

丹皮酚对急性心肌梗死大鼠 Smad2, Smad3, Smad7 mRNA 含量表达的影响

时召平, 周晓慧, 徐倩, 曹凯*

(承德医学院 中药研究所, 河北省中药研究与开发重点实验室, 河北 承德 067000)

[摘要] **目的:**研究丹皮酚对急性心肌梗死(AMI)大鼠进行性心室重构的保护作用及其对转化生长因子- β (TGF- β)/Smads 信号通路上 Smad2, Smad3, Smad7 mRNA 含量表达的影响。并探讨其延缓甚至逆转心室重构的分子机制。**方法:**采用左冠状前降支(LAD)结扎法制作在体大鼠急性心肌梗死模型,在心电图评价的基础上,将造模成功的大鼠随机分为模型组、丹皮酚低、中、高剂量组、卡托普利组,另有只穿线不结扎的假手术组,每组 10 只,共 6 组。丹皮酚低、中、高剂量组分别给予 ip 8, 12, 16 $mg \cdot kg^{-1}$ 剂量的丹皮酚注射液,假手术组与模型组每天 ip 等体积生理盐水,卡托普利组用蒸馏水稀释其片剂碾成的药粉,给予 ig 10 $mg \cdot kg^{-1}$,所有干预均 1 次/d;4 周后分别取材,测定各组大鼠心脏质量指数及梗死面积,采用实时荧光定量 RT-qPCR 技术检测各组心肌组织 Smad2, Smad3, Smad7 mRNA 的表达水平。**结果:**与模型组比较,丹皮酚低、中、高剂量组、卡托普利组大鼠心肌梗死面积明显减少 ($P < 0.05$),心脏质量指数降低 ($P < 0.05$);模型组 Smad2, Smad3 mRNA 的表达水平均明显高于假手术组 ($P < 0.01$), Smad7 的表达低于假手术组 ($P < 0.01$);丹皮酚各剂量干预组 Smad2, Smad3 mRNA 的表达明显低于模型组 ($P < 0.01$), Smad7 mRNA 的表达则明显强于模型组 ($P < 0.01$)。**结论:**丹皮酚有抗 AMI 大鼠心肌纤维化的作用,其机制与上调 TGF- β_1 抑制性信号蛋白 Smad7 的 mRNA 表达及下调 TGF- β 受体调控信号蛋白 Smad2, Smad3 的 mRNA 表达有关。即其作用机制可能与干预 TGF- β /Smads 信号转导有关。

[关键词] 丹皮酚; 急性心肌梗死; 心肌纤维化; 心室重构; TGF- β /Smads 信号通路

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)02-0146-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015020146

Effect of Paeonol on Smad2, Smad3, Smad7 mRNA Expression in Acute Myocardial Infarction Rat Heart

SHI Zhao-ping, ZHOU Xiao-hui, XU Qian, CAO Kai* (Key Laboratory of Study and Exploiture for New Drugs of Traditional Chinese Medicine (TCM); Institute of TCM Medica of Chengde Medical College, Chengde 067000, China)

[Abstract] **Objective:** To discuss the protective effect of paeonol on ventricular remodeling in acute myocardial infarction (AMI) rats and to investigate its influence on Smad2, Smad3, Smad7 mRNA expression of TGF- β /Smads signaling pathway. **Method:** *In vivo* model of AMI was made using the left anterior descending coronary branch ligation. The rats were randomly divided into the model group, the sham group, the low-, medium- and high-dose paeonol groups (8, 12, 16 $mg \cdot kg^{-1}$), and the captopril group (10 $mg \cdot kg^{-1}$) based on ECG evaluation. The heart weight index and infarct size were measure after 4 weeks. The mRNA expression levels of Smad2, Smad3, Smad7 in myocardial tissues were detected using real-time quantitative (RT-qPCR) technique. **Result:** Compared with the model group, the myocardial infarct size was significantly reduced ($P < 0.05$), the heart weight index decreased ($P < 0.05$) in all dose paeonol and captopril groups. Compared with the sham group, Smad2 and Smad3 mRNA expression levels were significantly higher, Smad7 expression level was lower in the model group ($P < 0.01$). While, Smad2 and Smad3 mRNA expression levels decreased significantly, Smad7 expression level increased significantly in all dose paeonol groups ($P < 0.01$). **Conclusion:** Paeonol has anti-myocardial fibrosis effect in AMI rats. Its mechanism may be related to increasing the Smad7 mRNA expression of

[收稿日期] 20140714(014)

[基金项目] 河北省自然科学基金项目(C2011406009);河北省卫生计生厅医学科学研究重点课题计划项目(20100137)

[第一作者] 时召平, 硕士, 从事心血管药理学科研研究, Tel: 13623246881, E-mail: 13623246881@163.com

[通讯作者] * 曹凯, 硕士, 教授, 从事生物化学教学与科研研究, Tel: 0314-2290999, E-mail: caokai58@163.com

TGF- β_1 inhibitory signaling protein, and down-regulating the Smad2 and Smad7 mRNA expressions of TGF- β receptor signaling protein.

[Key words] paeonol; myocardial infarction; myocardial fibrosis; ventricular remodeling; TGF- β /Smads signaling pathway

心室重构是急性心肌梗死(AMI)后心室发生结构与功能的改变,包括早期的梗死区伸展和晚期的整体心室扩张,是各种心脏病发展为心力衰竭过程中的共同环节。心肌纤维化(MF)是梗死后心室重构的重要内容之一,也是影响患者预后的关键因素^[1]。而转化生长因子- β (TGF- β)/Smads信号通路对MF的发生和发展起着关键性的作用。本课题组前期研究已证实丹皮酚对实验性AMI大鼠进行性心室重构具有显著的改善作用^[2]。但其是否经由TGF- β /Smads信号通路干预心室重构目前尚不明确,相关研究亦尚未见报道,本研究通过结扎冠状动脉法复制AMI大鼠模型,采用分子生物学技术手段,研究丹皮酚对TGF- β /Smads信号通路上与MF相关的Smad2, Smad3, Smad7 mRNA表达水平的影响,以期为临床上心血管疾病的防治提供新的思路和理论依据。

1 材料

1.1 动物 健康SPF级雄性SD大鼠,体重220~240 g,购自北京华阜康生物科技股份有限公司,合格证号SCXK(京)2009-0004。

1.2 药品与试剂 丹皮酚注射液(宁波天真制药有限公司,批号20110603),卡托普利片(北京亚宝生物药业有限公司,批号911090011),注射用青霉素钠(华北制药股份有限公司,批号D0909312),Trizol Reagent总RNA提取试剂盒(美国Invitrogen公司,批号47321),DEPC Treated Water(RNase free)(大连宝生物工程有限公司,批号AA102A),SYBR[®] Premix Ex Taq[™](Tli RNaseH Plus,大连宝生物工程有限公司,批号AK3604),PrimeScript[™] RT reagent Kit with gDNA Eraser(Perfect Real Time,大连宝生物工程有限公司,批号AK2004),6×Loading Buffer(大连宝生物工程有限公司,批号A5401A),600 bp DNA Marker(北京天根生化科技有限公司,批号k0228),其他试剂均为市售分析纯。

1.3 仪器 DW3000-B型小动物人工呼吸机(淮北正华生物科技有限公司),ECG-6511型心电图机(上海光电医用电子仪器有限公司),ABI 7300型Real-time PCR System(美国ABI公司),DU800型紫外-可见分光光度计(美国Ckman Coulter公司),

2K15型高速冷冻离心机(美国Sigma公司)。

2 方法

2.1 造模 根据相关文献^[3],采用左冠状动脉前降支(LAD)结扎的方法制备大鼠AMI模型。4%水合氯醛($3 \mu\text{L}\cdot\text{g}^{-1}$)麻醉,术区备皮,仰卧固定,以标准II导联监测其心电图,气管插管后缝线固定,消毒开胸,在左侧第3,4肋间处斜向剪开皮肤,逐层钝性分离肌肉至胸膜,于第4,5肋间距胸骨左缘约2 mm处打开胸壁,剪断第3,4肋,置入开胸器撑开肋骨,剪开心包膜,用无菌棉签推开左心耳,充分暴露心脏,轻压右侧胸壁挤出心脏,用无菌5~0号医用缝合线在肺动脉圆锥与左心耳之间距主动脉根部约5 mm处结扎左冠状动脉前降支,结扎深度约1~2 mm。撤除开胸器,将心脏迅速放回胸腔,用无针头注射器吸尽腹腔空气及少量瘀血,逐层缝合伤口,观察并记录结扎后10 min大鼠心电图,比较结扎前后心电图趋势,以心电图出现ST段抬高1/2以上、同时肉眼观察结扎区域心肌变白视为MI模型成功,逐层缝合关胸,待自主呼吸恢复后,拔掉气管插管并清理口腔内分泌物。假手术组绕过左冠状动脉打松结。余步骤同上,手术全程在恒温无菌下操作。

2.2 分组及给药 术后大鼠注射青霉素(每只40万U·d⁻¹,连续注射3 d)预防感染。适应性饲养3 d后将存活大鼠随机分为模型组、丹皮酚低剂量组(8 mg·kg⁻¹)、丹皮酚中剂量组(12 mg·kg⁻¹)、丹皮酚高剂量组(16 mg·kg⁻¹)、卡托普利组(10 mg·kg⁻¹)5组,连同假手术组共6组,每组10只,卡托普利片碾成粉末后用蒸馏水稀释,ig给药,丹皮酚ip给药,各给药组每天定时给予相应药物1次,连续给药4周。假手术组与模型组每天ip等体积生理盐水。

2.3 指标检测

2.3.1 心重指数及梗死面积测量 心重指数(HW/BW)=心脏湿重/体重($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)。参照Pfeffer等^[4]的方法,测量左室截面的内、外周长及瘢痕组织的内、外弧长,根据公式:梗死面积=[(瘢痕外弧长+瘢痕内弧长)/(左室截面外周长+左室截面内周长)]×100%,计算心肌梗死后瘢痕面积百分比。假手术组因无明显心梗范围,故未进行梗死面积比较。

2.3.2 总 RNA 的提取及质检 取 -80 °C 冻存的心肌组织标本置液氮中迅速磨碎,用 Trizol 进行提取,步骤参照说明书,每 100 mg 心肌组织加入 1 mL Trizol 试剂,1% 甲醛变性琼脂糖凝胶电泳鉴定 RNA 的完整性(图 1),紫外分光法确定总 RNA 的含量和纯度,测定样品 260,280 nm 处的吸光度(A),计算 A_{260}/A_{280} 吸收值及总 RNA 浓度并记录,选取该比值在 1.8 ~ 2.0 的总 RNA 进行逆转录实验。

2.3.3 Real-time qPCR 检测 Smad2, Smad3, Smad7 mRNA 表达 对提取的心肌组织总 RNA 进行逆转录合成,产物 cDNA 于 -20 °C 条件下储存备用。作为 RT-qPCR 反应模板,进行 RT-qPCR 反应对目的片段进行扩增,选用管家基因 β -actin 作为内参。逆转录及 PCR 扩增体系均按 RT-qPCR 试剂盒说明书操作,先进行 Smad2, Smad3, Smad7 mRNA 的 PCR 扩增,所有引物均由宝生物(大连)有限公司设计并

合成。引物信息见表 1, RT-qPCR 反应条件为: Stage1: 预变性 95 °C 30 s, 重复 1 次, Stage2: PCR 反应 95 °C 5 s, 退火温度按表 1 设定, 退火时间 30 s, 重复 40 个循环。每份样本平行设置 2 个复孔, 每组标本重复检测 5 次, 另外设立 β -actin 做内参对照, 由溶解曲线检测扩增产物的特异性, 2% 琼脂糖凝胶电泳观察扩增(图 2), 在紫外透射仪下观察并摄取图像, 取其循环阈值(C_t) 均值, 利用 RT-qPCR 测得的目的基因和参照基因的 C_t 值, 参照文献^[5] 将 C_t 值转化为相对倍数, 从而计算目的基因表达量: 采用 Comparative Delta-delta CT 法, 以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 作指标进行相对定量分析。实验组/对照组 = $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 进行计算, 表示样品目的基因初始 cDNA 相对表达量; 其中 $\Delta\Delta C_t$ = 心肌梗死组(靶基因 C_t - 内参 C_t) - 假手术组(靶基因 C_t - 内参 C_t)。不同组各基因相对内参的改变倍数 = $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 。

表 1 引物序列

Table 1 The sequence of primer

基因	序列	扩增长度/bp	退火温度/°C
Smad2	上游 5'-AAGCCATCACCCTCAGAAATTG-3'	100	53
	下游 5'-CACTGATCTACCGTATTTGCTGT-3'		
Smad3	上游 5'-TGGCTACCTGAGTGAAGATGG-3'	110	60
	下游 5'-AGTTATTGTGTGCTGGGACA-3'		
Smad7	上游 5'-CCAACTGCAGACTGTCCAGA-3'	106	62
	下游 5'-CAGGCTCCAGAAGAAGTTGG-3'		
β -actin(内参)	上游 5'-GAGAGGAAATCGTGCTGAC-3'	452	57
	下游 5'-CATCTGCTGGAAGGTGGACA-3'		

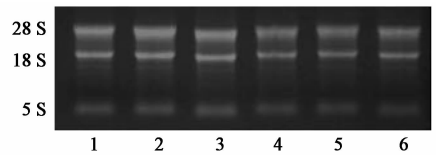
2.4 统计学分析 采用 SPSS 17.0 软件进行统计处理, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间计量资料比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 LSD 法多重比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对心重指数及梗死面积的影响 与假手术组比较, 模型组大鼠体重显著下降 ($P < 0.05$), 心脏湿重、心脏湿重/体重均明显升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 卡托普利组和丹皮酚各剂量给药组大鼠体重增加, 但差异无统计学意义, 心脏湿重、心脏湿重/体重明显降低 ($P < 0.05$), 梗死面积明显减小 ($P < 0.05$), 上述结果提示, 卡托普利和丹皮酚均有改善 AMI 大鼠心肌肥厚和减小梗死面积的作用, 结果见表 2。

3.2 琼脂糖凝胶电泳结果 28 S, 18 S 和 5 S 清晰, 且 28 S: 18 S \approx 2, 无明显拖带现象, 也无 DNA 和

蛋白污染情况。检测结果均表明提取的心肌组织总 RNA 质量较好, 结果如图 1。



1. 假手术组; 2. 模型组; 3. 丹皮酚 8 mg·kg⁻¹ 组; 4. 丹皮酚 12 mg·kg⁻¹ 组; 5. 丹皮酚 16 mg·kg⁻¹ 组; 6. 卡托普利 10 mg·kg⁻¹ 组

图 1 RNA 完整性电泳图

Fig. 1 Electrophoresis of RNA integrity

3.3 心肌组织 Smad2, Smad3, Smad7 mRNA 的表达 PCR 扩增产物经电泳后, 各个组分别于 100 bp (Smad2), 110 bp (Smad3), 106 bp (Smad7), 452 bp (β -actin) 见到扩增的条带, 结果如图 2, 与设计的引物相符合。与假手术组比较, 模型组 Smad2, Smad3 mRNA 表达显著增强 ($P < 0.01$), Smad7 mRNA 表

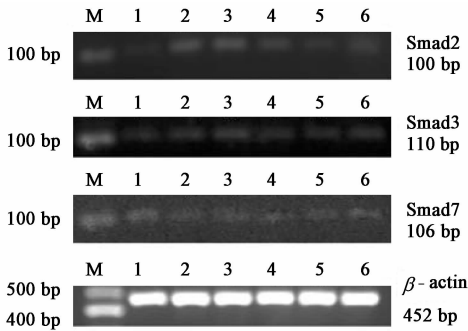
表 2 丹皮酚对大鼠心重指数及梗死面积的比较 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 2 Comparison of Paeonol to rat heart weight index and infarct size ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	体重/g	心脏湿重/g	心重指数/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	梗死面积/%
假手术	-	330.63 ± 20.18	1.06 ± 0.13	3.2 ± 0.3	-
模型	-	302.45 ± 19.24 ¹⁾	1.27 ± 0.18 ¹⁾	4.2 ± 0.3 ¹⁾	30.53 ± 3.82
丹皮酚	8.0	315.27 ± 19.37	1.24 ± 0.15 ²⁾	3.9 ± 0.2 ²⁾	23.41 ± 3.73 ²⁾
	12.0	310.36 ± 21.28	1.21 ± 0.13 ²⁾	3.9 ± 0.4 ²⁾	22.87 ± 4.13 ²⁾
	16.0	320.25 ± 21.26	1.18 ± 0.14 ²⁾	3.7 ± 0.3 ²⁾	22.75 ± 2.51 ²⁾
卡托普利	10.0	314.32 ± 19.13	1.20 ± 0.12 ²⁾	3.8 ± 0.2 ²⁾	22.49 ± 3.42 ²⁾

注:与假手术组比较¹⁾ $P < 0.05$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$ 。

达显著减弱 ($P < 0.01$);丹皮酚高、中、低剂量组和卡托普利组 Smad2, Smad3 mRNA 表达较模型组显著减弱 ($P < 0.01$), Smad7 mRNA 表达较模型组显著增强 ($P < 0.01$), 见表 3。



M. Marker; 1. 假手术组; 2. 模型组; 3. 丹皮酚 8 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组; 4. 丹皮酚 12 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组; 5. 丹皮酚 16 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组; 6. 卡托普利 10 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组

图 2 凝胶电泳观察

Fig. 2 Electrophoresis of Gel

表 3 丹皮酚对心肌组织 Smad2, Smad3, Smad7 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 3 Effects of paeonol on expression of Smad2, Smad3, Smad7 mRNA of myocardial tissue ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	Smad2/ β -actin	Smad3/ β -actin	Smad7/ β -actin
假手术	-	0.095 ± 0.012	0.086 ± 0.013	0.630 ± 0.024
模型	-	0.447 ± 0.024 ¹⁾	0.457 ± 0.023 ¹⁾	0.031 ± 0.016 ¹⁾
丹皮酚	8	0.342 ± 0.030 ²⁾	0.336 ± 0.015 ²⁾	0.253 ± 0.032 ²⁾
	12	0.324 ± 0.017 ²⁾	0.328 ± 0.024 ²⁾	0.374 ± 0.012 ²⁾
	16	0.317 ± 0.020 ²⁾	0.309 ± 0.023 ²⁾	0.429 ± 0.030 ²⁾
卡托普利	10	0.132 ± 0.014 ²⁾	0.264 ± 0.011 ²⁾	0.528 ± 0.014 ²⁾

注:与假手术组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.01$ 。

4 讨论

冠心病引发的心肌梗死发病率逐年升高, 目前已成为严重威胁人类健康, 病死率居首位的疾病

之一, 心肌梗死发生后, 心肌缺血性损伤, 局部甚至全身的神经激素系统被激活, 机体由此发生代偿性改变, 从而加速心肌细胞坏死、凋亡、心肌纤维化、心室重构的进程。因此, 阻止或逆转心肌纤维化, 将抑制心肌纤维化作为研究方向, 确定相关治疗靶点的研究工作目前已成热点。

急性心肌梗死后, 梗死区膨展、非梗死区心肌的反应性肥厚, 导致心脏质量参数和心室重构参数的改变, 因此, 心脏质量参数和心室重构参数以及梗死灶的大小是直接反映心肌梗死后心肌重塑的指标^[6]。本实验结果显示, 冠脉结扎 4 周后, 与假手术组比较, 模型组大鼠心脏质量参数、心室重构参数的改变均提示发生了心肌重塑, 与模型组比较, 丹皮酚各剂量组大鼠心脏质量参数、心室重构参数均不同程度降低, 提示心肌重塑状况有不同程度的缓解。本研究结果表明丹皮酚能够降低 AMI 大鼠的心肌重塑状况, 改善 AMI 大鼠的心功能。

心肌纤维化是心室重构的主要表现之一, 心肌纤维化以后心室壁僵硬增加、心室舒张功能进行性障碍、冠状动脉储备下降, 甚至引发猝死, 是导致心力衰竭的重要因素^[7]。心肌纤维化主要表现为细胞外基质合成与降解失衡, 间质中胶原纤维过量聚集、排列发生紊乱, 各型比例失调, 这些特征性的结构改变, 可导致心功能失调甚至心力衰竭。TGF- β_1 是最重要的促纤维化生长因子, 可诱导心肌成纤维细胞分化为肌成纤维细胞^[7]。活化的转化生长因子 β 可通过诱导的 Smads 蛋白的磷酸化而促进心肌成纤维细胞的转化和增殖^[7-8]。

多个研究表明, TGF- β_1 发挥作用的主要通路是 TGF- β_1 /Smads 信号转导通路, 对心肌纤维化的发生和发展起着关键性的作用。TGF- β_1 存在细胞表面和细胞基质中, 被激活后, 与 TGF- β I, II 型受体结合形成受体复合物, 并进一步使 T β R 丝/苏氨酸激酶

激活。而 Smads 蛋白是丝/苏氨酸激酶受体的下游信号分子,也是 TGF- β 受体胞内激酶的唯一底物,具有转录激活作用^[9]。TGF- β_1 主要通过 Smad 蛋白介导细胞内的信号传递,发挥生物学效应。研究还证实,Smad2 是传导 TGF- β_1 的主要信息分子,Smad2 在发生纤维化的心肌组织中的表达明显增加,具体过程为活化的 T β RI 分子使 Smad2, Smad3 分子磷酸化,磷酸化的 Smad2, Smad3 分子依次与 Smad4 形成复合物,复合物由胞浆转移到细胞核内,与转录因子相互作用并参与调控靶基因的转录,从而进一步促进心肌纤维化的发生、发展,与之相反,Smad 7 可与活化的 TGF- β_1 受体复合物特异并稳定地结合,阻断受体对 Smad2, Smad3 的磷酸化,从而抑制 TGF- β_1 诱导的靶基因的转录活化,即阻断 TGF- β_1 的生物效应,最终起到抑制心肌纤维化作用^[10]。

本研究实验结果证实,模型组大鼠非梗死区心肌中 Smad2, Smad3 mRNA 的表达明显增加,Smad7 mRNA 的表达明显减少,提示冠脉结扎 4 周后, TGF- β /Smads 信号传导通路中促纤维形成因子表达增强、抑制纤维形成因子减少。连续给予丹皮酚 4 周,与模型组比较,丹皮酚低、中、高剂量组均不同程度的抑制大鼠非梗死区心肌中 Smad2, Smad3 mRNA 的表达和增强 Smad7 mRNA 的表达,证实丹皮酚抑制心肌纤维化作用与其降低 TGF- β /Smads 促纤维形成因子及增强抑制纤维化形成因子密切相关。这和预期的结果一致,证实了 TGF- β_1 /Smads 信号传导通路参与了实验性 AMI 大鼠心室重构过程。提示该药物可能通过调控 Smad2, Smad3, Smad7 mRNA 的表达水平来干预实验性 AMI 大鼠心室重构的进程。本课题前期研究也发现 AMI 大鼠心肌 TGF- β_1 mRNA 表达水平显著高于正常对照组,而丹皮酚治疗组低于对照组,差异有显著性。说明 AMI 大鼠心室重构可能与 TGF- β_1 表达增强有关,而丹皮酚治疗可降低 TGF- β_1 的表达,从而减轻大鼠心室重构。

综上所述, TGF- β_1 /Smads 信号通路与心血管疾病的发生、发展密切相关。信号转导与疾病发生是当今生命科学研究的热点课题,更深层次上探讨疾病发生的分子机制,通过干预信号转导通路来防治疾病将会有良好的应用前景, TGF- β_1 /Smads 信号转导通路有望成为心血管疾病防治策略的潜在靶点,

是今后值得进一步探讨的新课题。

[参考文献]

- [1] Elias N, Tarasoutchi F, Spina G S, et al. Myocardial fibrosis and ventricular remodeling in severe chronic aortic regurgitation[J]. Arq Bras Cardiol, 2009, 92(1): 63-67.
- [2] 赵静怡, 张树峰, 徐倩, 等. 丹皮酚对大鼠急性心肌梗死后心室重构及心功能的影响[J]. 承德医学院学报, 2013, 30(3): 194-196.
- [3] Cheng K, Malliaras K, Shen D, et al. Intramyocardial injection of platelet gel promotes endogenous repair and augments cardiac function in rats with myocardial infarction [J]. Am Coll Cardiol, 2012, 59(3): 256-264.
- [4] 杨伟峰, 李贻奎, 杨斌, 等. 补肾活血方对大鼠心肌梗塞后心肌纤维化干预作用的实验研究[J]. 中国新药杂志, 2012, 21(15): 1792-1797.
- [5] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-Delta Delta C(T)} method[J]. Methods, 2001, 25(4): 402-408.
- [6] Kitayama J, Faraci F M, Gunneth C A, et al. Impairment of dilator responses of cerebral arterioles during diabetes mellitus: role of inducible NO synthase [J]. Stroke, 2006, 37: 2129-2133.
- [7] Hiyoshi H, Yayama K, Takano M, et al. Stimulation of cyclic GMP production via AT2 and B2 receptors in the pressure-overloaded aorta after banding [J]. Hypertension, 2004, 43(6): 1258-1263.
- [8] Li P, Wang D, Lucas J, et al. Atrial natriuretic peptide inhibits transforming growth factor beta-induced Smad signaling and myofibroblast transformation in mouse cardiac fibroblasts [J]. Circ Res, 2008, 102(2): 185-192.
- [9] Heldin C H, Landstrom M, Moustakas A. Mechanism of TGF- β signaling to growth arrest, apoptosis, and epithelial-mesenchymal Transition [J]. Curr Opin Cell Biol, 2009, 21(2): 166-176.
- [10] 陈蓉, 谢梅林. TGF- β /Smads 信号通路在心肌纤维化发生和治疗中应用前景的研究进展[J]. 中国药理学通报, 2012, 28(9): 1189-1192.

[责任编辑 周冰冰]