

基于 NF- κ B 信号通路参心麦和 颗粒治疗大鼠冠心病作用机制探讨

王玉凤, 王帅, 孟宪生*, 包永睿, 关姗姗

(辽宁中医药大学药学院, 辽宁省组分中药工程技术研究中心,
辽宁省现代中药研究工程实验室, 辽宁大连 116600)

[摘要] **目的:**在参心麦和颗粒治疗缺血再灌注损伤大鼠模型疗效的基础上,探讨参心麦和颗粒对心肌缺血损伤大鼠在核转录因子- κ B(NF- κ B)信号通路中的调控作用。**方法:**SD 大鼠 60 只大鼠,随机分成假手术组、模型组、地尔硫卓组(36 mg·kg⁻¹)、参心麦和颗粒低、中、高剂量(0.17,0.51,1.53 g·kg⁻¹)组,除假手术组外,其余各组造成缺血再灌注损伤模型,造模成功后,各给药组连续 ig 给予相应药物 7 d,每天 1 次;基于 NF- κ B 信号通路,采用 ELISA 检测大鼠血清白细胞介素-6(IL-6)和 IL-8 水平;采用 RT-PCR 法检测大鼠心肌组织 NF- κ B,肿瘤坏死因子- α (TNF- α),诱生型一氧化氮合成酶(iNOS),细胞间黏附分子(ICAM-1)和血管细胞黏附分子(VCAM-1)mRNA 表达水平;采用 Western blotting 法检测大鼠心肌组织血管内皮生长因子(VEGF),热休克蛋白(HSP 70)和环氧化酶-2(COX-2)蛋白表达水平。**结果:**与假手术组比较,模型组 IL-6 和 IL-8 含量明显升高($P < 0.01$),NF- κ B, TNF- α , iNOS, ICAM-1 和 VCAM-1 mRNA 表达明显升高($P < 0.01$),COX-2 蛋白表达明显升高($P < 0.01$),VEGF 和 HSP 70 蛋白表达明显降低($P < 0.01$);与模型组比较,参心麦和颗粒能显著降低 NF- κ B 信号通路中 IL-6 和 IL-8 含量($P < 0.01$),抑制 NF- κ B, TNF- α , iNOS, ICAM-1 和 VCAM-1 mRNA 的表达($P < 0.01$),抑制 COX-2 蛋白表达($P < 0.01$),促进 VEGF 和 HSP 70 蛋白表达($P < 0.01$)。**结论:**参心麦和颗粒具有明显的抗心肌缺血损伤作用,其机制是通过抑制 NF- κ B 信号通路中的炎症因子,激活血管保护因子,二者协同作用实现的,该研究为参心麦和颗粒治疗冠心病的临床推广应用提供理论依据。

[关键词] 参心麦和颗粒; 冠心病; 核转录因子- κ B 信号通路; 作用机制

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)05-0133-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015050133

Mechanism of Shenxin Maihe Particles in Treating Coronary Heart Disease of Rats Based NF- κ B Signaling Pathway WANG Yu-feng, WANG Shuai, MENG Xian-sheng*, BAO Yong-rui, GUAN Shan-shan (*Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Liaoning Province Engineering Research Center of Chinese medicine ingredients, Liaoning Modern Traditional Chinese Medicine Research and Engineering Laboratory, Dalian 116600, China*)

[Abstract] **Objective:** To investigate the regulatory effect on nuclear factor- κ B (NF- κ B) signaling pathways of Shenxin Maihe particles based on treating coronary heart disease (CHD) in ischemia-reper fusion injury model rats. **Method:** Sixty SD rats were randomly divided into the sham operation group, the model group, the diltiazem group (36 mg·kg⁻¹), the low-, moderate- and high-dose Shenxin Maihe particles groups (0.17, 0.51, 1.53 g·kg⁻¹). All rats received the corresponding medicines by intragastric administration once daily for 7 days. Contents of interleukin (IL) -6 and IL-8 in the rats serum were detected by ELISA, the mRNA expressions of NF- κ B, tumor necrosis factor- α (TNF- α), inducible nitric oxide synthase (iNOS), intercellular surface adhesion molecule-1 (ICAM-1) and vascular cell adhesion molecules-1 (VCAM-1) in the tissue of rats were detected by RT-PCR, the protein expressions of vascular endothelial growth factor (VEGF), heat shock protein 70 (HSP 70)

[收稿日期] 20140812(006)

[基金项目] 科技重大专项“十一五”计划(20102X09401-304-515);沈阳市科技项目(F12-146-9-00)

[第一作者] 王玉凤,在读硕士,从事药物分析研究,Tel:0411-85890185,E-mail:13624097637@163.com

[通讯作者] *孟宪生,博士,教授,从事中药组分配伍、代谢组学及药品质量分析研究,Tel:0411-85890185,E-mail:mxxvvy@126.com

and cyclooxygenase-2 (COX-2) were detected by Western blotting. **Result:** Compared with the sham operation group, the levels of IL-6 and IL-8 increased, the mRNA expressions of NF- κ B, TNF- α , iNOS, ICAM-1 and VCAM-1 increased, the protein expression of COX-2 increased, the protein expressions of VEGF and HSP 70 decreased in the model group ($P < 0.01$). Compared to the model group, Shenxin Maihe particles could improve the above indicators significantly ($P < 0.01$). **Conclusion:** Shenxin Maihe particles has an evident effect against myocardial ischemia injury. Its mechanism may be related to the inhibition of inflammatory cytokines in the NF- κ B signaling pathways and activating blood vessel protection factor synergistically. The results provide relevant theory basis for popularization and application of Shenxin Maihe particles in treating CHD.

[Key words] Shenxin Maihe particles; coronary heart disease; nuclear factor- κ B pathway; mechanism of action

冠状动脉粥样硬化性心脏病 (coronary heart disease, CHD), 简称冠心病, 是仅次于癌症的第二大严重威胁人类健康的疾病, 是导致患者猝死的常见疾病, 然而冠心病发作和治疗过程中因为缺血再灌注 (ischemia reperfusion, IR) 造成的心肌损伤更严重的影响了冠心病患者心脏功能的恢复和生存率。

参心麦和颗粒是由丹参、葛根等 6 味中药组成的中药复方, 是本实验室自主研发的治疗心脑血管疾病的六类新药, 经前期实验证明^[1-3], 参心麦和颗粒对大鼠心肌缺血再灌注损伤模型具有较好疗效, 并在此基础上, 通过代谢组学分析发现, 参心麦和颗粒对缺血心肌的保护作用与核转录因子- κ B (NF- κ B) 信号通路有关, 但是其作用机制是基于 NF- κ B 信号通路上的哪些相关因子, 还有待进一步研究。本文旨在深入探讨参心麦和颗粒在 NF- κ B 信号通路中的作用机制, 为临床合理用药提供理论依据。

1 材料

1.1 动物 清洁级健康 SD 大鼠, 雄性, 鼠龄 7 周, 体重 220 ~ 250 g, 由大连医科大学实验动物中心提供, 动物合格证号 SCXK(辽)2008-0002。

1.2 药物及试剂 参心麦和颗粒 (由丹参、三七、川芎、人参、葛根、麦冬组成, 药材均由辽宁中医药大学翟延君教授鉴定为正品, 本实验室制备), 地尔硫卓 (天津田边制药有限公司, 批号 1305036), 白细胞介素-8 (IL-8) 试剂盒 (美国 R&D 公司), 白细胞介素-6 (IL-6) 试剂盒 (美国 R&D 公司), 血管内皮生长因子 (VEGF) 抗体 (美国 Abcom 公司, 批号 GR91271-1), 热休克蛋白 (HSP 70) 抗体 (美国 Cell Signaling 公司, 批号 201302), 环氧化酶-2 (COX-2) 抗体 (北京中杉金桥生物技术有限公司), 辣根酶标记山羊抗小鼠 ZB-2305 (北京中杉金桥生物技术有限公司, 批号 I20303), NF- κ B, 肿瘤坏死因子- α (TNF- α), 诱生型一氧化氮合成酶 (iNOS), 细胞间黏

附分子 (ICAM-1) 和血管细胞黏附分子 (VCAM-1) 引物由 Invitrogen 生物试剂公司提供。

1.3 仪器 SUNRISE 型酶标仪 (瑞士 Tecan 公司), FS-2 型可调高速匀浆机 (江苏恒丰仪器有限公司), EQ-0603-021 型 PCR 仪 (日本 TaKaRa 公司), DYY-6C 型电泳仪 (北京六一仪器厂), Mini-Protean tetra 型小型垂直电泳槽 (美国伯乐公司 Bio-Rad 公司), STS-3 型脱色摇床 (上海琪特分析仪器有限公司), Bioshine GelX 1520 型凝胶成像系统 (美国 UVP 公司)。

2 方法

2.1 大鼠心肌缺血损伤模型制备 使用 3% 戊巴比妥钠 ($50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 麻醉大鼠, 固定, 四肢皮下插入针形电极, 监测心电图的变化。气管插管, 控制呼吸, 频率为 90 次/min, 潮气量为 3 ~ 4 mL。消毒后, 开胸, 剪开心包膜, 挤出心脏, 结扎成功 30 min 后松开动脉夹再灌注 90 min, 造成缺血再灌注损伤, 结扎 10 min 后观察心电图 ST 段抬高为结扎成功的标志, ST 段没有变化者结扎不成功即被淘汰。

2.2 动物分组及给药 将造模成功的 60 只大鼠, 随机分成假手术组、模型组、地尔硫卓组 ($36 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), 参心麦和颗粒低、中、高剂量 ($0.17, 0.51, 1.53 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 组。

2.3 标本采集 连续 ig 给药 7 d 后, 分别取出各组大鼠心脏组织, 剪取剩余心脏组织的左心室缺血区心肌约 100 mg, 液氮急冻, $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存备用。

2.4 大鼠心肌梗死灶面积的检测 采用 TTC (2, 3, 5-氯化三苯基四氮唑) 法对各组大鼠心肌梗死灶面积进行检测。

2.5 ELISA 检测 IL-6, IL-8 的含量 严格按照试剂盒步骤进行操作, 加入终止液, 于 450 nm 波长在酶标仪上测定各孔的吸光度 (A)。

2.6 RT-PCR 法检测 NF- κ B, TNF- α , iNOS, ICAM-1 和 VCAM-1 mRNA 的表达 取新鲜冻存的心肌组织

约 100 mg,按 TransZol Up 试剂盒提供方法提取总 RNA,于 260,280 nm 波长处测定 A,计算 RNA 的纯度和浓度,同时进行电泳检测。取 RNA 5 μg 用于逆转录合成 cDNA,并以适量的 cDNA 为模板进行 PCR 反应。引物序列如表 1。PCR 扩增的条件:NF-κB, TNF-α, iNOS, ICAM-1, VCAM-1: 94 °C 预变性 3 min, 94 °C 变性 30 s, 复性 30 s, 72 °C 延伸 45 s, 30 个循环。其中复性温度分别为 56, 57, 56, 58 °C。采用凝胶成像分析系统行定量分析,以 β-actin 作为内参,通过目的基因 A 与 β-actin A 的比值反映 NF-κB, TNF-α, iNOS, ICAM-1, VCAM-1 mRNA 表达情况。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

基因名称	引物	扩增产物 /bp
NF-κB	上游 5'-GAGAGCCCTTGCATCCTTTA-3'	100
	下游 5'-CTTCCCTTTGGTCTTTCTGT-3'	
TNF-α	上游 5'-CTCCAGCTGGAAGACTCCTCCCAG-3'	171
	下游 5'-CCCAGCTACGTGCTCCTCACC-3'	
iNOS	上游 5'-TGGCTTGCCTTGGAAGTTTCTC-3'	235
	下游 5'-TCCAGGCCATCTTGGTGGCAAGA-3'	
ICAM-1	上游 5'-CGACTGGACGAGAGGGATTG-3'	260
	下游 5'-TTATGACTGCGGCTGTACC-3'	
VCAM-1	上游 5'-GCAAGTTCTAGCCTGTAC-3'	340
	下游 5'-GGCTCAAGCATGCATATTCAC-3'	
β-actin	上游 5'-TGCTGTCCCTGTATGCCTCT-3'	220
	下游 5'-TTTGATGTCAGGCACGATTT-3'	

2.7 Western-blotting 法检测 VEGF, HSP 70 和 COX-2 蛋白的表达 取大鼠心肌组织约 100 mg,加入 RIPA 裂解缓冲液提取蛋白,Bradford 法测定并计算蛋白浓度。经 SDS-PAGE 电泳分离蛋白质,上样,转膜,室温封闭,加一抗 4 °C 过夜, TBST 洗膜,加入二抗体,室温孵育,显色,进行条带扫描,采用凝胶成像系统进行定量分析,以 β-actin 作为内参,通过目的蛋白灰度值与 β-actin 灰度值的比值反映 VEGF, HSP 70 和 COX-2 表达情况。

表 3 参心麦和颗粒对 NF-κB, TNF-α, iNOS, ICAM-1 和 VCAM-1 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effects of Shenxin Maihe partides on NF-κB, TNF-α, iNOS, ICAM-1 and VCAM-1 mRNA expression ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	NF-κB/β-actin	TNF-α/β-actin	iNOS/β-actin	ICAM-1/β-actin	VCAM-1/β-actin
假手术	-	0.20 ± 0.01	0.15 ± 0.02	0.13 ± 0.02	0.15 ± 0.02	0.21 ± 0.02
模型	-	0.85 ± 0.03 ¹⁾	0.92 ± 0.02 ¹⁾	0.50 ± 0.01 ¹⁾	0.66 ± 0.02 ¹⁾	0.80 ± 0.02 ¹⁾
地尔硫卓	0.036	0.36 ± 0.03 ²⁾	0.30 ± 0.02 ²⁾	0.37 ± 0.01 ²⁾	0.37 ± 0.02 ²⁾	0.35 ± 0.02 ²⁾
参心麦和颗粒	0.17	0.46 ± 0.02 ²⁾	0.79 ± 0.03 ²⁾	0.32 ± 0.02 ²⁾	0.45 ± 0.02 ²⁾	0.51 ± 0.02 ²⁾
	0.51	0.41 ± 0.02 ²⁾	0.60 ± 0.02 ²⁾	0.18 ± 0.02 ²⁾	0.40 ± 0.01 ²⁾	0.37 ± 0.02 ²⁾
	1.53	0.30 ± 0.02 ²⁾	0.32 ± 0.02 ²⁾	0.14 ± 0.01 ²⁾	0.34 ± 0.02 ²⁾	0.26 ± 0.01 ²⁾

2.8 统计学分析 采用 SPSS 19.0 统计分析软件进行统计学分析,所得数据为计量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异比较采用单因素方差分析中的 LSD 方法, $P < 0.01$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 对血清中 IL-6, IL-8 含量的影响 与假手术组比较,模型组血清中 IL-6 和 IL-8 含量明显增加 ($P < 0.01$),与模型组比较,参心麦和颗粒低、中、高剂量组,地尔硫卓组血清中 IL-6 和 IL-8 含量均明显降低,差异具有显著性 ($P < 0.01$);其中参心麦和颗粒高剂量组 IL-6 和 IL-8 含量的下降程度明显低于地尔硫卓组。见表 2。

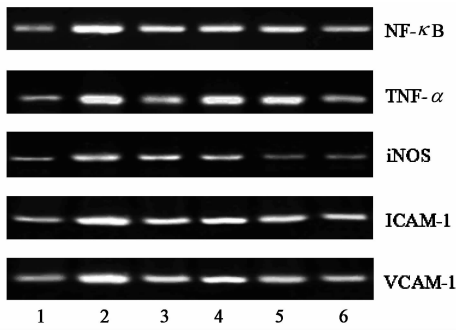
表 2 参心麦和颗粒对血清中 IL-6, IL-8 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effects of Shenxin Maihe particles on content of IL-6, IL-8 levels in serum ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	IL-6 /ng·L ⁻¹	IL-8 /ng·L ⁻¹
假手术	-	48.57 ± 3.85	105.21 ± 16.40
模型	-	182.86 ± 4.42 ¹⁾	456.43 ± 12.61 ¹⁾
地尔硫卓	0.036	78.03 ± 3.86 ²⁾	211.31 ± 19.65 ²⁾
参心麦和颗粒	0.17	98.72 ± 4.44 ²⁾	328.53 ± 15.22 ²⁾
	0.51	82.57 ± 4.35 ²⁾	243.82 ± 11.53 ²⁾
	1.53	73.46 ± 3.59 ²⁾	195.64 ± 12.97 ²⁾

注:与假手术组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.01$ (表 3~4 同)。

3.2 对 NF-κB, TNF-α, iNOS, ICAM-1 和 VCAM-1 mRNA 表达的影响 与假手术组比较,模型组 NF-κB, TNF-α, iNOS, ICAM-1 和 VCAM-1 mRNA 表达显著增强 ($P < 0.01$);与模型组比较,参心麦和颗粒低、中、高剂量组及地尔硫卓组的 NF-κB, TNF-α, iNOS, ICAM-1, VCAM-1 mRNA 表达量显著性降低 ($P < 0.01$);其中复方高剂量组的 NF-κB, TNF-α, iNOS, ICAM-1 和 VCAM-1 mRNA 表达量最低,且低于地尔硫卓组。见图 1,表 3。



1. 假手术组;2. 模型组;3. 地尔硫卓 $0.036 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组;4. 参心麦和 $0.17 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组;5. 参心麦和 $0.51 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组;6. 参心麦和 $1.53 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组(图 2 同)

图 1 参心麦和颗粒对 NF- κ B, TNF- α , iNOS, ICAM-1 和 VCAM-1 mRNA 表达的影响

Fig.1 Effects of Shenxin Maihe particles on NF- κ B, TNF- α , iNOS, ICAM-1 and VCAM-1 mRNA expression

3.3 对 VEGF, HSP 70 和 COX-2 蛋白表达的影响 与假手术组比较, 模型组 VEGF, HSP 70 和 COX-2 蛋白表达显著增强 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 参心麦和颗粒 3 个剂量组及地尔硫卓组的 VEGF 和 HSP 70 蛋白表达量显著性升高, COX-2 蛋白表达量显著性降低 ($P < 0.01$), 其中高剂量组的 VEGF 和 HSP 70 蛋白表达量最高, 且高于地尔硫卓组; COX-2 蛋白表达量最低, 且低于地尔硫卓组。见表 4, 图 2。

表 4 参心麦和颗粒对 VEGF, HSP 70 和 COX-2 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effects of Shenxin Maihe particles on VEGF, HSP 70 and COX-2 protein expression ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 $/\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	VEGF $/\beta\text{-actin}$	HSP 70 $/\beta\text{-actin}$	COX-2 $/\beta\text{-actin}$
假手术	-	0.14 ± 0.01	0.19 ± 0.02	0.21 ± 0.02
模型	-	$0.30 \pm 0.02^{1)}$	$0.35 \pm 0.02^{1)}$	$0.88 \pm 0.03^{1)}$
地尔硫卓	0.036	$0.60 \pm 0.02^{2)}$	$0.70 \pm 0.02^{2)}$	$0.45 \pm 0.02^{2)}$
参心麦和颗粒	0.17	$0.70 \pm 0.02^{2)}$	$0.52 \pm 0.02^{2)}$	$0.50 \pm 0.01^{2)}$
	0.51	$0.53 \pm 0.02^{2)}$	$0.61 \pm 0.02^{2)}$	$0.41 \pm 0.03^{2)}$
	1.53	$0.82 \pm 0.02^{2)}$	$0.85 \pm 0.02^{2)}$	$0.40 \pm 0.01^{2)}$

4 讨论

冠心病是临床常见病, 是威胁人类健康的隐形杀手, 多种致病因素都可诱发冠心病的产生。中医认为, 湿邪痰浊内蕴, 痰瘀互阻心脉, 发为“胸痹心痛”。西医认为, 它的发生与多种因素的协同作用有关, 包括脂质浸润学说、血栓形成学说、平滑肌细胞克隆学说等。多数学者支持“内皮损伤反应学

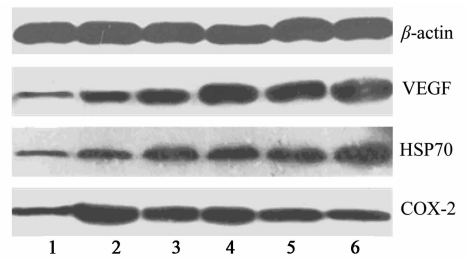


图 2 参心麦和颗粒对 VEGF, HSP 70 和 COX-2 蛋白表达的影响
Fig.2 Effect of Shenxinmaiheke on VEGF, HSP 70 and COX-2 protein expression

说”^[4], 认为冠心病是一个炎症疾病^[5], 动脉粥样硬化是冠心病的病理基础, 炎症是动脉粥样硬化的基本特征, 为本文研究参心麦和颗粒治疗缺血再灌注损伤大鼠的作用机制研究提供理论基础。

参心麦和颗粒是根据传统经验方, 随证加减后制成的创新中药复方, 其中包括丹参、葛根等 6 味中药。参心麦和颗粒对各种原因引起的冠心病均有较好疗效。经前期实验研究发现, 参心麦和颗粒对冠心病的治疗作用是通过其中的有效组分而发挥药效, 包括三七总皂苷、人参总皂苷、葛根异黄酮、挥发油和阿魏酸等多种有效物质组成^[1-3, 6-7]。本文在参心麦和颗粒制备工艺、体外药效、体内药效、药物安全性、代谢组学等研究的基础上, 对其作用机制进行深入研究, 为临床合理用药提供理论依据。

经前期研究发现, 当心肌缺血再灌注损伤时, 心肌组织中 NF- κ B 被激活, 因此确定 NF- κ B 是心肌缺血再灌注损伤的重要转录因子之一。本实验结果表明, 当心肌组织中 NF- κ B 被激活, NF- κ B 会直接刺激 IL-6, IL-8, TNF- α , iNOS, ICAM-1, VCAM-1 和 COX-2 等相关炎症因子的表达。其中, 炎症细胞因子 TNF- α 释放增加, 也能刺激 iNOS, ICAM-1 和 VCAM-1 在缺血区的聚集和表达; IL-6 可以刺激内皮细胞中 ICAM-1 的表达, 加重缺血引起心肌损伤^[8-10]。通过参心麦和颗粒治疗后, IL-6 和 IL-8 含量降低, NF- κ B, TNF- α , iNOS, ICAM-1 和 VCAM-1 mRNA 表达降低, COX-2 蛋白表达也明显降低。表明各给药物均能明显抑制炎症因子的表达, 从而也就抑制了心肌的损伤程度。故推断参心麦和颗粒抑制 NF- κ B 信号通路下游的相关炎症因子, 是其治疗冠心病的机制之一。在 NF- κ B 信号通路的另一途径发现, 模型组 VEGF 和 HSP 70 表达较正常组显著升高, 说明 NF- κ B 被激活后, 心肌组织产生了自我保护意识, 使血管保护因子开始表达。且通过参心麦和颗粒的治疗后, VEGF 和 HSP 70 的表达较模型

组进一步明显升高,说明药物治疗后,其自我保护意识增强,过度表达还抑制了NF- κ B的活性。这也符合VEGF和HSP 70上调可以增强黏膜上皮增殖、组织修复和保护心肌细胞的作用增强,促进心肌损伤愈合的研究结果^[10-11]。

综上所述,参心麦和颗粒中多种有效物质组成对心肌缺血都有治愈作用,其机制是通过作用于NF- κ B信号通路,相关炎症因子和血管保护因子2条途径下的多种基因和蛋白靶点而对缺血心肌起到保护作用的。本研究为参心麦和颗粒“多成分、多途径、多靶点”治疗冠心病的临床应用提供理论依据,也渴望为心肌缺血再灌注损伤的综合治疗提供参考。

[参考文献]

[1] Ren Cong, Bao Yong-Rui, Meng Xian-Sheng, et al. Comparison of the protective effects of ferulic acid and its drug-containing plasma on primary cultured neonatal rat cardiomyocytes with hypoxia/reoxygenation injury [J]. *Pharmacognosy Magazine*, 2013, 9(35):202-209.

[2] 王耀文,孟宪生,包永睿,等. 人参提取工艺的优化及其有效成分与药效学相关性分析[J]. *中成药*, 2012, 34(11):2240-2242.

[3] 蔡琳,孟宪生,包永睿,等. 基于体外心肌细胞活力的葛根提取工艺优选[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(18):17-19.

[4] 叶任高. 内科学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2006;

264-273.

[5] 李玉东,冯文华,毛绍芬. C反应蛋白水平在冠心病中的意义[J]. *中国心血管杂志*, 2006, 7(3):198-199.

[6] Spanier A J, Mc Donough K H. Dexamethasone blocks sepsis-induced protection of the heart from ischemia reperfusion injury [J]. *Proc Soc Exp Biol Med*, 2000, 223(2):82-87.

[7] Ahman R. Risk faetours in coronary atheroselmsis athero-inflammation; the meeting point [J]. *Thromb J*, 2003, 1(1):4-7.

[8] Rangogiannis N G, Smith C W, Entman M L. The inflammatory response in myocardial in faction [J]. *Cardiovasc Res*, 2002, 53(2):45-48.

[9] Wang Y Q, Guo X, Qiu M H. VEGF over expression enhances stria talneurogenesis in brain of adult rat after a transient middle cerebral artery occlusion [J]. *J Neurosci Res*, 2007, 85(1):73-76.

[10] Yamamoto K, Sarukawa M, Ito T, et al. An anti-ulcer drug, geranylgeranyl acetone suppresses inducible nitric oxide synthase in culture vascular smooth muscle cells [J]. *J Hypertens*, 2005, 511(2/3):109-120.

[11] Matsumori Y, Northington F J, Hong S M, et al. Reduction of caspase-8 and-9 cleavage is associated with increased c-FLIP and increased binding of Apaf-1 and Hsp 70 after neonatal hypoxic/ischemic injury in mice over-expressing Hsp70 [J]. *Stroke*, 2006, 37(2):507-512.

[责任编辑 周冰冰]