

心复康丸对压力超负荷大鼠心肌 miRNA-21 的影响

郭鹏^{1*}, 梁勇², 陈作², 李艳灵², 孙玲², 高克俭²

(1. 天津市儿童医院, 天津 300134; 2. 天津市北辰区中医医院, 天津 300400)

[摘要] **目的:**观察心复康丸对压力超负荷大鼠所致的心肌肥厚和心室重构的干预作用,并研究其作用机制是否影响心肌组织 miRNA-21 的表达。**方法:**雄性 Wistar 健康大鼠采用腹主动脉缩窄的方法,复制大鼠心肌肥厚和心室重构的模型,随机分为模型组,依那普利组(1.04 mg·kg⁻¹·d⁻¹),心复康丸低、高剂量组(52,208 mg·kg⁻¹·d⁻¹)和假手术组,每组 20 只。分别于术后 8,12 周采用超声心动评价心功能二尖瓣水平收缩期左室后壁厚度(LVPWs),收缩末期左室容积(LV Vols)及左心室射血分数(LVEF);免疫组织化学法检测心肌组织中 Fas,FasL 蛋白表达的变化;实时荧光定量-聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测心肌组织 miRNA-21 mRNA 表达的改变。**结果:**术后 8 周,与正常组比较,各手术模型组大鼠 LVPWs 水平显著升高,LV Vols,LVEF 水平显著降低,心脏肥大指数显著增加,心肌组织 Fas 与 FasL 蛋白含量显著增加,miRNA-21 mRNA 的表达显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,心复康丸低、高剂量组和依那普利组能明显降低 LVPWs 水平,明显升高 LV Vols,LVEF 水平,明显降低心脏肥大指数,明显降低心肌组织 Fas 与 FasL 蛋白的表达,显著提高 miRNA-21 mRNA 的表达,心复康丸高剂量较为显著($P < 0.05, P < 0.01$)。术后 12 周,与正常组比较,各手术模型组大鼠 LVPWs 水平显著升高,LV Vols,LVEF 水平显著降低,心脏肥大指数显著增加,心肌组织 Fas 与 FasL 蛋白含量显著增加,miRNA-21 mRNA 的表达显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,心复康丸低、高剂量组和依那普利组能明显降低 LVPWs 水平,明显升高 LV Vols,LVEF 水平,明显降低心脏肥大指数,明显降低心肌组织 Fas 与 FasL 蛋白的表达,显著提高 miRNA-21 mRNA 的表达($P < 0.05, P < 0.01$)。**结论:**心复康丸改善压力超负荷大鼠心功能的作用可能与促进 miRNA-21 mRNA 的表达,调控 Fas,FasL 蛋白,抑制细胞凋亡有关。

[关键词] 心复康丸; miRNA-21; 压力超负荷; 心肌肥厚; 心室重构

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)21-0137-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016210137

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160906.0920.038.html>

[网络出版时间] 2016-09-06 9:20

Effect of Xinfukang Pill on Myocardial miRNA-21 of Pressure Overload Rats

GUO Peng^{1*}, LIANG Yong², CHEN Zuo², LI Yan-ling², SUN Ling², GAO Ke-jian²

(1. Tianjin Children's Hospital, Tianjin 300134, China;

2. Tianjin Beichen District Hospital of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300400, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effect of Xinfukang pill in intervening pressure overload-induced myocardial hypertrophy and ventricular remodeling in rats, and the correlation between its pharmacological effect and the expression of miRNA-21 in cardiac tissue. **Method:** The abdominal aorta narrowing and contraction method was adopted in adult health male Wistar rats to establish the model of myocardial hypertrophy and ventricular remodeling. Four weeks after coarctation of abdominal aorta, the Wistar rats were randomly divided into model group, Enalapril group (1.04 mg·kg⁻¹·d⁻¹), Xinfukang low and high-dose groups (52, 208 mg·kg⁻¹·d⁻¹), and sham group, with 20 in each group. After 8, 12 weeks, echocardiographic evaluation was conducted for cardiac indexes, LVPWs, LV Vols and LVEF. The expressions of Fas, FasL in cardiac tissue were detected by immunohistochemistry, and the expression of miRNA-21 was also detected by Real-time PCR. **Result:** After eight weeks, compared with normal group, all model groups showed significant increases in LVPWs, cardiomegaly

[收稿日期] 20150914(004)

[基金项目] 天津市北辰区科技发展计划项目(bews2013-08)

[通讯作者] * 郭鹏, 硕士, 主管药师, 从事复方中药研究, Tel:18920511213, E-mail:success07@126.com

index, Fas and FasL protein contents, and miRNA-21 mRNA expression, and notable decreases in LV Vols, LVEF ($P < 0.01$). Compared with normal group, Xinfukang low and high-dose groups and Enalapril group showed remarkable reductions in LVPWs, cardiomegaly index, and Fas and FasL protein contents, and notable increases in LV Vols, LVEF, and miRNA-21 mRNA expression, particularly in Xinfukang high-dose group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Twelve weeks later, compared with normal group, all of model groups showed significant increases in LVPWs, cardiomegaly index, Fas and FasL protein contents, and miRNA-21 mRNA expression, and notable decreases in LV Vols, LVEF ($P < 0.01$). Compared with Enalapril group, Xinfukang high and low-dose groups showed remarkable reductions in LVPWs, cardiomegaly index, and Fas and FasL protein contents, and notable increases in LV Vols, LVEF, and miRNA-21 mRNA expression ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** The effect of Xinfukang pill in improving the cardiac function of rats with pressure overload may be correlated with the promotion of the expression of miRNA-21, the regulation of Fas and FasL, and the inhibition of apoptosis.

[**Key words**] Xinfukang pill; miRNA-21; pressure overload; myocardial hypertrophy; ventricular remodeling

心力衰竭是由各种原因造成心脏收缩或舒张功能异常,使心脏排血不能满足机体需求,而导致复杂的病理生理过程和临床症候群^[1],具有高发病率、高死亡率、高致残率和高消耗的特点。据统计症状性心力衰竭的发病率占西方总人口的 0.4% ~ 2%,其中 65 岁以上老年患者的发病率接近 6% ~ 10%,心衰患者 4 年内存活率不及一半,而终末期心衰患者 1 年死亡率就高达 50%,是西方国家主要死亡原因之一^[2-3]。

分子生物学研究发现 miRNA-21 的表达抑制凋亡相关蛋白 4(PDCD4)的表达,增加转录激活蛋白-1(AP-1)的表达,保护心肌免受梗死后细胞凋亡^[4-5];抑制同源性磷酸酶张力蛋白(PTEN)及 FasL 的表达上调,缩小梗死面积及减轻心衰;在心肌缺氧时,miRNA-21 表达降低,引起 Fas 配体和 10 号染色体上缺失的磷酸酶与张力蛋白同源物升高,诱导细胞凋亡,促发心力衰竭^[6]。

心肌肥厚和心室重构是导致心力衰竭的始动环节及独立危险因素,尽早有效的干预/逆转心肌肥厚和心室重构具有深远意义。心复康丸是多年临床应用治疗冠心病慢性心功能不全的医院制剂,对心功能不全患者的心功能及心室重塑有明显的改善作用^[7-9],但其作用机制尚不明确。本文采用腹主动脉缩窄法制作压力超负荷大鼠心肌肥厚和心室重构模型,研究心复康丸对不同病理阶段模型大鼠影响心肌组织 miRNA-21 的表达,探讨其减轻心肌肥厚和心室重构的作用机制,为临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 雄性 Wistar 健康大鼠,体重(200 ± 20)g,北京维通利华实验动物有限公司提供,合格证号

SCXK(京)2012-0001。

1.2 药物及试剂 心复康丸(北辰中医医院制剂,批号 120608),马来酸依那普利片(扬子江药业集团江苏制药股份有限公司,批号 12031001),Fas 抗体(北京博奥森生物技术有限公司,批号 95156W),FasL 抗体(北京博奥森生物技术有限公司,批号 99029W)。

1.3 仪器 BX51T-PHD-J11 型显微镜及 CMOS 型传感器(日本 Olympus 公司),Image-Pro Plus 6.0 多功能真彩色细胞图象分析管理系统(美国 Media Cybernetics 公司),RM2015 型石蜡切片机(德国莱卡公司),5430 型离心机(德国 Eppendorf 公司),LineGene 9620 型实时荧光定量 PCR 仪(杭州博日科技有限公司),TC-96/g/h(b)PCR 仪(杭州博日科技有限公司)。

2 方法

2.1 动物造模及分组给药 采用腹主动脉缩窄法制备压力负荷性大鼠模型^[10]。以 3.2% 水合氯醛(10 mL·kg⁻¹)ip 麻醉,打开腹腔,分离左肾动脉起始部上段腹主动脉约 10 mm,将 8 号注射器光滑针头平行置于该段腹主动脉上,以 4.0 丝线将腹主动脉连同针头一起结扎,腹腔内注入青霉素 20 万单位后逐层缝合肌肉及皮肤,术后常规抗炎 7 d。造模成活大鼠按随机数字表法随机分组,每组 20 只。将心复康丸以及依那普利片研磨碎后溶于生理盐水配置为溶液,术后 4 周予以胃管 ig 给药,心复康丸低剂量组剂量为 52 mg·kg⁻¹·d⁻¹,心复康丸高剂量组剂量为 208 mg·kg⁻¹·d⁻¹,依那普利组剂量为 1.04 mg·kg⁻¹·d⁻¹,假手术组及模型组予等量生理盐水 ig。分别于术后 8 周,12 周进行相关检查。

2.2 检测指标

2.2.1 大鼠心脏超声检测 以 3.2% 水合氯醛 (10 mL·kg⁻¹) 腹腔内注射麻醉大鼠, 仰卧位固定, 应用 Vevo2100 超声诊断仪 (探头频率 30 MHz) 进行超声心动检查, 取胸骨旁左室长轴切面, 二维超声引导 M 型曲线测量二尖瓣水平收缩期左室后壁厚度 (LVPWs), 收缩末期左室容积 (LV Vols) 及左心室射血分数 (LVEF)。测量 3 个连续心动周期, 取其平均值。

2.2.2 心脏肥大指数 (HW/BW) 开胸取出心脏, 用冰生理盐水洗净残血, 滤纸吸干心脏并用电子天平称取心脏质量, 计算心脏肥大指数。

$$HW/BW = \text{心脏质量 (HW)} / \text{体重 (BW)} \times 100\%$$

2.2.3 免疫组织化学法检测心肌组织 Fas, FasL 蛋白的表达 石蜡切片脱蜡, 1% 甲醇双氧水灭活内源性酶, 0.01 mol·L⁻¹ 柠檬酸盐缓冲液 (pH 6.0) 进行抗原修复, 正常山羊血清封闭液, 滴加兔抗大鼠第一抗体, 4 ℃ 孵育过夜。滴加生物素化第二抗体 (IgG)。以 PBS 代替一抗做阴性对照。以 DAB 显色, 双蒸水终止反应, 苏木素复染细胞核, 盐酸乙醇分化, 二甲苯透明后中性树脂封片, 置镜下观察和拍摄。

2.2.4 实时荧光定量-聚合酶链式反应 (Real-time PCR) 法检测心肌组织 miRNA-21 的表达 Trizol 法提取心肌组织中的总 RNA, 测定总 RNA 纯度。RNA 逆转录为 cDNA 后进行 PCR 循环。miRNA-21

上游引物 5'-TGTACCACCTTGTGCGGTAGC-3', 下游引物 5'-ATACCAAATGTCAGACAGCC-3', 引物长度 92 bp; β -肌动蛋白 (β -actin) 上游引物 5'-TCAGGTCATCACTATCGGCAA-3', 下游引物 5'-AGCACTGTGTTGGCATAGAGG-3', 扩增长度 169 bp。循环参数: 95 ℃ 预变性 10 min, 94 ℃ 变性 20 s, 53 ℃ 退火加延伸 20 s, 40 个循环。

2.3 统计学分析 采用 SPSS 21.0 统计软件处理数据, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析考察显著性, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对压力超负荷大鼠心肌的影响 术后 8 周, 与正常组比较, 模型组大鼠 LVPWs 显著升高, LV Vols 及 LVEF 显著降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 心复康丸高、低剂量组及依那普利组明显降低大鼠 LVPWs, 心复康丸高剂量组及依那普利组明显升高大鼠 LV Vols 及 LVEF ($P < 0.05, P < 0.01$), 提示压力超负荷引起大鼠代偿性的心肌肥厚。术后 12 周, 与正常组比较, 模型组大鼠 LVPWs 显著升高, LVEF 显著降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 心复康丸高、低剂量组及依那普利组明显降低大鼠 LVPWs, 明显升高 LV Vols ($P < 0.05, P < 0.01$), 心复康丸高剂量组及依那普利组明显升高大鼠 LVEF ($P < 0.01$), 提示大鼠心肌肥厚进入失代偿期, 高剂量心复康丸和依那普利能抑制压力超负荷致心肌肥厚的进展。见表 1。

表 1 心复康丸对压力超负荷大鼠心肌的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of Xinfukang pill on myocardial tissue in rat of pressure overload-induced ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	术后 8 周			术后 12 周		
		LVPWs/mm	LV Vols/ μ L	LVEF/%	LVPWs/mm	LV Vols/ μ L	LVEF/%
正常	-	1.85 ± 0.20	85.97 ± 21.99	78.88 ± 4.21	1.87 ± 0.20	88.83 ± 7.99	76.00 ± 4.44
模型	-	2.71 ± 0.25 ²⁾	61.57 ± 8.13 ²⁾	60.74 ± 5.05 ²⁾	2.53 ± 0.48 ²⁾	91.20 ± 7.64	53.68 ± 4.45 ²⁾
依那普利	1.04	2.31 ± 0.38 ⁴⁾	71.00 ± 8.97 ³⁾	66.60 ± 3.52 ³⁾	2.38 ± 0.32 ⁴⁾	73.63 ± 7.64 ⁴⁾	59.52 ± 8.28 ³⁾
心复康	52	2.46 ± 0.27 ³⁾	65.16 ± 10.10	61.32 ± 6.25	2.48 ± 0.26 ⁴⁾	65.05 ± 7.43 ⁴⁾	58.21 ± 5.10
	208	2.36 ± 0.29 ⁴⁾	77.90 ± 4.81 ⁴⁾	66.02 ± 5.35 ³⁾	2.38 ± 0.29 ⁴⁾	80.19 ± 9.28 ³⁾	65.61 ± 6.18 ⁴⁾

注: 与同期正常组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与同期模型组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2~4 同)。

3.2 对压力超负荷大鼠 HW/BW 的影响 与正常组比较, 8 周和 12 周时, 模型组大鼠 HW/BW 均显著增加 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 心复康丸高、低剂量组及依那普利组大鼠 HW/BW 明显降低 ($P < 0.05, P < 0.01$)。心复康丸高剂量组作用与依那普利组相当。见表 2。

3.3 对压力超负荷大鼠心肌 Fas 与 FasL 蛋白含量的影响 与正常组比较, 8 周和 12 周, 模型组大鼠

心肌组织 Fas 与 FasL 蛋白含量显著增加 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 8 周时心复康丸高剂量组及依那普利组明显降低心肌组织 Fas 与 FasL 蛋白含量 ($P < 0.05, P < 0.01$), 其作用优于依那普利组, 而低剂量组无明显影响, 12 周时心复康丸低剂量组可明显降低心肌组织 FasL 蛋白含量 ($P < 0.05$), 但对心肌组织 Fas 蛋白含量无明显影响, 心复康丸高剂量组及依那普利组明显降低心肌组织 Fas 与 FasL

表 2 心复康丸对压力超负荷大鼠 HW/BW 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of Xinfukang pill on HW/BW in rat of pressure overload-induced ($\bar{x} \pm s, n = 10$) $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$	术后 8 周	术后 12 周
正常	-	2.29 ± 0.18	2.13 ± 0.18
模型	-	3.50 ± 0.27 ²⁾	3.13 ± 0.47 ²⁾
依那普利	1.04	2.68 ± 0.15 ⁴⁾	2.58 ± 0.24 ⁴⁾
心复康	52	3.26 ± 0.14 ³⁾	2.80 ± 0.45 ³⁾
	208	2.87 ± 0.18 ⁴⁾	2.47 ± 0.21 ⁴⁾

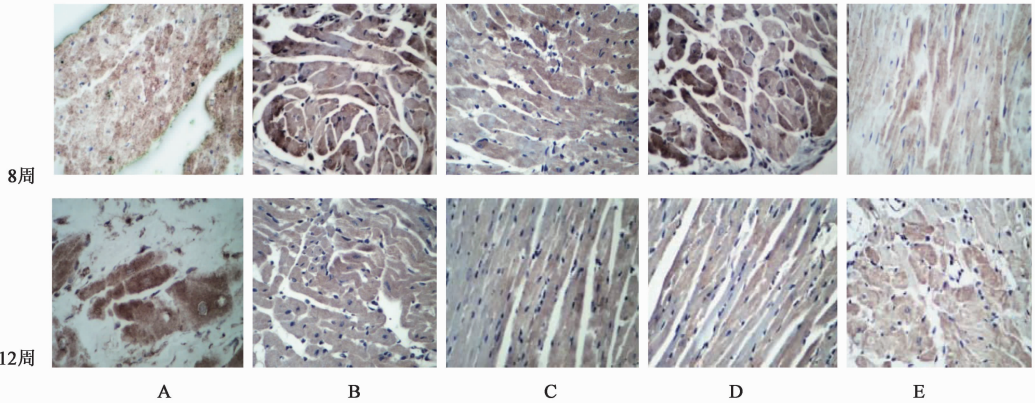
表 3 心复康丸对压力超负荷大鼠心肌 Fas 与 FasL 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of Xinfukang pill on expression of Fas and FasL in rat of pressure overload-induced ($\bar{x} \pm s, n = 10$) %

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$	术后 8 周		术后 12 周	
		Fas	FasL	Fas	FasL
正常	-	1.60 ± 0.70	1.40 ± 0.45	1.40 ± 0.70	1.15 ± 0.52
模型	-	35.90 ± 7.81 ²⁾	30.80 ± 4.02 ²⁾	32.11 ± 5.66 ²⁾	28.67 ± 8.15 ²⁾
依那普利	1.04	29.90 ± 4.38 ³⁾	25.20 ± 5.49 ³⁾	28.67 ± 3.71 ³⁾	22.78 ± 4.71 ³⁾
心复康	52	33.80 ± 5.86	29.00 ± 3.20	30.00 ± 6.16	23.10 ± 3.00 ³⁾
	208	28.11 ± 3.57 ⁴⁾	19.00 ± 6.48 ⁴⁾	23.63 ± 5.72 ⁴⁾	20.38 ± 5.34 ⁴⁾

蛋白含量 ($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 3 及图 1, 2。

3.4 对压力超负荷大鼠心肌 miRNA-21 mRNA 表达的影响 与正常组比较, 8 周和 12 周, 模型组大鼠心肌组织 miRNA-21 表达显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 8 周时心复康丸组高剂量组显著升高心肌组织 miRNA-21 表达 ($P < 0.01$), 心复康丸组低剂量组和依那普利组对心肌组织 miRNA-21 表达无明显影响; 12 周时心复康丸组高、低剂量组明显升高心肌组织 miRNA-21 表达 ($P < 0.05, P < 0.01$), 依那普利组对心肌组织 miRNA-21 表达无明显影响。见表 4。



A. 假手术组; B. 模型组; C. 依那普利组; D. 心复康丸 52 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组; E. 心复康丸 208 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组 (图 2 同)

图 1 心复康丸对压力超负荷大鼠心肌 Fas 蛋白表达的影响 (免疫组化, $\times 400$)

Fig. 1 Effect of Xinfukang pill on expression of Fas in rat of pressure overload-induced (IHC, $\times 400$)

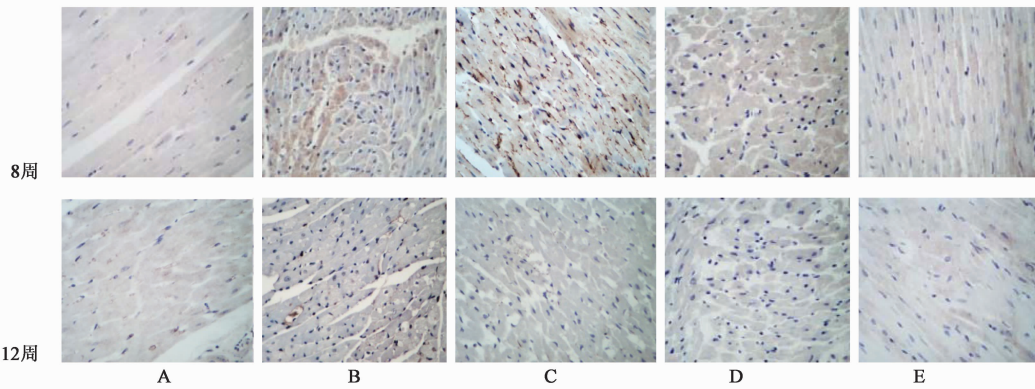


图 2 心复康丸对压力超负荷大鼠心肌 FasL 蛋白表达的影响 (免疫组化, $\times 400$)

Fig. 2 Effect of Xinfukang pill on expression of FasL in rat of pressure overload-induced (IHC, $\times 400$)

表 4 心复康丸对压力超负荷大鼠心肌 miRNA-21 mRNA 表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effect of Xinfukang pill on expression of miRNA-21 mRNA in rat of pressure overload-induced($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	术后 8 周	术后 12 周
正常	-	1.002 ± 0.384	1.079 ± 0.383
模型	-	3.356 ± 1.210 ²⁾	4.027 ± 0.774 ²⁾
依那普利	1.04	4.604 ± 1.612	4.930 ± 1.431
心复康	52	4.172 ± 1.462	5.067 ± 1.103 ³⁾
	208	5.439 ± 1.671 ⁴⁾	6.243 ± 1.069 ⁴⁾

4 讨论

慢性心力衰竭以心气虚、心阳虚为本病的病理基础,瘀血、水饮、痰浊内停是病理环节,病位在心。《素问·生气通天论》指出“阴平阳秘,精神乃治;阴阳离绝,精气乃绝”。心肌肥厚和心力衰竭的产生与 miRNA 与靶因子间调控秩序被打破有关。中药复方制剂具有多组分、多靶点的作用优势,通过直接或间接调节相关 miRNA 的表达,促进机体恢复阴阳平衡状态,达到“治病求本”的目的。

心复康丸由附子(制)、黄芪、肉桂、茯苓、丹参、地黄、知母、阿胶等药物组成,具有温补心肾、益气活血、化气利水之功效。制附子温肾助阳,回阳救逆,为君药。黄芪补中益气,肉桂补火助阳,丹参活血化瘀,为臣药。佐以地黄、知母滋阴清热,以制附子、肉桂之燥,茯苓健脾淡渗利湿,阿胶滋阴补血。现代药理学研究表明,附子具有明显的强心作用,改善外周及冠状循环,促进窦房结和房室传导,增强心肌收缩力,增加缺血心肌血流灌注,增加缺血心肌的供氧^[11-12]。黄芪可改善心肌缺血、改善心肌代谢、改善心功能^[13]。党参能增强心肌正性舒张和收缩功能。诸药合用,有强心、利尿、扩血管的功效,缓解心力衰竭所造成的各种阴阳失衡。

实验结果表明,各组大鼠心肌组织的 Fas 与 FasL 蛋白含量及 miRNA-21 mRNA 表达均比假手术组显著增加,但模型组较各治疗组增加显著。表明心室重构发生过程中心肌组织 miRNA-21 表达的增加不足以抑制其靶因子 Fas 与 FasL 蛋白的表达,导致心肌细胞凋亡的增加。高剂量组能使大鼠心肌组织 miRNA-21 表达增加,抑制其靶因子 Fas 与 FasL 蛋白表达,减轻心肌细胞凋亡,提示其抗心肌肥厚和心室重构作用可能与其促进 miRNA-21 基因表达,抑制靶因子 Fas 与 FasL 蛋白水平升高,降低心肌细

胞凋亡有关。心复康丸抗心肌肥厚和心室重构作用存在一定量效关系,高剂量优于低剂量,可能与方剂中制附子、黄芪等主要成分含量高低有关。

[参考文献]

[1] Go A S, Mozaffarian D, Roger V L, et al. Executive summary: heart disease and stroke statistics—2014 update: a report from the American heart association [J]. *Circulation*, 2014, 129(3): 399-410.

[2] Yancy C W, Jessup M, Bozkurt B, et al. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: a report of the American college of cardiology foundation/American heart association task force on practice guidelines[J]. *Circulation*, 2013, 128(16): 1810-1852.

[3] Yang J, Xu W W, Hu S J. Heart failure: advanced development in genetics and epigenetics [J]. *Biomed Res Int*, 2015, doi: 10.1155/2015/352734.

[4] Dong S, Cheng Y, Yang J, et al. MicroRNA expression signature and the role of microRNA-21 in the early phase of acute myocardial infarction [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(43): 29514-29525.

[5] Cheng Y, Liu X, Zhang S, et al. MicroRNA-21 protects against the H₂O₂-induced injury on cardiac myocytes via its target gene PDCD4 [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2009, 47(1): 5-14.

[6] Sayed D, He M, Hong C, et al. MicroRNA-21 is a downstream effector of AKT that mediates its antiapoptotic effects via suppression of Fas ligand [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(26): 20281-20290.

[7] 石秀梅,高克俭.心复康丸治疗冠心病心功能不全 30 例临床观察 [J]. *河北中医*, 2004, 26(8): 594.

[8] 高克俭,石秀梅,傅莲英,等.心复康丸对冠心病心功能及心室重塑影响的研究 [J]. *天津中医药*, 2005, 22(1): 22-24.

[9] 施乐.心复康丸治疗慢性心力衰竭伴阵发性心房颤动的临床研究 [J]. *河北中医*, 2012, 34(7): 975-978.

[10] Desjardins S, Mueller R W, Cauchy M J. A pressure overload model of congestive heart failure in rats [J]. *Cardiovascular Res*, 1988, 22(10): 696-702.

[11] 王锦鸿,史欣德,李婴,等.新编常用药物手册 [M]. 北京:金盾出版社,1994:64.

[12] 马宗超,唐智宏,张海.谈附子的药理及临床应用 [J]. *时珍国医国药*, 2004, 15(11): 790.

[13] 孙延涛,孙琦.黄芪的药理作用研究 [J]. *黑龙江医药*, 2007, 20(3): 256-257.

[责任编辑 周冰冰]