

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.34.004

养心通脉有效部位方对 MSCs 移植大鼠急性梗死心肌影响的研究*

李勇华¹, 郑景辉², 袁肇凯³

(1. 重庆三峡医药高等专科学校, 重庆万州 404120; 2. 广西中医药大学附属瑞康医院科研科, 广西南宁 530011; 3. 湖南中医药大学中医诊断学国家重点学科, 湖南长沙 410007)

[摘要] 目的 探讨养心通脉有效部位方(apr-YTF)对急性梗死心肌实施骨髓间充质干细胞(MSCs)移植促修复的影响。

方法 将造模成功的AMI大鼠分为模型对照组、空白对照组、阳性对照组[重组人粒细胞集落刺激因子(rhG-CSF)]和实验观察组(apr-YTF),分别给予MSCs以及相应药物心肌注射,PcLab生物医学信号采集处理系统测定在体心功能,免疫组织化学检测缝隙连接蛋白43(Cx43),RT-PCR检测心脏早期发育基因NKx2.5。结果 实验观察组动物的心功能恢复最好;心肌细胞Cx43阳性着色颗粒呈分散样改变,主要分布于端端连接的闰盘区域和侧侧连接的胞膜上,实验观察组的IOD值最高;各组NKx2.5均有一定水平的表达,实验观察组表达最强,而模型对照组则只有极弱的表达。结论 apr-YTF能促进MSCs移植修复急性梗死心肌,改善心功能。

[关键词] 干细胞;心肌梗死;养心通脉;心脏早期发育基因

[中图分类号] R543

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2015)34-4762-03

Study of active principle region of YangxinTongmai Formula effects on the acute myocardial infarction in rats with MSCs transplantation^{*}

Li Yonghua¹, Zheng Jinghui², Yuan Zhaokai³

(1. Chongqing Three Gorges Medical College, Chongqing 404120, China; 2. Department of Scientific Research, Affiliated Ruikang Hospital of Guangxi Traditional Chinese Medicine University, Nanning, Guangxi 530011, China; 3. Institute of Traditional Chinese Medicine Diagnostic, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China)

[Abstract] Objective To investigate the effect of active principle region of YangxinTongmai Formula(apr-YTF) on the recovery of bone marrow mesenchymal stem cells(MSCs) transplantation in acute myocardial infarction (AMI). Methods AMI rats were divided into model control group, blank control group, positive control group [recombinant human granulocyte colony stimulating factor (rhG-CSF)] and experimental observation group(apr-YTF). MSCs and the corresponding drugs were administered respectively. PcLab biomedical signal acquisition and processing system was used to measure the cardiac function, and the detection of the gap junction protein 43 (Cx43), and RT-PCR was used to detect the early development of NKx2.5 gene. Results The heart function recovery in the experimental observation group was best. Myocardial cell Cx43 positive staining particles were dispersed, positive staining particles were mainly distributed in the end connected to the intercalated disc area and lateral side was connected with the cell membrane, the IOD value of Cx43 was the highest in the experimental observation group. There was a certain level of expression in each group of NKx2.5, and the expression of the observation group was the strongest, while the model group had only a very weak expression. Conclusion Apr-YTF can promote MSCs transplantation to repair acute myocardial infarction and improve heart function.

[Key words] stem cells; myocardial infarction; YangxinTongmai; early cardiac development gene

养心通脉有效部位方(active principle region of Yangxin-Tongmai Formula, apr-YTF)是由秦伯未先生治疗胸痹心痛的有效名方研制而成,研究表明具有良好的抗急性心肌缺血作用^[1]。骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)移植能改善急性缺血心肌功能,其研究已成为心脑血管疾病领域的热点^[2-3]。apr-YTF能促进MSCs归巢于急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)的心肌组织^[4-5]。那么, apr-YTF对急性梗死心肌实施MSCs移植促修复的影响值得进一步研究,为将来的心肌梗死新药研发打下基础,现将探讨实验报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 (130±20)g的清洁级雄性SD大鼠取MSCs,选用同品系同来源(240±20)g的SD雄性大鼠进行AMI造模,均购自湖南中医药大学动物实验中心。

1.1.2 试剂 由中南大学药学院按照课题组稳定的制作工艺制作提供apr-YTF;于北京博奥森生物技术有限公司购买缝隙连接蛋白43(Cx43)兔源性多克隆抗体;于北京中杉金桥生物技术有限公司购买兔抗大鼠SP免疫组织化学染色试剂盒和

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81102595.30772696)。

作者简介:李勇华(1976—),副教授,博士,主要从事中西医结合内科学

教学和临床工作。

DAB 免疫组织化学显色试剂盒;于美国 Invitrogen 公司购买 Trizol;于加拿大 Fermentas 公司购买逆转录聚合酶链反应试剂盒;于 Invitrogen 公司购买聚合酶链反应(PCR)引物。

1.1.3 引物 在 NCBI Genbank 公布的引物序列,使用 Primer Premier 5.0 进行设计心脏早期发育基因 NKx2.5 的引物,由 Invitrogen 公司合成,见表 1。

表 1 PCR 引物序列及扩增目的片段大小

引物名称	引物序列(5'-3')	产物长度(bp)
NKx2.5 sense	GTA AGC GAC AGC GGC AGG AC	300
NKx2.5 anti sens	CGA CGC CAA AGT TCA CGA AG	
β -actin sense	CGT TGA CAT CCG TAA AGA C	201
β -actin anti sense	TGG AAG GTG GAC AGT GAG	

1.1.4 仪器 使用北京微信斯达科技发展有限责任公司生产的 PcLab 生物医学信号采集处理系统;美国 Bio-Rad 公司生产的 PCR 基因扩增仪;英国 UVI 公司生产的凝胶图像处理系统和数字彩色显微图像系统 7001×UVI;美国 Image-Pro Plus 图像分析系统。

1.2 方法

1.2.1 大鼠 MSCs 细胞悬液配制 课题组按照成熟的技术^[6],先从 SD 雄性大鼠胫骨和股骨骨髓中分离、培养并鉴定 MSCs,然后用胰蛋白酶消化后离心,进一步计数,再以无血清的 DMEM 培养基配制,使细胞悬液浓度为 $3 \times 10^6/100 \mu\text{L}$, 4°C 保存备用。

1.2.2 AMI 模型制备 取健康清洁级雄性 SD 大鼠,按 10 mL/kg 于腹腔注射 3%水合氯醛进行麻醉,背位固定后将气管分离暴露,3~4 气管软骨间刺破后插入 20 号钝圆穿刺针头,并以微型人工呼吸机连接进行正压呼吸。纵行切开胸部正中中线旁约 0.5 cm 处,逐层分离后剪破 3~4 肋间之肌层,以自制小拉钩从双侧拉开暴露心脏,剪开心包膜,在肺动脉圆锥与左心耳交界稍下 1~2 mm 处以 6/0 号丝线穿过,将左冠状动脉前降支结扎。心电图的记录采用 PcLab 生物医学信号采集处理系统,出现肢体导联 R 波振幅明显升高,随后 I 导联和 aVL 导联 J 点明显抬高,以心电图监测结合结扎部位以下心肌变苍白、出现搏动减弱,判断大鼠 AMI 造模成功。

1.2.3 MSCs 移植和 AMI 动物分组干预 将成功造模的 AMI 大鼠随机分为以下 4 组,各 16 只,在结扎 30 min 后均予干预措施,然后常规关闭胸腔,予青霉素腹腔注射预防感染,单

笼饲养。实验观察组:于梗死区边缘心肌组织的 3 个位点直接注入 $100 \mu\text{L}$ 生理盐水稀释,含生药 $20 \mu\text{g}$ 的 apr-YTF 注射液和 $100 \mu\text{L}$ 的 MSCs 细胞悬液。阳性对照组:注入 $100 \mu\text{L}$ 生理盐水稀释,含药 $2 \mu\text{g}$ 的 rhG-CSF 注射液和 $100 \mu\text{L}$ 的 MSCs 细胞悬液;空白对照组:注入 $100 \mu\text{L}$ 生理盐水和 $100 \mu\text{L}$ 的 MSCs 细胞悬液;模型对照组:注入 $100 \mu\text{L}$ 生理盐水和 $100 \mu\text{L}$ 的 PBS 缓冲液。

1.2.4 检测指标与方法 MSCs 移植和分组干预后 4 周,每组随机取 8 只大鼠,应用 PcLab 生物医学信号采集处理系统测量左室收缩压(LVSP)、左室舒张末压(LVEDP)、左室内压上升及下降最大速率($\pm dp/dt_{\text{max}}$)等心功能参数。测定后分组处死大鼠,取出心脏标本,于细胞注射点获取心肌组织。按免疫组织化学试剂盒说明书进行 Cx43 的相关抗原抗体免疫组织化学染色,选取心肌梗死边缘区 6 个高倍($\times 400$)视野,用数字彩色显微图像系统在相同条件下随机拍摄,IOD 值表示的指标阳性染色反应强度以 Image-Pro Plus 图像分析系统测定。IOD 值=阳性反应面积/平均光密度(光密度与阳性强度呈反比),各指标蛋白表达的相对含量取其均值表示。剩余动物进行心脏早期发育基因 NKx2.5 的检测。Trizol 裂解细胞后提取细胞总 RNA,经电泳鉴定其完整性后,利用紫外分光光度计测定 A_{260} 与 A_{280} 的比值,并计算其浓度,设 β -actin 为内参照。RT-PCR 采用二步法按操作说明进行,逆转录先 65°C 5 min, 42°C 60 min 合成 cDNA,再 70°C 变性 5 min,接着 PCR 进行 35 个循环扩增(94°C 30 s, 54°C 1 min, 72°C 1 min),最后 72°C 延伸 10 min。PCR 结束后,用 2%琼脂糖凝胶电泳检测扩增。利用凝胶成像系统扫描分析 NKx2.5 与内参 β -actin 基因的光吸收比值。

1.3 统计学处理 采用 SPSS16.0 软件对数据进行分析处理,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间均数比较在方差齐性检验和正态分布评估后进行方差分析,组间两两比较用 LSD 法检验,若方差不齐者用 Dunnetts T3。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组患者心功能的比较 实验观察组相较模型对照组,心功能 4 个指标均有显著改善($P < 0.01$),相较阳性对照组, LVSP、LVEDP、 $+dp/dt_{\text{max}}$ 的差异有统计学意义($P < 0.05$), LVSP 显著升高($P < 0.01$);阳性对照组相较模型对照组,心功能 4 个指标均有显著改善($P < 0.05$);空白对照组相较模型对照组, $+dp/dt_{\text{max}}$ 显著上升($P < 0.01$),见表 2。

表 2 各组患者心功能的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	LVSP(mm Hg)	LVEDP(mm Hg)	$+dp/dt_{\text{max}}$ (mm Hg/S)	$-dp/dt_{\text{max}}$ (mm Hg/S)
模型对照组	8	79.99 \pm 6.64	10.43 \pm 3.64	3 070.00 \pm 241.60	3 300.00 \pm 271.19
空白对照组	8	87.87 \pm 13.02	9.21 \pm 2.32	3 607.00 \pm 467.86 ∇	3 557.00 \pm 559.92
阳性对照组	8	93.06 \pm 7.42 ∇	7.47 \pm 3.55*	4 075.00 \pm 238.32 ∇ \blacktriangle	3 781.00 \pm 465.31*
实验观察组	8	122.20 \pm 18.56 ∇ \blacktriangle $\#$	6.43 \pm 3.62 ∇ Δ	5 268.00 \pm 649.80 ∇ \blacktriangle	3 878.00 \pm 567.72 ∇

*: $P < 0.05$, ∇ : $P < 0.01$,与模型对照组比较; Δ : $P < 0.05$, \blacktriangle : $P < 0.01$,与空白对照组比较; #: $P < 0.01$,与阳性对照组比较。

2.2 心肌梗死边缘区 Cx43 表达的比较 心肌细胞 Cx43 阳性着色颗粒呈分散分布,闰盘区域及侧侧连接的胞膜上均可见,甚至有淡棕黄色的细颗粒存在于心肌细胞内。实验观察组

相较空白对照组、模型对照组,IOD 值的差异有统计学意义($P < 0.01$);阳性对照组相较空白对照组差异有统计学意义($P < 0.05$),相较模型对照组差异有统计学意义($P < 0.01$);空

白对照组相较模型对照组差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 心肌梗死边缘区 Cx43 表达(IOD 值) 的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Cx43
模型对照组	8	140.58 ± 14.96
空白对照组	8	165.49 ± 16.76*
阳性对照组	8	185.04 ± 20.33 ^{▽△}
实验观察组	8	192.80 ± 23.04 ^{▽▲}

*: $P < 0.05$, [▽]: $P < 0.01$, 与模型对照组比较; [△]: $P < 0.05$, [▲]: $P < 0.01$, 与空白对照组比较。

2.3 心肌 NKx2.5 表达水平的比较 实验观察组和阳性对照组 NKx2.5 有一定水平的表达, 单纯 MSCs 移植者次之, 而模型对照组则只有极弱的表达。半定量分析, 实验观察组相较空白对照组和模型对照组, 相对光密度值的差异有统计学意义($P < 0.01$); 阳性对照组相较空白对照组差异有统计学意义($P < 0.05$), 相较模型对照组差异有统计学意义($P < 0.01$); 空白对照组相较模型对照组差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 心肌 NKx2.5 的 RT-PCR 产物半定量相对光密度比值($\bar{x} \pm s$)

组别	n	NKx2.5
模型对照组	8	0.316 ± 0.093
空白对照组	8	0.486 ± 0.164*
阳性对照组	8	0.670 ± 0.127 ^{▽△}
实验观察组	8	0.729 ± 0.210 ^{▽▲}

*: $P < 0.05$, [▽]: $P < 0.01$, 与模型对照组比较; [△]: $P < 0.05$, [▲]: $P < 0.01$, 与空白对照组比较。

3 讨 论

养心通脉方, 由一定比例的人参、丹参、桂枝、枳实、泽泻等药物组成, 方中人参大补元气, 丹参活血化瘀, 桂枝温经通脉而助气化, 枳实理气而消痰, 泽泻利水而泄浊。该处方主次分明的配伍恰切中 AMI 本虚标实(气虚血瘀)的病机^[7]。从养心通脉方中提取到人参皂苷、人参多糖、丹参酮 II A、复方多糖、总生物碱、总挥发油等有效物质部位, 经过各有效成分部位的有效剂量配伍实验研究, 按照一定的固定比例而研制成为 apr-YTF, 已被证明具有良好的改善血液循环及抗心肌缺血作用^[8-9]。MSCs 移植能改善急性缺血心肌功能, 然而加入益气活血的 apr-YTF, 心功能改善更为明显, 甚至还优于加之动员 MSCs 归巢和促进血管、心肌细胞再生的 rhG-CSF。

Cx43 是构成相邻细胞间隙连接的连接蛋白家族中的一员, 心肌组织 Cx43 的表达甚多, 被认为是心脏间隙连接的特有组成成分。正常心肌 Cx43 经免疫组织化学法检测显示, 阳性颗粒分布较为密集而规律。缺血心肌, 形态即便尚属正常, 却已可见到严重分布紊乱的 Cx43 阳性颗粒, 其端-端相接处颗粒分散于侧-侧相接处, 甚至部分分散于细胞质中^[10], 本研究的结果与此相符。3 组使用了 MSCs 移植者, 相较于模型对照组, 心肌 Cx43 的阳性表达均有所增加, 说明 MSCs 移植能上调 Cx43 表达, 与文献报道一致^[11], 显示出较好的恢复梗死心肌心功能作用。实验观察组和阳性对照组表达最多, 组间差别

不明显。

NKx2.5 基因具有心脏显著特异性表达的特点, 开始表达于心肌细胞分化之前, 是所有脊椎动物心脏发生中最早表达的转录因子, 即心脏前体细胞最早的标志物。AMI 后 NKx2.5 表达下降, 7 d 后有所恢复^[12], 移植 NKx2.5 基因修饰后的 MSCs 能够改善 AMI 大鼠心功能^[13]。MSCs 是中胚层来源的具有多向分化能力的干细胞, 植入梗死的心肌组织后, 现已从形态学、心肌特异性蛋白的表达方面证实, MSCs 能分化为心肌细胞, 并与 AMI 微环境的诱导关系密切。本研究表明, 急性梗死心肌在 apr-YTF、rhG-CSF 和 MSCs 联合移植 28 d 后, 相较于单纯 MSCs 移植者, NKx2.5 的表达较多, 说明促进 NKx2.5 的表达与 apr-YTF 和 rhG-CSF 相关。rhG-CSF 是公认的促进 MSCs 分化的诱导剂, 本研究观察到, 实验观察组和阳性对照组的 NKx2.5 均高于模型对照组($P < 0.01$), 前者修复心功能还更佳, 说明 apr-YTF 的效应并不亚于 rhG-CSF。

本实验造模的大鼠具有 AMI 心血瘀阻证的中医证候特点^[14]。apr-YTF 可有效地改善心肌微循环, 促进血管新生^[15], 结合本研究, 可认为该方促进梗死心肌心功能恢复, 是因为切中了 AMI 心血瘀阻病机, 从而改善心血瘀阻微环境。相较 rhG-CSF 对 MSCs 的诱导, apr-YTF 对 MSCs 的作用主要在于改善存活的微环境, 促进梗死心肌修复效应略强而毒副作用甚微。在造模过程中, 大鼠 AMI 心脏变苍白, 搏动无力, 这是微观辨证“气虚血瘀”的证候特点, 据研究推测, Cx43 和 NKx2.5 的表达不足可能是 AMI 气虚血瘀证候的本质之一, apr-YTF 恰能提升二者的表达, 从而改善 AMI 气虚血瘀证候。

参考文献

- [1] 袁肇凯, 陈清华, 黄献平, 等. 养心通脉方有效成分部位的最佳剂量配伍抗急性心肌梗死的研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2008, 28(6): 21-25.
- [2] 刘敬霞, 李建生, 刘轲, 等. 脑脉通联合骨髓间充质干细胞移植对脑缺血大鼠神经营养因子表达的影响[J]. 时珍国医国药, 2013, 24(8): 1986-1989.
- [3] 易为丹, 李勇华. 急性心肌梗塞心血瘀阻证骨髓间充质干细胞动员的临床研究[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(9): 2273-2275.
- [4] 袁肇凯, 黄献平, 李勇华, 等. 养心通脉有效部位方动员骨髓间充质干细胞归巢大鼠梗死心肌的实验研究[J]. 中华中医药杂志, 2012, 27(9): 2321-2325.
- [5] 李勇华, 郑景辉, 王丽萍, 等. 养心通脉有效部位方动员心肌梗塞大鼠 MSCs 归巢及对心功能和病理的影响[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(9): 2167-2170.
- [6] 黄献平, 郑景辉, 袁肇凯, 等. 骨髓间充质干细胞移植大鼠缺血心肌后 GATA-4mRNA 的表达[J]. 湖南中医药大学学报, 2011, 31(9): 12-15.
- [7] 胡道堂. 急性心肌梗死心血瘀阻的病因病机探析[J]. 中国中医急症, 2010, 19(7): 1144-1145, 1186.
- [8] 郑景辉, 袁肇凯, 黄龙坚, 等. 养心通脉有效部位方对大鼠骨髓间充质干细胞作用蛋白组学的生物信息学分析[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2014, 16(11): 2460-2469.
- [9] 陈夏, 郑景辉, 李勇华, 等. 养心通脉有 (下转第 4767 页)

质, MMPs 家族中 MMP-2 在心肌组织中表达水平较高, 是心肌内抗纤维化的重要成分^[10]。基质金属蛋白酶抑制剂 (TIMPs) 能通过 N-末端功能区的半胱氨酸残基与 MMPs 催化活性中心的锌离子结合, 封闭其催化活性, 使有活性的 MMPs 失活, 或避免无活性的 MMPs 激活^[11]。在 TIMPs 家族中, TIMP-2 对 MMPs 的抑制作用最强。MMP-2 的天然抑制物 TIMP-2 也存在于心肌组织中, 并可通过与相应的 MMP-2 结合从而影响其活性, MMP-2/TIMP-2 的平衡对维持心肌正常的胶原代谢具有重要意义^[4-6]。已有研究发现, MMP-2 表达水平的降低及 TIMP-2 表达水平的升高参与了糖尿病大鼠心肌纤维化的进程^[1,3,12-13]。本研究发现, 与正常大鼠比较, 糖尿病大鼠心肌组织中Ⅲ型胶原降解减少, 出现胶原沉积, 且间质纤维化程度高, 此结果表明, 糖尿病大鼠存在明显的心肌重构和心肌纤维化; 而 MMP-2 表达水平显著降低, TIMP-2 表达水平显著升高, MMP-2/TIMP-2 的比值明显下降, 提示 MMP-2/TIMP-2 的失衡参与糖尿病心肌纤维化的过程。

H₂S 是继一氧化氮和一氧化碳之后的又一新型内源性气体信号分子^[7]。有研究表明, 内源性 H₂S 在心血管系统疾病具有多种生物学效应, 包括舒张血管平滑肌、降低血压、抑制心肌细胞凋亡、抑制血管平滑肌细胞增殖等^[7]。本实验表明, 糖尿病大鼠存在明显的心肌重构和广泛的心肌细胞纤维化, 而经过硫化氢处理后, 糖尿病大鼠心肌纤维化程度明显减轻, 且Ⅲ型胶原表达明显减少, 提示硫化氢作为内源性气体信号分子可能通过分子机制参与糖尿病心肌病的发生及发展过程, 而硫化氢的干预可减轻糖尿病大鼠的心肌纤维化, 进而延缓或阻止糖尿病心肌病的发生、发展, 改善糖尿病并发症的预后。实验同时发现, 硫化氢干预后糖尿病大鼠心肌组织 MMP-2 表达上调, TIMP-2 表达出现下调, 而 MMP-2/TIMP-2 的比值明显增加; 且Ⅲ型胶原表达、间质纤维化程度均较 STZ 组明显下降, 与 STZ+H₂S 组 MMP-2/TIMP-2 比值的升高变化相一致, 这些结果均表明硫化氢改善糖尿病心肌纤维化的作用机理可能是通过上调 MMP-2, 下调 TIMP-2 的表达, 增加 MMP-2/TIMP-2 的比值实现的。但其中的具体调控机制仍有待进一步的研究。

参考文献

- [1] 王岩, 郭永川, 梁前垒, 等. 参麦注射液对糖尿病心肌病大鼠心肌纤维化的干预作用及相关机制探讨[J]. 中国病理生理杂志, 2014, 30(3): 449-453.
- [2] 李袁静, 刘柳, 汪道文, 等. 四氢生物蝶呤对糖尿病小鼠心

肌损伤的保护作用[J]. 重庆医科大学学报, 2012, 37(6): 498-501.

- [3] Li CJ, Lv L, Li H, et al. Cardiac fibrosis and dysfunction in experimental diabetic cardiomyopathy are ameliorated by alpha-lipoic acid[J]. Cardiovasc Diabetol, 2012, 11(1): 73-78.
- [4] Kugler A. Matrix metalloproteinases and their inhibitors [J]. Anticancer Res, 1999, 19(2C): 1589-1592.
- [5] Kukacka J, Prusa R, Kotaska K, et al. Matrix metalloproteinases and their function in myocardium[J]. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub, 2005, 149(2): 225-236.
- [6] Polyakova V, Loeffler I, Hein S, et al. Fibrosis in endstage human heart failure: severe changes in collagen metabolism and MMP/TIMP profiles[J]. Int J Cardiol, 2011, 151(1): 18-33.
- [7] 李钢, 杨双强. 硫化氢对大鼠 MIR1 心肌细胞凋亡的影响及机制研究[J]. 重庆医科大学学报, 2011, 36(8): 932-936.
- [8] 徐文明, 郭润民, 陈景福, 等. 硫化氢通过调控 NF-κB 通路抑制阿霉素引起的心肌细胞炎症与细胞毒性[J]. 中国病理生理杂志, 2013, 29(9): 1561-1566.
- [9] Trachanas K, Sideris S, Aggeli C, et al. Diabetic cardiomyopathy: from pathophysiology to treatment[J]. Hellenic J Cardiol, 2014, 55(5): 411-421.
- [10] Peng J, Li X, Feng Q, et al. Anti-fibrotic effect of cordyceps sinensis polysaccharide. Inhibiting HSC activation, TGF-β1/Smad signalling, MMPs and TIMPs[J]. Exp Biol Med(Maywood), 2013, 238(6): 668-677.
- [11] Fan D, Takawale A, Basu R, et al. Differential role of TIMP2 and TIMP3 in cardiac hypertrophy, fibrosis, and diastolic dysfunction[J]. Cardiovasc Res, 2014, 103(2): 268-280.
- [12] Hou J, Zheng D, Zhong G, et al. Mangiferin mitigates diabetic cardiomyopathy in streptozotocin-diabetic rats [J]. Can J Physiol Pharmacol, 2013, 91(9): 759-763.
- [13] 焦岩. 益气活血复方对慢性心衰大鼠 MMP-2、TIMP-2 水平影响的实验研究[D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2013.

(收稿日期: 2015-05-11 修回日期: 2015-07-10)

(上接第 4764 页)

- 效部位方对 BMSCs 移植心血瘀阻证心肌的实验研究 [J]. 世界中医药, 2015, 10(1): 75-79.
- [10] 徐振平, 王华, 郭志坤, 等. 大鼠心脏缺血对间隙连接蛋白 Cx43 分布的影响[J]. 解剖学杂志, 2005, 28(6): 641-643.
 - [11] 李金轶, 钟国强, 柯红红, 等. 同种异体骨髓间充质干细胞移植上调急性心肌梗死大鼠 Cx43 的表达[J]. 基础医学与临床, 2010, 30(4): 337-342.
 - [12] 姜涛, 王春梅, 来仪, 等. 大鼠心肌发育相关基因在心肌梗死后的表达变化[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2004, 20(6): 833-837.

- [13] 赵东海, 张磊, 李大鹏. NKX2.5 基因修饰骨髓间充质干细胞对心肌梗死大鼠心功能的影响[J]. 中国医药导报, 2011, 8(32): 18-20, 封 3.
- [14] 简维雄, 陈清华, 黄献平, 等. 影响大鼠心梗模型存活率因素的实验研究[J]. 中华中医药学刊, 2012, 30(7): 1500-1502, 1697.
- [15] 袁肇凯, 莫莉, 黄献平, 等. 养心通脉有效部位方对心肌缺血大鼠心血管内皮细胞血管生成的影响[J]. 心血管康复医学杂志, 2009, 18(2): 180-184.

(收稿日期: 2015-05-18 修回日期: 2015-07-09)