

血府逐瘀汤对冠心病血瘀模型家兔心室重构、心功能的影响

唐汉庆, 王金花, 赵善民, 黄俊杰, 莫小强, 王露瑶, 廉春容, 劳传君*

(右江民族医学院, 广西百色 533000)

[摘要] **目的:**观察血府逐瘀汤对冠心病血瘀模型家兔心室重构、心功能的影响并讨论其作用相关机制。**方法:**60只健康家兔随机分为对照组、假手术组、模型组、血府逐瘀汤低、中、高剂量组6组,每组10只。模型组采用左冠状动脉放置缩窄环方法,制备冠心病血瘀模型;假手术组开胸但不放置缩窄环;在模型组基础上,术后第12周起,每天早上8点血府逐瘀汤低、中、高剂量组分别按10,20,40 g·kg⁻¹ ig,1次/d,连续21 d。对照组、假手术组、模型组则ig等体积生理盐水。记录左心室舒张末期容积(LVEDV),左室收缩末期容积(LVESV),左心室舒张末期左室内径(LVDd),收缩末期左室内径(LVDs),每搏量(SV),左心室射血分数(LVEF),检测左心室质量指数(LVWI)、右心室质量指数(RVWI),RT-PCR法检测心肌细胞 α -肌球蛋白(α -MHC)mRNA, β -肌球蛋白(β -MHC)mRNA表达,ELISA法检测心房利尿钠肽(ANP)、血管紧张素II(Ang II)水平,细胞色素C还原试验检测还原型辅酶II(NADPH)氧化酶(NADPH oxidase)活性。**结果:**和对对照组比较,模型组Ang II水平显著升高($P < 0.01$),NADPH oxidase活性显著增高($P < 0.01$), α -MHC mRNA表达显著下降($P < 0.01$), β -MHC mRNA表达显著升高($P < 0.01$),同时,心功能指标LVEDV,LVESV,LVWI,RVWI均升高($P < 0.05$),LVDs,SV,LVEF显著下降($P < 0.01$)。和模型组比较,低剂量组ANP降低($P < 0.05$);中剂量组NADPH oxidase活性降低($P < 0.05$),Ang II,ANP均显著降低($P < 0.01$),高剂量组Ang II,NADPH oxidase活性,ANP均显著降低($P < 0.01$),同时,在低剂量组各心功能指标有改善,而以中剂量组、高剂量组心功能指标LVEDV,LVESV,LVWI,RVWI,LVDs,SV,LVEF改善明显($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。**结论:**血府逐瘀汤能恢复冠心病血瘀证Ang II分泌水平,推测其改善心功能和心室重构功效可能部分通过Ang II介导调节NADPH oxidase活性,ANP, α -MHC/ β -MHC水平而实现。

[关键词] 血府逐瘀汤;冠心病;血瘀证;血管紧张素II

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)16-0142-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014160142

Effects of Xuefu Zhuyu Decoction on Ventricular Remodeling and Cardiac Function in Rabbits with Coronary Heart Disease at Stage of Blood Stasis Syndrome

TANG Han-qing, WANG Jin-hua, ZHAO Shan-min, HUANG Jun-jie, MO Xiao-qiang,
WANG Lu-yao, LIAN Chun-rong, LAO Chuan-jun*

(Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effects of Xuefu Zhuyu decoction on ventricular remodeling and cardiac function in the rabbits with coronary heart disease at the stage of blood stasis syndrome and discuss its therapeutic mechanisms. **Method:** Sixty healthy rabbits were randomly divided into control group, sham-operation group, model group, and Xuefu Zhuyu decoction low-dose, middle-dose, high-dose groups six groups with ten rabbits in each group. Left coronary artery was implanted constrictor ring to establish the model of coronary heart disease at the stage of blood stasis syndrome. The sham-operation group was just opened the chest but not implanted

[收稿日期] 20131016(013)

[基金项目] 广西科学研究与技术开发计划(桂科攻1347003-4)

[第一作者] 唐汉庆,博士,副教授,从事中西医结合基础疾病机制研究,Tel:0776-2849479,E-mail:phdtanghanqing@163.com

[通讯作者] *劳传君,讲师,从事人体形态与结构功能研究,Tel:0776-2829792,E-mail:laochuanjun@qq.com

the constrictor ring. On the basis of the model group from the first day of the twelfth-week after operation, the low-dose, middle-dose, high-dose groups were respectively intragastric administrated (ig) with Xuefu Zhuyu decoction according to 10, 20, 40 g·kg⁻¹, once a day for continuous twenty-one days while the control group, the model group and the sham-operation group were ig the same volume normal saline, then to record left ventricular end diastolic volume (LVEDV), left ventricular end systolic volume (LVESV), left ventricular end diastolic diameter (LVDD), left ventricular end systolic diameter (LVDS), stroke volume (SV), left ventricular ejection fraction (LVEF), left ventricular weight index (LVWI), right ventricular weight index (RVWI). To examine the levels of atrial natriuretic peptide (ANP) and angiotensin II (Ang II) by ELISA and the expression of α -myosin heavy chain (α -MHC) mRNA and β -myosin heavy chain (β -MHC) mRNA by RT-PCR. To test nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase (NADPH oxidase) activity by revivification test of cytochrome C. **Result:** Compared with the control group, in the model group the levels of Ang II increased significantly ($P < 0.01$), NADPH oxidase activity increased significantly ($P < 0.01$), the expression of α -MHC mRNA reduced significantly ($P < 0.01$) while the expression of β -MHC mRNA increased significantly ($P < 0.01$), meantime, LVEDV, LVESV, LVWI and RVWI all increased ($P < 0.05$), LVDS, SV and LVEF all reduced significantly ($P < 0.01$). Compared with the model group, in the low-dose group the level of ANP reduced ($P < 0.05$). In the middle-dose group NADPH oxidase activity reduced ($P < 0.05$) and the levels of Ang II and ANP reduced significantly ($P < 0.01$). In the high-dose group NADPH oxidase activity, the levels of Ang II and ANP all reduced significantly ($P < 0.01$). LVEDV, LVESV, LVWI, RVWI, LVDS, SV and LVEF in both the middle-dose group and the high-dose group were improved significantly than those in the low-dose group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion:** Xuefu Zhuyu decoction could recover the level of Ang II in the rabbits with coronary heart disease at the stage of blood stasis syndrome and regulate NADPH oxidase activity, the levels of ANP, α -MHC and β -MHC by Ang II mediating, which might be the part of its therapeutic mechanisms.

[Key words] Xuefu Zhuyu decoction; coronary heart disease; blood stasis syndrome; angiotensin II

已有研究^[1]表明,肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)中血管紧张素II(Ang II)分泌水平升高引起的氧化应激及其介导的氧化损伤反应在冠心病(coronary heart disease, CHD)的发生发展、病理转归与预后中发挥关键作用。冠心病属于中医学“胸痹”、“心痛”或“真心痛”范畴,临床证型以痰浊、血瘀为主^[2],Ang II介导的内皮功能损伤在血瘀证的形成和发展中是个关键环节,不仅是临床预防与治疗冠心病的重要节点,也是中医活血化瘀药物治疗作用靶向节点之一^[3]。以往的研究集中于对Ang II及其介导的氧化应激损伤相关血管活性因子如活性氧簇(ROS)、内皮素(ET)、一氧化氮(NO)变化关系上,对于Ang II介导的冠心病血瘀证心室重构及心功能变化的研究并不多。血府逐瘀汤是具有活血化瘀功效的代表方剂,对其研究以往关注其对血液流变学的影响方面,本实验工作建立冠心病血瘀证家兔模型,采用血府逐瘀汤干预,观察与模型家兔心室重构及心功能变化密切相关的Ang II、还原型辅酶II(NADPH)氧化酶(NADPH oxidase)、心房尿钠肽(atrial natriuretic peptide, ANP)、心肌细胞 α -肌球蛋

白(α -MHC)mRNA、 β -肌球蛋白(β -MHC)mRNA表达的变化,为冠心病血瘀证治疗找到新的干预节点和血府逐瘀汤的扩大应用提供实验学依据。

1 材料

1.1 动物 健康家兔60只,雌雄各半,体重(2.6±0.3)kg,普通级,本院科学实验中心提供,动物合格证号SCXK(桂)2013-0004。

1.2 试剂和仪器 三氯甲烷(批号20110322),异丙醇(批号20100811),3%戊巴比妥钠(批号20100021),均为北京化学试剂公司,Ang II ELISA试剂盒(批号201323,上海聚力研究所),ANP ELISA试剂盒(批号BYP10930B,美国R&B公司),NADPH oxidase试剂盒(批号20120023,武汉博士德公司),Trizol(Gibcobl公司),M-MLV(Piomegan公司),Tag酶、DNAmark(北京博奥公司), α -MHC, β -MHC基因引物(Invitrogen公司)。AE160型电子天平(瑞士Mettler公司),小动物呼吸机(BIPAPSYNCHRONY,飞利浦),Vivid 7型彩色多普勒超声诊断仪(美国GE公司),AD340型酶标仪(美国Beckman Coulter公司),7900HT型PCR仪

(ABI 公司), Chemidoc XRS 型凝胶成像系统(美国伯乐), DU530 型紫外分光光度仪(Beckman 公司), Z360K 型台式高速低温离心机(Hermle, 德国)。

2 方法

2.1 动物分组和处理 适应性饲养 7 d 后,随机分成对照组、假手术组、模型组、血府逐瘀汤低、中、高剂量 6 组,每组 10 只。模型组造模方法参考文献[4-5],动物麻醉,辅助呼吸,左冠状动脉远端放置缩窄环,术后常规消毒抗炎,制备冠心病血瘀模型,假手术组开胸但不放置缩窄环。在模型组基础上,术后第 12 周起,每天早上 8 点血府逐瘀汤低、中、高剂量组分别按 10, 20, 40 g·kg⁻¹, ig, 1 次/d, 连续 21 d。对照组、假手术组、模型组则 ig 等体积生理盐水。家兔给药剂量的计算依据,参考文献[6]中药复方药动学研究中给药剂量标准进行折算,按汤剂折成平均临床等效剂量 20 g·kg⁻¹。

2.2 血府逐瘀汤制备 血府逐瘀汤由桃仁 70 g, 红花、当归、柴胡各 60 g, 地黄 50 g, 枳壳 40 g, 川芎、赤芍、桔梗、甘草各 30 g, 牛膝 20 g 组成,本院药理教研室提供并鉴定,先给予药物清水漂洗 2 次,加双蒸水 2 500 mL 浸泡 30 min 后煎煮 30 min,收集煎煮液,药渣再加水 1 000 mL 煎煮 20 min,合并两次滤液,水浴加热浓缩至含生药 2 g·mL⁻¹灭菌 4 ℃ 保存备用。

2.3 心室结构及心功能检测 采用多普勒彩色超声诊断仪(探头频率 2.5 MHz),测量左心室舒张末期容积(LVEDV),左心室收缩末期容积(LVESV),左心室舒张末期内径(LVDd)、收缩末期内径(LVDs),每搏量(SV),左心室射血分数(LVEF),所有数值均取 3 个心动周期均值。心室质量指数检测:分离左、右心室,分别称取左心室质量(LVW)、右心室质量(RVW),为排除家兔个体体质量差异影响,采用心室质量指数进行比较。左心室质量指数(LVWI) = 左心室质量(g)/体质量(kg)。右心室质量指数(RVWI) = 右心室质量(g)/体质量(kg)。

2.4 Ang II 检测 取静脉血 5 mL,加入 30 μL 10% EDTANa₂ 和 40 μL 抑肽酶,离心(4 ℃, 4 000 r·min⁻¹, 10 min)分离血浆, -20 ℃ 冻存。采用 ELISA 法检测,均严格按说明书操作进行检测。

2.5 NADPH oxidase 活性检测 细胞色素 C 还原试验测定,取心肌组织匀浆,提取总蛋白,稀释至 1 g·L⁻¹ 加入到 96 孔(200 μL/孔)板中,再加入 10 μL 浓度 500 μmol·L⁻¹ 细胞色素 C 和 20 μL 100 μmol·L⁻¹ NADPH oxidase,最后加入或不加入 20 μL

200 U·mL⁻¹ SOD,室温下反应 30 min,按照说明在酶标仪波长为 550 nm 处测定吸光度(A),根据加入与不加入 SOD 后 A 的差值换算 NADPH oxidase 活性。

2.6 ANP 检测 取 50 μL 心肌组织匀浆超声破碎,按照 ANP ELISA 试剂盒说明在酶标仪波长为 450 nm 处测定 A,根据样品的 A 在标准曲线上计算其浓度。

2.7 α-MHC mRNA, β-MHC mRNA 表达检测 RT-PCR 法检测,取 100 μL 心肌组织匀浆,用 Trizol 试剂提取总 RNA,三氯甲烷和异丙醇抽提。紫外分光光度仪和琼脂糖电泳鉴定 RNA 的浓度和纯度,取 10 μL 根据逆转录试剂盒说明逆转录合成 cDNA, -70 ℃ 冻存储存。α-MHC 和 β-MHC cDNA 具有高度的同源性,采用同一基因引物扩增,取 5 μL 逆转录产物进行 PCR 扩增反应。以 β-actin 为内对照。基因引物由 Invitrogen 公司设计合成。α-MHC, β-MHC 的 PCR 反应条件: 95 ℃ 预变性 3 min → 95 ℃ 变性 30 s → 60 ℃ 退火 35 s → 70 ℃ 延伸 40 s, 共 40 个循环,最后 70 ℃ 延伸 5 min。具体序列及扩增长度见表 1。

表 1 α-MHC, β-MHC, CNTF 引物序列及扩增长度

引物	引物序列(5'-3')	扩增长度 /bp
α-MHC/β-MHC	GGCAGACCATCAAGGACCGT	320
	CGTTGGCCCTGTTCCTCCGCGC	
β-actin	GTATGTACCAACTGGGACGATTGG	760
	CGATTGATCTTCATGTGCTGTCTGC	

将 PCR 扩增产物稀释到 60 μmol·L⁻¹,加 50 U 限制性内切酶 37 ℃ 消化 120 min,得到 α-MHC 和 β-MHC 的混合物,将混合物与 β-actin 同时在 2% 琼脂糖凝胶电泳,溴化乙啶染色,通过凝胶电泳分析系统读取目的基因灰度值。将目的基因灰度值与 β-actin 基因灰度值的比值作为目的基因 mRNA 的表达量,目的基因 mRNA 的表达量 = 目的基因灰度值/β-actin 基因灰度值。

2.8 统计学处理 数据统计采用 SPSS 13.0 软件。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间比较采用单因素方差分析,多重比较采用 q 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 心室结构及心功能检测 与对照组比较,模型组反映左室结构改变的重要指标 LVEDV, LVESV

均显著升高,差异有统计学意义($P < 0.01$),LVWI, RVWI 均升高,差异有统计学意义($P < 0.01$);反映心脏功能改变的重要指标 LVDs, SV, LVEF 显著下降,差异有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较,血府逐瘀汤低剂量组各项心室结构及心功能指标有改善,但差异没有统计学意义;中剂量组 LVESV, LVWI 下降($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),LVDs 升高($P < 0.05$);高剂量组 LVEDV, LVESV, LVWI, RVWI 均显著下降($P < 0.01$),LVDs, SV, LVEF 均显著升高($P < 0.01$)。与正常组比较,假手术组心室结构及

心功能各指标差异没有统计学意义。见表 2。

3.2 Ang II, NADPH oxidase 活性, ANP 检测 与对照组比较,模型组 Ang II, NADPH oxidase 活性, ANP 均显著升高,差异有统计学意义($P < 0.01$);与模型组比较,低剂量组 ANP 降低,差异有统计学意义($P < 0.05$);中剂量组 NADPH oxidase 活性降低, Ang II, ANP 均显著降低,差异有统计学意义($P < 0.01$)。高剂量组 Ang II, NADPH oxidase 活性, ANP 均显著降低,与模型组比较,差异有统计学意义($P < 0.01$)。见表 3。

表 2 血府逐瘀汤对冠心病血瘀模型家兔心室结构及心功能指标的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	LVEDV /mL	LVESV /mL	LVDd /mm	LVDs /mm	SV /mL·min ⁻¹	LVEF /%	LVWI /g·kg ⁻¹	RVWI /g·kg ⁻¹
对照	-	13.15 ± 2.36	9.26 ± 1.05	18.21 ± 1.65	13.74 ± 1.21	3.42 ± 1.32	0.73 ± 0.09	0.25 ± 0.06	0.22 ± 0.04
假手术	-	12.42 ± 2.33	9.56 ± 0.89	19.14 ± 1.55	14.14 ± 0.86	4.01 ± 1.02	0.66 ± 0.15	0.23 ± 0.08	0.24 ± 0.02
模型	-	24.31 ± 2.46 ²⁾	18.12 ± 1.78 ²⁾	12.23 ± 0.56	6.35 ± 0.86 ²⁾	1.36 ± 0.46 ²⁾	0.34 ± 0.13 ²⁾	0.36 ± 0.14 ²⁾	0.39 ± 0.23 ²⁾
血府逐瘀汤	10	21.02 ± 2.02	16.11 ± 1.2	14.23 ± 0.86	8.32 ± 1.21	1.96 ± 0.85	0.41 ± 0.17	0.31 ± 0.14	0.32 ± 0.06
	20	17.78 ± 2.56	10.35 ± 0.84 ⁴⁾	14.85 ± 0.59	10.56 ± 1.53 ³⁾	2.96 ± 1.24	0.58 ± 0.16	0.29 ± 0.12 ³⁾	0.31 ± 0.11
	40	14.02 ± 1.86 ⁴⁾	10.22 ± 0.75 ⁴⁾	18.21 ± 1.32	13.96 ± 1.69 ⁴⁾	4.05 ± 1.01 ⁴⁾	0.75 ± 0.06 ⁴⁾	0.23 ± 0.09 ⁴⁾	0.25 ± 0.08 ⁴⁾

注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表 3 同)。

3.3 α -MHC mRNA, β -MHC mRNA 相对表达检测 与对照组比较,模型组 α -MHC mRNA 表达显著下降,差异有统计学意义($P < 0.01$), β -MHC mRNA 表达显著升高,差异有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较,中剂量组、高剂量

组 α -MHC mRNA 表达均显著升高,差异有统计学意义($P < 0.01$), β -MHC mRNA 表达均显著下降,差异有统计学意义($P < 0.01$)。假手术组与对照组比较,各指标差异没有统计学意义。见表 3。

表 3 血府逐瘀汤对冠心病血瘀家兔血浆 Ang II, 心肌 NADPH oxidase 活性、心肌 ANP 水平及 α -MHC mRNA, β -MHC mRNA 相对表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	Ang II /ng·L ⁻¹	NADPH oxidase /nmol·mg ⁻¹	ANP /ng·L ⁻¹	α -MHC mRNA / β -actin	β -MHC mRNA / β -actin
对照	-	38.48 ± 8.36	6.83 ± 0.78	1.46 ± 0.92	8.11 ± 1.15	5.86 ± 0.56
假手术	-	40.56 ± 7.66	6.33 ± 0.59	1.82 ± 1.03	9.15 ± 1.06	6.32 ± 0.46
模型	-	66.15 ± 9.68 ²⁾	14.38 ± 1.21 ²⁾	5.01 ± 1.86 ²⁾	1.62 ± 0.54 ²⁾	11.09 ± 1.26 ²⁾
血府逐瘀汤	10	59.21 ± 5.11	11.08 ± 0.96	2.42 ± 1.21 ³⁾	2.02 ± 0.62	10.22 ± 0.32
	20	40.12 ± 7.63 ⁴⁾	8.18 ± 0.88 ³⁾	1.86 ± 0.92 ⁴⁾	5.45 ± 0.98 ⁴⁾	7.39 ± 0.62 ⁴⁾
	40	39.42 ± 9.83 ⁴⁾	7.11 ± 0.61 ⁴⁾	1.54 ± 0.88 ⁴⁾	8.16 ± 0.45 ⁴⁾	6.89 ± 0.25 ⁴⁾

4 讨论

Ang II 水平升高是心血管疾病的危险因素^[7], 使 NADPH oxidase 活性增高, ROS 等的产生^[8], 大量的 ROS 使 NO 失活, 通过抑制心肌 K⁺ 的去极化作用于 L 型慢 Ca²⁺ 通路^[9], 产生负性肌力作用, 使心泵作用削弱, 血液推动无力, 血流进一步缓慢, 血液循环出现障碍, 促进血瘀证的发展^[10], 因而 Ang II

在冠心病血瘀证心室重构及心功能变化中是一个标志分子^[11]。

NADPH oxidase 是心血管系统 ROS 产生的主要来源, 冠心病时 NADPH oxidase 表达和活性明显增强, 在心室重构中起重要作用^[12], α -MHC, β -MHC 是心肌细胞的收缩蛋白, 而且 α -MHC 的收缩能力比 β -MHC 强, 是心脏收缩的主要动力蛋白^[13],

α -MHC, β -MHC 的含量及比例可以反映心脏收缩能力^[14], Ang II 在调节 NADPH oxidase 以及 α -MHC, β -MHC 方面起关键作用^[15], ANP 作为左室肥厚标志物, 也处于 Ang II 的调节下, Ang II 水平升高会诱使 NADPH oxidase 活性增高, 从而使 ANP, β -MHC 表达上调, α -MHC 表达下降, 心肌收缩力减弱, 增加心肌间质纤维化的程度, 心肌细胞增生、肥厚, 心室重构。

在本实验工作中, 观察到和对照组比较, 模型组 Ang II 水平显著升高, NADPH oxidase 活性显著增高, α -MHC mRNA 表达显著下降, β -MHC mRNA 表达显著升高, 同时, 心功能指标 LVEDV, LVESV, LVWI, RVWI 均升高, LVDs, SV, LVEF 显著下降, 说明模型组心功能和心室收缩力出现异常, 提示 Ang II 在介导心室重构及心力衰竭的关键作用。此外, 和对照组比较, 模型组 ANP 显著升高, 推测 ANP 显著升高的原因可能还与机体的代偿机制有关。

血府逐瘀汤具有活血化瘀的功效, 为清代名医王清任所创, 方中当归、地黄、川芎、赤芍、桃仁、红花有活血养血功效, 柴胡、枳壳、牛膝等有活血祛瘀功效, 在本实验中观察到, 以血府逐瘀汤干预后, 和模型组比较, 低剂量组 ANP 降低; 中剂量组 NADPH oxidase 活性降低, Ang II, ANP 均显著降低, 高剂量组 Ang II, NADPH oxidase 活性, ANP 均显著降低, 接近或达到对照组水平, 同时, 在低剂量组各心功能指标有改善, 而以中剂量组、高剂量组心功能指标 LVEDV, LVESV, LVWI, RVWI, LVDs, SV, LVEF 改善明显, 说明血府逐瘀汤能恢复冠心病血瘀证 Ang II 分泌水平, 且和剂量有关, 推测其改善心功能和心室重构功效可能部分通过 Ang II 介导调节 NADPH oxidase 活性, ANP, α -MHC/ β -MHC 而实现, 提示在冠心病血瘀证早期对标志分子如 Ang II 等进行干预, 有可能取得防止冠心病血瘀证发展的较好效果。

[参考文献]

[1] Yao E H, Yu Y, Fukuda N. Oxidative stress on progenitor and stem cells in cardiovascular diseases[J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2006, 7(2):101.
[2] 周志奇, 李盈盈. 冠心病中医证型与血管病变的相关性研究[J]. *中医临床研究*, 2013, 5(20):121.
[3] 张明雪, 常艳鹏, 曹洪欣. 温阳活血中药复方调控冠心病(心)阳虚血瘀证大鼠血小板内受体、信号转导

的作用机制研究[J]. *中华中医药杂志*, 2008, 23(6):494.
[4] 刘涛, 王伟, 赵明镜, 等. 心肌缺血动物模型气虚血瘀证的评价[J]. *辽宁中医杂志*, 2007, 34(4):530.
[5] 王勇, 王思轩, 李春, 等. cTnT 与慢性心肌缺血血瘀证模型心功能相关性的实验研究[J]. *辽宁中医杂志*, 2011, 38(6):1234.
[6] 黄娟萍, 罗裕, 江力, 等. 中药药动学研究中给药剂量的现状分析[J]. *中国药理学杂志*, 2012, 47(21):1685.
[7] Imanishi T, Hano T, Nishio I. Angiotensin II accelerates endothelial progenitor cell senescence through induction of oxidative stress[J]. *J Hypertens*, 2005, 23(1):97.
[8] Quinn M T, Gauss K A. Structure and regulation of the neutrophil respiratory burst oxidase: comparison with nonphagocyte oxidases [J]. *J Leukoc Biol*, 2004, 76(4):760.
[9] Wolin M S, Ahmad M, Gupte S A. Oxidant and redox signaling in vascular oxygen sensing mechanisms; basic concepts, current controversies, and potential importance of cytosolic NADPH[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2005, 289(2):L159.
[10] 周仲瑛. 中医内科学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007:135.
[11] 巩琪, 栾杰. 活血化瘀法、预适应“第二窗口”抗氧化保护缺血心肌的相关性实验研究[J]. *中国中医急症*, 2008, 17(1):75.
[12] Nabeebaccus A, Zhang M, Shah A M. NADPH oxidases and cardiac remodeling [J]. *Heart Fail Rev*, 2011, 16(1):5.
[13] Buttrick P, Malhotra A, Factor S, et al. Effect of aging and hypertension on myosin biochemistry and gene expression in the rat heart [J]. *Circ Res*, 1991, 68(3):645.
[14] Sadoshima J, Jahn L, Takahashi T, et al. Molecular Characterization of the stretch-induced adaptation of cultured cardiac cells. An *in vitro* model of load-induced cardiac hypertrophy [J]. *J Biol Chem*, 1992, 267(15):10551.
[15] Hingtgen S D, Tian X, Yang J, et al. Nox2-containing NADPH oxidase and Akt activation play a key role in angiotensin II-induced cardiomyocyte hypertrophy[J]. *Physiol Genomics*, 2006, 26(3):180.

[责任编辑 聂淑琴]