

本文引用:孙涛,刘承鑫,李雅,郭志华,张彤瑜,魏佳明,易琼.益心泰方对慢性心力衰竭兔心肌组织 β -MHC mRNA及蛋白表达的影响[J].湖南中医药大学学报,2020,40(6): 679-684.

益心泰方对慢性心力衰竭兔心肌组织 β -MHC mRNA 及蛋白表达的影响

孙涛¹,刘承鑫²,李雅^{2*},郭志华²,张彤瑜²,魏佳明²,易琼¹

(1.湖南中医药大学第一附属医院,湖南长沙 410007;2.湖南中医药大学,湖南长沙 410208)

〔摘要〕目的 探讨益心泰方对慢性心力衰竭(chronic heart failure, CHF)兔模型心肌组织 β -肌球蛋白重链(β -myosin heavy chain, β -MHC) mRNA及其蛋白表达的影响。**方法** 采用缩窄腹主动脉法+丙基硫氧嘧啶灌胃建立CHF兔模型。将成模家兔随机分成模型组、益心泰低剂量组、益心泰中剂量组、益心泰高剂量组及氯沙坦钾组,另设假手术组。每组分别予以相应药物灌胃,模型组及假手术组予以生理盐水灌胃,每日1次,连续灌胃4周。采用ELISA法检测心房钠尿肽(atrial natriuretic peptide, ANP)、脑钠肽(brain natriuretic peptide, BNP)水平;超声心动图仪检测心功能指标;采用Western blot法检测心肌组织 β -MHC蛋白含量;RT-PCR法测定 β -MHC mRNA表达,并运用透射电镜观察心肌病理组织结构。**结果** 与假手术组比较,模型组ANP、BNP水平明显升高($P<0.01$);左室射血分数(LVEF)、左室短轴缩短率(LVFS)、E峰与A峰的比值(E/A)显著降低($P<0.01$); β -MHC蛋白及mRNA表达明显升高($P<0.01$);在电镜下观察,模型组心肌出现水肿、坏死等损伤表现。与模型组比较,各给药组ANP、BNP水平均显著下降($P<0.05$);各给药组LVEF、LVFS、E/A均显著升高($P<0.05$);各给药组 β -MHC蛋白及 β -MHC mRNA水平均显著降低($P<0.05$);在电镜下观察,各给药组心肌细胞损伤程度均得到改善。与益心泰低剂量组比较,益心泰中、高剂量组及氯沙坦钾组的上述检测指标均优于低剂量组($P<0.05$)。**结论** 益心泰方可有效抑制心肌组织 β -MHC蛋白及mRNA表达,降低ANP及BNP,改善心功能,从而发挥防治CHF的作用。

〔关键词〕 益心泰方;慢性心力衰竭; β -MHC蛋白;BNP;心肌组织

〔中图分类号〕R285.5

〔文献标志码〕A

〔文章编号〕doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2020.06.007

Effects of Yixintai Fang on Expression of β -MHC mRNA and Its Protein in Myocardial Tissues of Rabbits with Chronic Heart Failure

SUN Tao¹, LIU Chengxin², LI Ya^{2*}, GUO Zhihua², ZHANG Tongyu², WEI Jiaming², YI Qiong¹

(1. The First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China;

2. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

〔Abstract〕 Objective To explore the effects of Yixintai Fang on expression of β -myosin heavy chain (β -MHC) mRNA and its protein in myocardial tissues of rabbits with chronic heart failure (CHF). **Methods** Rabbit models of CHF were established by constricting abdominal aorta and giving propylthiouracil by gavage. Successfully modeled rabbits were randomly divided into a model group, a low-, middle-, and high-dose Yixintai Fang group and a losartan potassium group. Besides, a sham operation group was set up. The corresponding drug was given by gavage in each group. Normal saline was administered to rabbits of

〔收稿日期〕2020-01-06

〔基金项目〕国家自然科学基金项目(81673955);湖南省中医药科研计划项目(201833);湖南中医药大学一流学科开放基金项目(2018ZYX43)。

〔作者简介〕孙涛,男,主治医师,研究方向:心血管疾病的中医防治研究。

〔通讯作者〕*李雅,女,副教授,博士,硕士研究生导师,E-mail:liya112@163.com。

the model group and the sham operation group by gavage. The intervention lasted for 4 weeks, once per day. The levels of atrial natriuretic peptide (ANP) and brain natriuretic peptide (BNP) were detected by ELISA. The cardiac function was detected by echocardiography. The content of β -MHC protein was detected by Western blot. The expression of β -MHC mRNA was detected by RT-PCR. The myocardial pathological structure was observed by transmission electron microscopy. **Results** Compared with the sham operation group, the ANP and BNP levels of the model group were significantly increased ($P<0.01$). The LVEF, LVFS, and E/A of the model group were significantly decreased ($P<0.01$). mRNA and protein expression levels of β -MHC in myocardial tissues were increased significantly ($P<0.01$). Under the observation of electron microscope, the myocardial tissue in the model group presented edema, necrosis and other injury manifestations. Compared with the model group, the levels of ANP and BNP of each administration group decreased significantly ($P<0.05$). LVEF, LVFS, and E/A of each administration group increased significantly ($P<0.05$). Moreover, mRNA and protein expression levels of β -MHC in each administration group were significantly decreased ($P<0.05$). Under the observation of electron microscope, the damage degree of cardiomyocytes in each group was improved compared with that in the model group. Compared with the low-dose Yixintai Fang group, the above indexes of Yixintai middle-, high-dose group and losartan potassium group were all better than the low-dose group ($P<0.05$). **Conclusion** Yixintai Fang can effectively inhibit the expression of mRNA and protein expression of β -MHC, reduce ANP and BNP, improve cardiac function, and thus play a role in the prevention and treatment of CHF.

[**Keywords**] Yixintai Fang; chronic heart failure; β -MHC protein; BNP; myocardial tissues

随着社会水平的提高,我国人口老龄化日趋加剧,慢性心力衰竭(chronic heart failure, CHF)的发病率逐年上升,现已成为主要危害人类生命健康的疾病之一^[1]。心肌病理性重构被认为是心力衰竭最基本的病理生理机制^[2],而病理性心肌肥厚是心肌重构的重要表现形式之一。病理性心肌肥厚在一定条件下是可逆的^[3],而这种可逆性为临床改善心肌重构乃至心力衰竭提供了可能手段。近年来有研究^[4-5]表明,心肌肥厚的再表达与 β -肌球蛋白重链(β -myosin heavy chain, β -MHC)等肥大相关基因的表达增加有关。 β -MHC基因表达的增加,可加重心肌病理性重构,从而促使心力衰竭加剧。因此,降低 β -MHC肥大相关基因的表达,可能有助于改善心肌重构,进而有助于延缓心衰发展的进程。有研究^[6-7]表明,中医药改善慢性心衰疗效确切,且对于 β -MHC基因及其蛋白具有调节作用。益心泰方是湖南中医药大学郭志华教授用于治疗蛋白重链(MHC)的临床科研方^[8],前期临床观察及动物实验研究表明益心泰方对于CHF具有确切的疗效,对于心肌重构具有一定调节作用^[9-12],但其在治疗过程中具体的作用机制仍未完全阐明,因此需要继续深入研究。本研究将探讨益心泰方对CHF兔模型心肌 β -MHC蛋白、 β -MHC mRNA、心房钠尿肽(atrial natriuretic peptide, ANP)、脑钠肽(brain natriuretic peptide, BNP)、心功

能及心肌病理组织结构的影响。

1 材料与方法

1.1 动物

成年新西兰大白兔120只,体质量1.5~2.0 kg,雌雄各半,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证号:SYXK(京)2017-0033。实验场所由湖南中医药大学动物实验中心提供,室内温度21~23℃,湿度52%~60%,通风,分笼饲养,饲料及水均由中心提供。

1.2 药物

益心泰方由黄芪、红花、丹参、泽泻、猪苓、葶苈子组成,按3:1:1:2:1:1质量配比,中药饮片均购自湖南中医药大学第一附属医院。取益心泰方加入处方剂量10倍水,浸泡30 min后,煎煮2次,每次45 min,合并两次药液,过滤,浓缩至2.1 g/mL。氯沙坦钾(杭州默沙东制药有限公司,批号:20171020)。丙基硫氧嘧啶(精华制药集团股份有限公司,批号:31170303)。

1.3 主要试剂与仪器

β -MHC抗体(上海康朗生物科技有限公司,货号:KL15444R);GAPDH抗体(上海振誉生物科技有限公司,货号:bs-0755R-1);ANP ELISA检测试剂盒(江莱生物公司,货号:JL22215);BNP ELISA检

测试剂盒(eBioscience公司,货号:XY-1900);反转录试剂盒(Takara公司,货号:RR047A);SYBR Premix EX Taq TM II(Takara公司,货号:DRR820A);Trizol(Invitrogen公司,货号:15596-026);RIPA裂解液、PMSF(北京索莱宝生物科技有限公司);DYY-7C型电泳仪(北京市六一仪器厂);SYSTEM GelDoc XR+凝胶成像系统,iQ5 PCR仪(Bio-Rad公司);Sequoia 512超声心动图仪(西门子公司);Sigma 300扫描电镜(Carl Zeiss Vision公司)。

1.4 造模

120只新西兰家兔,随机选取20只作为假手术组,其余100只进行造模。参照文献[13]采用缩窄腹主动脉法建立CHF兔模型,将兔固定于手术台上,使用20%乌拉坦按5 mL/kg的剂量进行腹腔麻醉。沿腹部正中线逐层切开腹壁,在右侧肾动脉分支上方处分离出一段腹主动脉。用手术线将注射器针头和与之平行度腹主动脉一同结扎,其后将针头取出;假手术组同样予以开腹,但不需结扎腹主动脉。术后按标准饲料喂养,自由饮水。术后,对所有造模家兔进行丙基硫氧嘧啶灌胃,假手术组给予生理盐水灌胃,每日1次,连续6周。造模后,模型兔彩超提示左室射血分数(LVEF)、左室短轴缩短率(LVFS)、E峰与A峰的比值(E/A)显著降低($P<0.01$),并出现少动、气促、纳食减少、精神差等表现,说明造模成功。

1.5 分组与给药

将成模兔随机分模型组,氯沙坦钾组和益心泰低、中、高剂量组,另设假手术组。于实验第7周开始灌胃,假手术组和模型组给予等体积生理盐水灌胃,每日1次,连续4周;根据人体表面积换算法,将益心泰低、中、高剂量组分别按照2.1、4.2、8.4 g/(kg·d)剂量标准(分别相当于临床人用药剂量5、10、20倍),加生理盐水配制成悬浊液后灌服,给药体积均为10 mL/kg,每日1次,连续4周;氯沙坦钾组予氯沙坦钾2.73 mg/kg,溶于水后灌胃,每日1次,连续4周。造模和给药期间,模型组,益心泰低、中、高剂量组,氯沙坦钾组因麻醉意外等原因分别死亡6只、4只、5只、4只、3只,而假手术组死亡2只。

1.6 取材

连续给药4周后,使用彩色超声诊断仪检测家兔心功能,其后对所有实验家兔予以静脉采血,并采用空气栓塞法处死全部实验家兔,其后取家兔心肌

组织,约100 mg/份,以备指标检测。

1.7 观察指标

1.7.1 血清ANP、BNP水平检测 造模及治疗后,分别于所有实验兔耳缘静脉采血3 mL,根据试剂盒说明采用ELISA法检测血清ANP、BNP水平。

1.7.2 心功能指标检测 应用彩色超声诊断仪检测实验兔心功能指标:LVEF、LVFS、E/A。

1.7.3 心肌组织病理结构 取出各组兔模型心脏,剪取体积为3 mm×3 mm×3 mm大小的心肌组织,经过固定、漂洗、脱水、干燥、包埋、染色等一系列工序处理后,在透射电子显微镜下拍摄观察。

1.7.4 Western blot法检测心肌 β -MHC蛋白表达 取100 mg心肌组织加入裂解液,高速匀浆2~3 min,冰上放置20 min,收集裂解液,4℃、12 000 r/min离心15 min,吸取上清液,即为心肌组织蛋白,配制BCA工作液及SDS-PAGE浓缩胶与分离胶、上样,电泳,首先稳压80 V电泳约20 min,待样品进入分离胶后,调至稳压120 V,电泳至溴酚蓝到达凝胶底部时停止,其后进行转膜,待转膜结束后,用TBST液洗涤印迹膜3次,每次5 min,之后放入5%脱脂奶粉/TBST封闭液内,室温封闭1 h,分别加入稀释后抗体 β -MHC及GAPDH,经过一抗孵育、二抗孵育后及标记物显色等步骤后,显影成像,计算 β -MHC与GAPDH两者灰度值之间的比值,并将基础数值(假手术组)设置为1进行比较,从而得出各组最后结果。

1.7.5 RT-PCR法测定心肌 β -MHC mRNA表达 将100 mg心肌组织置于Trizol的匀浆管中,提取总RNA,并使用超微量分光光度计检测RNA纯度及浓度并定量。之后进行反转录合成cDNA。引物设计与合成: β -MHC上游:5'-CCACAACCAGTCAAGTTCG-3',下游5'-CTGGATGATCAGCAAGGAGT-3',PCR产物长度:190 bp;内参基因GAPDH上游:5'-GTCCCCGAGACACGATGGTGAAGGT-3',下游:5'-TTCTCAGCCTTGACCGTGCCG-3',PCR产物长度:199 bp。配制实时定量PCR反应体系:采用iQ5 PCR仪进行PCR扩增,扩增程序为:50℃酶激活2 min,95℃预变性2 min,95℃变性3 s,60℃退火30 s,共40个循环,然后72℃、10 min,扩增完成后行溶解曲线检测,验证扩增产物特异性,之后计算并分析每个样本相应的Ct值,并将基础

数值(假手术组)设置为1进行比较,从而得出各组最后结果。

1.8 统计学方法

采用 SPSS 21.0 统计软件进行分析,计量资料以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,组间比较若满足正态性检验、方差齐性,则使用 ANOVA 法分析,若不符合正态分布、方差齐性,采用 Kruskal-Wallis H 进行统计处理,组与组之间两两比较可采用 LSD 法。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 益心泰方对兔血清 ANP、BNP 水平的影响

与假手术组比较,模型组家兔 ANP、BNP 水平显著升高($P<0.01$);与模型组相比,益心泰低、中、高剂量组及氯沙坦钾组均能降低 ANP、BNP 水平($P<0.05$),且益心泰中、高剂量组和氯沙坦钾组优于益心泰低剂量组($P<0.05$)。见表 1。

表 1 各组兔血清 ANP、BNP 水平 (ng/mL, $\bar{x}\pm s$)

组别	n	ANP	BNP
假手术组	18	62.76±1.41	33.99±2.12
模型组	14	154.69±6.19 ^{△△}	109.77±2.98 ^{△△}
益心泰低剂量组	16	144.40±8.67*	92.07±3.81*
益心泰中剂量组	15	134.01±4.40* [▲]	86.70±2.58* [▲]
益心泰高剂量组	16	123.29±9.29* [▲]	79.59±2.54* [▲]
氯沙坦钾组	17	111.48±3.90* [▲]	78.13±2.79* [▲]

注:与假手术组比较,△△ $P<0.01$;与模型组比较,* $P<0.05$;与益心泰低剂量组比较,▲ $P<0.05$

2.2 益心泰方对兔心功能指标的影响

与假手术组比较,模型组家兔 LVEF、LVFS、E/A 下降显著($P<0.01$),提示造模成功。与模型组相比,益心泰低、中、高剂量组,氯沙坦钾组均能提高 LVEF、LVFS、E/A 水平($P<0.05$);且益心泰中、高剂量组和氯沙坦钾组优于益心泰低剂量组($P<0.05$)。见表 2。

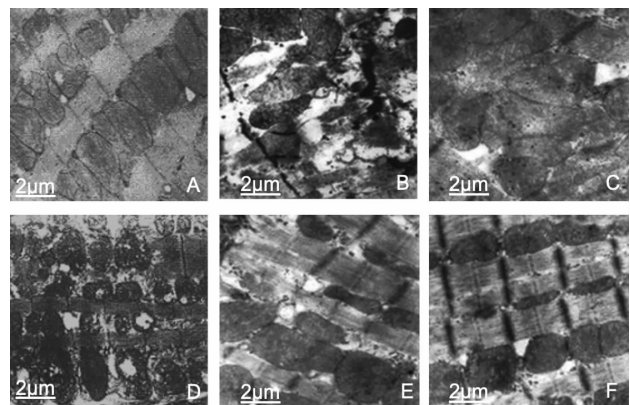
表 2 各组兔心功能指标 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	LVEF/%	LVFS/%	E/A
假手术组	18	71.43±1.86	42.99±2.03	1.46±0.08
模型组	14	44.89±2.50 ^{△△}	22.10±2.33 ^{△△}	0.63±0.04 ^{△△}
益心泰低剂量组	16	55.55±4.76*	30.26±1.63*	0.79±0.03*
益心泰中剂量组	15	60.57±2.26* [▲]	33.26±1.48* [▲]	0.84±0.06* [▲]
益心泰高剂量组	16	64.21±4.55* [▲]	37.88±1.27* [▲]	0.93±0.03* [▲]
氯沙坦钾组	17	65.39±2.43* [▲]	39.12±0.94* [▲]	0.98±0.06* [▲]

注:与假手术组比较,△△ $P<0.01$;与模型组比较,* $P<0.05$;与益心泰低剂量组比较,▲ $P<0.05$

2.3 益心泰方对兔心肌组织超微结构的影响

假手术组可见:肌原纤维排列整齐、紧密,密度均匀一致,肌丝排列整齐,肌节、Z 线及 M 线清晰,线粒体丰富且结构清晰,嵴密集排列,线粒体膜完整,间质无变化。模型组可见:心肌超微结构中肌原纤维溶解、坏死,Z 线及 M 线模糊不清,只残留肌原纤维轮廓,线粒体肿胀、变性,有空泡样改变,嵴变疏短,线粒体膜不完整。经用药 4 周后,各治疗组心肌结构均较模型组有所改善,肌原纤维溶解、坏死范围缩小,线粒体的结构也有不同程度的改善。益心泰低剂量组:心肌肌丝稀疏,心肌纤维可见溶解、坏死,线粒体固缩,结构模糊,有空泡样改变,膜不完整。益心泰中剂量组:心肌肌原纤维出现部分溶解、坏死,线粒体稍肿胀,部分空泡化。益心泰高剂量组:心肌肌纤维各带较为鲜明,肌小节明显,Z 线及 M 线较清晰,线粒体排列较规则,部分线粒体变细,部分空泡化。氯沙坦钾组:心肌肌丝呈现出局灶性溶解,线粒体结构大致完整。见图 1。

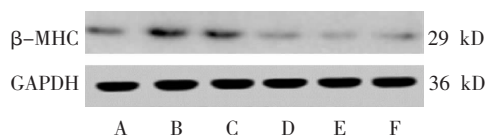


注:A.假手术组;B.模型组;C.益心泰低剂量组;D.益心泰中剂量组;E.益心泰高剂量组;F.氯沙坦钾组

图 1 各组兔心肌组织超微结构图(双重染色,电镜放大倍数×10 000)

2.4 益心泰方对 β -MHC mRNA 及 β -MHC 蛋白表达的影响

与假手术组比较,模型组 β -MHC 蛋白、 β -MHC mRNA 表达升高,差异有显著统计学意义($P<0.01$),提示造模成功;与模型组比较,益心泰低、中、高剂量组及氯沙坦钾组 β -MHC 蛋白、 β -MHC mRNA 表达均有所下降,差异具有统计学意义($P<0.05$);且益心泰中、高剂量组和氯沙坦钾组优于益心泰低剂量组($P<0.05$)。见图 2-3,表 3。



A.假手术组;B.模型组;C.益心泰低剂量组;D.益心泰中剂量组;
E.益心泰高剂量组;F.氯沙坦钾组

图 2 各组 β -MHC 蛋白表达条带

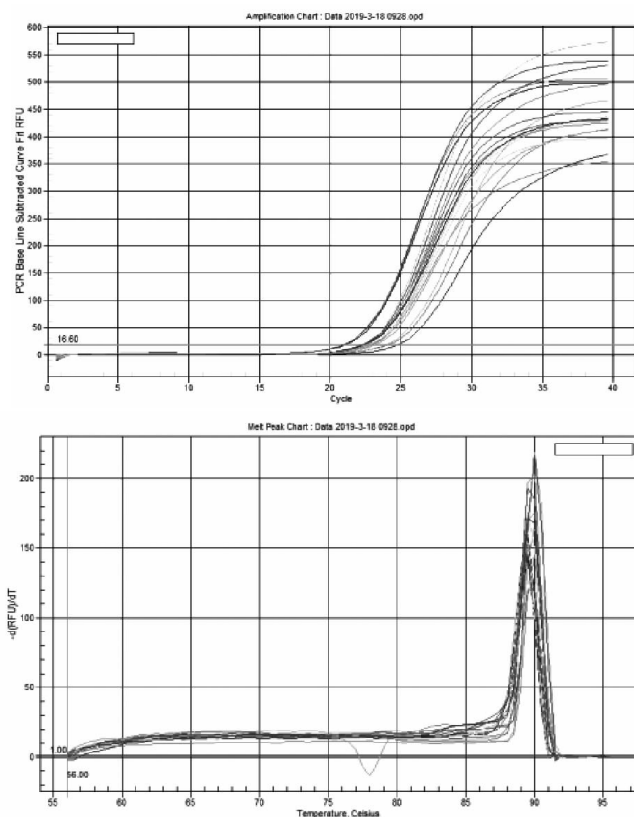


图 3 各组 β -MHC mRNA 表达水平扩增曲线(上)与溶解曲线(下)

表 3 各组兔心肌组织 β -MHC 蛋白及 β -MHC mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	β -MHC 蛋白/GAPDH	β -MHC mRNA
假手术组	18	1.02 \pm 0.03	1.19 \pm 0.14
模型组	14	2.05 \pm 0.04 $\Delta\Delta$	5.16 \pm 0.25 $\Delta\Delta$
益心泰低剂量组	16	1.54 \pm 0.03*	3.60 \pm 0.23*
益心泰中剂量组	15	1.08 \pm 0.04* \blacktriangle	3.23 \pm 0.27* \blacktriangle
益心泰高剂量组	16	1.06 \pm 0.03* \blacktriangle	1.94 \pm 0.86* \blacktriangle
氯沙坦钾组	17	0.97 \pm 0.06* \blacktriangle	1.74 \pm 0.18* \blacktriangle

注:与假手术组比较, $\Delta\Delta P<0.01$,与模型组比较,* $P<0.05$,与益心泰低剂量组比较, $\blacktriangle P<0.05$

3 讨论

CHF 是众多心血管疾病所引起的心脏结构和功能性的病变,使心室收缩、舒张功能发生障碍,进而导致一系列复杂的临床综合征^[14]。心肌病理性肥厚是心肌重构重要的病理生理机制表现之一,也是

导致心衰的病理生理机制之一。心肌细胞肥大和蛋白质合成增加是心肌病理性肥厚的主要特点^[15]。心肌肌球 MHC 可分为 α -MHC 和 β -MHC,是决定心脏收缩力和收缩速度的重要因素^[16]。心肌肥厚与 β -MHC 基因过度表达有关^[17],有研究^[18]表明,以 β -MHC 为特征的心肌重构,可促进心力衰竭的病情进展。其具体机制为:当心肌细胞受到各种刺激后,心肌细胞内包括 β -MHC 在内的各种基因被激活,促使心肌肥厚表型的再表达^[19],从而导致心肌肥大, β -MHC 蛋白增多使心肌肥厚、心肌纤维收缩力受损,进而造成心脏结构发生持续性改变,心功能则因此明显下降,从而导致并加重 CHF。在心肌重构的进展过程中,心肌细胞会产生 ANP、BNP,研究表明 ANP、BNP 与 CHF 程度呈正相关^[20],因此,该两项指标常用以评估 CHF 的进展情况。

本研究采用缩窄腹主动脉法+丙基硫氧嘧啶灌胃建立 CHF 兔模型。CHF 兔模型组 β -MHC 蛋白及 mRNA 表达明显升高($P<0.01$);ANP、BNP 水平明显升高($P<0.01$);LVEF、LVFS、E/A 显著降低($P<0.01$);电镜下示,模型组心肌超微结构可见肌原纤维溶解、坏死,线粒体肿胀、变性,有空泡样改变,线粒体膜不完整,心肌发生坏死、溶解。以上结果说明 CHF 兔模型心肌受损,心功能下降,CHF 兔模型造模成功。用药 4 周后,益心泰低、中、高剂量组和氯沙坦钾组 ANP、BNP 降低($P<0.05$),心肌组织 β -MHC 蛋白及 mRNA 表达降低($P<0.05$),LVEF、LVFS、E/A 升高($P<0.05$),且电镜结果显示,心肌肌丝仅出现局灶性坏死、溶解,说明益心泰方可有效降低 ANP 及 BNP 水平,抑制心肌组织 β -MHC 蛋白及 mRNA 的表达,改善心肌超微结构,提高心功能。

CHF 的临床症状与体征,与中医学“心痹”“心水”“水肿”等病类似,故而往往从以上病症论治。该病病性为本虚标实,本虚主要为气(阳)虚,标实主要为血瘀、水湿^[21],因此,抓住其气虚血瘀水停这一病机则是治疗 CHF 的关键。针对这一病机,补益元气、活血化瘀、利水消肿为治疗 CHF 的主要中医治法。益心泰方主要由黄芪、丹参、红花、葶苈子、泽泻、猪苓等组成。该方中黄芪具有补气温阳、利水消肿之功,为益气行水之要药;人参为甘温之品,具有补益元气的功效,与黄芪相配伍,可增强益气之功,共为君药;丹参、红花相配伍,具有活血化瘀通络的作用,

共为臣药,与黄芪、人参合用,既可益气,又可活血,使得血瘀得以消除,此为治疗心衰之基础;茯苓、猪苓、泽泻、葶苈子均为利水之要药,可入上、中、下三焦而利三焦之水湿,与人参、黄芪相伍,化水湿而有力,进而使得利水消肿之功得以增强,是为佐药。全方相伍共奏补益元气、活血化瘀、利水消肿之功,达到元气充盈、血行通畅、水瘀尽除的效果,从而改善心衰。

综上所述,益心泰方可通过下调 β -MHC mRNA及其蛋白表达水平,以改善心肌重构,提高心功能,进而延缓CHF进程。这可能是益心泰方调节CHF的作用机制之一,但CHF的发病机制复杂,本实验仅通过 β -MHC蛋白这一主要指标进行相关研究,尚不能完全解释益心泰方的作用机制。故而对CHF的研究,应逐步深入,选择全面又密切相关的指标,综合阐释益心泰方的作用机制。

参考文献

- [1] 秦晓毅,卢新政.2010年NICE慢性心力衰竭诊治指南更新的解读[J].心血管病学进展,2011,32(4):490-492.
- [2] SHAH A M, MANN D L. Heart Failure 1 In search of new therapeutic targets and strategies for heart failure: recent advances in basic science[J]. Lancet, 2011, 378(9792): 704-712.
- [3] OKA T, AKAZAWA H, NAITO A T, et al. Angiogenesis and cardiac hypertrophy: Maintenance of cardiac function and causative roles in heart failure[J]. Circulation Research, 2014, 114(3): 565-571.
- [4] 熊肇军,董吁钢.心肌肥厚的研究进展[J].中国医学前沿杂志(电子版),2013,5(4):17-22.
- [5] 赵智明,张群燕,董晓蕾,等.补肾复方对压力负荷增加大鼠心肌 α -MHC和 β -MHC基因表达的影响[J].上海中医药大学学报,2010,24(2):72-75.
- [6] 王臻,李洁白,董昕,等.补阳还五汤对舒张性心衰大鼠心肌 α -MHC、 β -MHC、Drp1 mRNA及线粒体超微结构的影响[J].北京中医药大学学报,2018,41(12):1002-1006.
- [7] 尹慧丝,高天舒.扶正软坚散结法对甲减大鼠心肌 α -MHC和 β -MHC mRNA表达的影响[J].辽宁中医药大学学报,2012,14(6):21-25.
- [8] 郭慧芳,郭志华教授运用益心泰治疗心衰经验介绍[J].中医药导报,2014,20(7):151-151.
- [9] 郭志华,齐婧,申思,等.益心泰对急性心肌梗死患者ALD水平的影响[J].湖南中医杂志,2012,28(5):10-11,15.
- [10] 李雅,郭志华,唐云,等.益心泰方对慢性心衰血清Ang II、ALD及BNP的影响[J].中医药导报,2015,21(13):52-53.
- [11] 唐云,郭志华,李雅,等.益心泰方对慢性心力衰竭兔肾髓质AQP2蛋白及mRNA表达的影响[J].中国中西医结合杂志,2015,35(3): 333-337.
- [12] 郭志华,吴刚强,李雅,等.益心泰方对慢性心力衰竭兔 Ca^{2+} -CaN-NFAT₃信号通路的影响[J].湖南中医药大学学报,2015,35(3): 9-11.
- [13] 赵康.速度向量成像技术评价腹主动脉缩窄致高血压兔模型心功能演变的实验研究[D].长沙:中南大学,2010.
- [14] 中华医学会心血管病学分会心力衰竭学组,中国医师协会心力衰竭专业委员会中华心血管病杂志编辑委员会.中国心力衰竭诊断和治疗指南2018[J].中华心血管病杂志,2018,46(10):760-789.
- [15] BURCHFIELD J S, XIE M, HILL J A. Pathological ventricular remodeling: Mechanisms: Part 1 of 2[J]. Circulation, 2013, 128(4): 388-400.
- [16] WANG J, GUO X, DHALLA N S. Modification of myosin protein and gene expression in failing hearts due to myocardial infarction by enalapril or losartan[J]. BBA-Molecular Basis of Disease, 2004, 1690(2): 177-184.
- [17] FERNANDES A R, ROMARODRIGUES C. Genetics of hypertrophic cardiomyopathy: advances and pitfalls in molecular diagnosis and therapy[J]. Application of Clinical Genetics, 2014, 7(10): 195-208.
- [18] 杨瑞霞,陈如泉.温肾方对亚临床甲状腺功能减退模型大鼠心肌肌球蛋白重链基因表达的影响[J].山西中医,2014,30(7):49-51.
- [19] DOMENICO M D, CASADONTE R, RICCI P, et al. Cardiac and skeletal muscle expression of mutant β -myosin heavy chains, degree of functional impairment and phenotypic heterogeneity in hypertrophic cardiomyopathy[J]. Journal of Cellular Physiology, 2012, 227(10): 3471-3476.
- [20] 刘鹏,蔡淑玉,唐小龙.心力衰竭患者Copeptin、BNP、NT-proBNP、ANP分子的检测及其临床意义[J].热带病与寄生虫学,2013,11(4):193-196.
- [21] 陈可冀,吴宗贵,朱明军,等.慢性心力衰竭中西医结合诊疗专家共识[J].心脑血管病防治,2016,16(5):340-347.

(本文编辑 苏维)