnormalities play central roles in a new experimental model of electrical storm [J]. *Circulation*, 2011, 123(20): 2192–2203
- 8 Eifling M, Razavi M, Massumi A. The evaluation and management of electrical storm [J]. *Texas Heart Institute Journal*, 2011, 38(2): 111–121
- 9 Brodine WN, Tung RT, Lee JK, et al. Effects of beta – blockers on implantable cardioverter defibrillator therapy and survival in the patients with ischemic cardiomyopathy (from the Multicenter Automatic Defibrillator Implantation Trial – II) [J]. *The American Journal of Cardiology*, 2005, 96(5): 691–695
- 10 Connolly SJ, Dorian P, Roberts RS, et al. Comparison of beta – blockers, amiodarone plus beta – blockers, or sotalol for prevention of shocks from implantable cardioverter defibrillators: the OPTIC Study: a randomized trial [J]. *JAMA*, 2006, 295(2): 165–171
- 11 Dorian P, Al – Khalidi HR, Hohnloser SH, et al. Azimilide reduces emergency department visits and hospitalizations in patients with an implantable cardioverter – defibrillator in a placebo – controlled clinical trial [J]. *Journal of the American College of Cardiology*, 2008, 52(13): 1076–1083

- 12 Pinter A, Akhtari S, O'Connell T, et al. Efficacy and safety of dofetilide in the treatment of frequent ventricular tachyarrhythmias after amiodarone intolerance or failure [J]. *Journal of the American College of Cardiology*, 2011, 57(3): 380–381
- 13 Frankel DS, Mountantonakis SE, Robinson MR, et al. Ventricular tachycardia ablation remains treatment of last resort in structural heart disease: argument for earlier intervention [J]. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*, 2011, 22(10): 1123–1128
- 14 Vaseghi M, Gima J, Kanaan C, et al. Cardiac sympathetic denervation in patients with refractory ventricular arrhythmias or electrical storm: intermediate and long – term follow – up [J]. *Heart Rhythm*, 2014, 11(3): 360–366
- 15 Gadhwala S, Sreedhar R, Unnikrishnan M, et al. Electrical storm: Role of stellate ganglion blockade and anesthetic implications of left cardiac sympathetic denervation [J]. *Indian Journal of Anaesthesia*, 2013, 57(4): 397–400
- 16 Garcia – Moran E, Sandin – Fuentes MG, Alvarez Lopez JC, et al. Electrical storm secondary to acute myocardial infarction and heart failure treated with left stellate ganglion block [J]. *Revista Espanola de Cardiologia*, 2013, 66(7): 595–597

(收稿日期:2015-03-20)

(修回日期:2015-03-24)