

· 基础研究 ·

心复力颗粒对阿霉素致扩张型心肌病心力衰竭大鼠心肌细胞凋亡的影响

沈启明¹ 马丽红¹ 王少霞² 李 杨² 张瑞华¹

摘要 目的 探讨心复力颗粒对阿霉素(adriamycin,ADR)致扩张型心肌病(dilated cardiomyopathy,DCM)心力衰竭大鼠心肌细胞凋亡的影响。方法 72 只 SD 大鼠随机分为正常组,模型组,厄贝沙坦组,心复力颗粒低、中、高剂量组,除正常组外均予 ADR 腹腔注射制备 DCM 心衰大鼠模型,正常组注射等量生理盐水,每周 1 次,持续 6 周。从注射 ADR 第 5 周各组开始灌胃给药,将心复力颗粒用蒸馏水配成 0.5 g/mL 的混悬液,心复力颗粒低、中、高剂量组的灌胃剂量分别为 0.675、1.350、2.700 g/(kg·d),厄贝沙坦组剂量为 50 mg/(kg·d),正常组和模型组给予与中剂量组等量生理盐水,每天上午灌胃 1 次,连续给药 4 周。用原位末端转移酶标记(terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling,TUNEL)技术法检测大鼠心肌细胞凋亡,免疫组化方法检测心肌细胞 Bcl-2、Bax 蛋白表达。结果 与正常组比较,模型组心肌细胞凋亡率和 Bax 蛋白表达明显升高,Bcl-2 蛋白表达水平及 Bcl-2/Bax 比值明显下降($P < 0.05$)。与模型组比较,心复力颗粒高剂量组和厄贝沙坦组 Bcl-2 表达水平及 Bcl-2/Bax 比值显著升高($P < 0.01$);心复力颗粒各剂量组和厄贝沙坦组 Bax 蛋白表达水平明显下降($P < 0.01$)。结论 心复力颗粒能明显减轻 DCM 心衰大鼠心肌细胞凋亡,逆转心脏重构的发生、发展,其机制可能与调控 Bcl-2、Bax 蛋白表达有关。

关键词 扩张型心肌病;心力衰竭;心复力颗粒;细胞凋亡;Bcl-2;Bax

Effects of Xinfuli Granule on Cardiomyocyte Apoptosis in Rats with Dilated Heart Failure Induced by Adriamycin SHEN Qi-ming¹, MA Li-hong¹, WANG Shao-xia², LI Yang², and ZHANG Rui-hua¹
1 Department of Traditional Chinese Medicine, Fuwai Hospital, Peking Union Medical College & Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing (100037), China; 2 Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Beijing (100850), China

ABSTRACT Objective To investigate the effects of Xinfuli Granule (XG) on cardiomyocyte apoptosis in rats with adriamycin-induced dilated cardiomyopathy (DCM). Methods Seventy-two male SD rats were randomly divided into 6 groups, i.e., the normal control group, the model group, the irbesartan group, the low dose XG group, the medium dose XG group, and the high dose XG group. The DCM heart failure rat model was established using peritoneal injection of ADR. Equal volume of normal saline was injected to those in the normal control group, once per week for 6 consecutive weeks. The medication was started from the 5th week by gastrogavage. XG was dispensed into 0.5 g/mL suspension with distilled water. The XG was administered at the daily dose of 0.675 g/kg, 1.350 g/kg, and 2.700 g/kg to those in the low dose XG group, the medium dose XG group, and the high dose XG group, respectively. Irbesartan was administered to rats in the irbesartan group at the daily dose of 50 mg/kg. Equal volume of normal saline was administered to those in the normal control group and the model group by gastrogavage, once in

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81071177)

作者单位:1. 中国医学科学院北京协和医学院阜外心血管病医院中医科(北京 100037) 2. 军事医学科学院放射与辐射医学研究所(北京 100850)

通讯作者:马丽红, Tel: 13901395718, E-mail: mlh4463@163.com

the morning for 4 consecutive weeks. Myocardial apoptosis was measured by terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL), and the expressions of the Bcl-2 and Bax protein of cardiomyocytes were measured by immunohistochemical assay. Results Compared with the normal control group, the cardiomyocyte apoptosis rate and Bax expression level obviously increased, but the expression of Bcl-2 and the Bcl-2/Bax ratio decreased significantly in the model group ($P < 0.05$). Compared with the model group, the expression of Bax and the Bcl-2/Bax ratio increased significantly in the high dose XG group and the irbesartan group ($P < 0.01$). The Bax expression level obviously decreased in all groups except the normal control group ($P < 0.01$). Conclusions XG could obviously attenuate cardiomyocyte apoptosis in the adriamycin-induced DCM rats, and reverse the occurrence and development of heart reconstruction. The underlying mechanism might be related to regulating and controlling the expressions of Bax and Bcl-2.

KEYWORDS dilated cardiomyopathy; heart failure; Xinfuli Granule; apoptosis; Bcl-2; Bax

近年来的研究表明:心力衰竭(heart failure, HF)发生时左室功能的不断恶化是心肌细胞凋亡和(或)剩余的心肌细胞收缩功能代偿不足的结果。细胞凋亡在 HF 的发生发展中起着重要的作用,抑制心肌细胞凋亡能减轻心肌重构和衰竭的程度^[1]。心复力颗粒是我院名医丁鸣九先生治疗慢性 HF 的经验方改良制剂,前期研究^[2]证实:该药可明显提高扩张型心肌病(dilated cardiomyopathy, DCM)所致 HF 患者心功能,对大鼠心肌细胞和内皮损伤具有显著保护作用,能够延缓或逆转其心室重构。为进一步探讨其作用机制,本实验拟通过对阿霉素(adriamycin, ADR)致 DCM 心衰大鼠模型进行药物干预研究,观察心复力颗粒对 HF 大鼠心肌细胞凋亡的影响。

材料与方 法

1 材 料

1.1 实验动物与分组 健康雄性 SD 大鼠 72 只,清洁级,体重(200 ± 20)g,由军事医学科学院动物实验中心提供,动物许可证号:SCXK-(军 2007-004)。用随机数字表法将 72 只大鼠分为 6 组:即正常组,模型组,心复力颗粒低、中、高剂量组及厄贝沙坦组,每组 12 只。

1.2 药物及试剂 药物:ADR:深圳万乐药业有限公司生产(产品批号:1103E2;规格:10 mg/瓶),4℃保存;心复力颗粒(由黄芪、人参、丹参、三棱、葶苈子、木瓜、焦槟榔、麦冬等组成,以水煎煮、真空浓缩、喷雾干燥、干式制粒,每包 5 g,含生药量 18.1 g)为阜外医院内部制剂,临用前用蒸馏水配成混悬液;厄贝沙坦(irbesartan, Irb):杭州赛诺菲安万特民生制药有限公司生产(生产批号:1A255,规格:0.15 g)。试剂:原位末端转移酶标记(terminal deoxynucleotidyl

transferase-mediated dUTP nick end labeling, TUNEL)试剂盒:武汉博士德生物工程有限公司;DAB 显色剂:北京中杉金桥生物技术有限公司生产;鼠抗 Bcl-2 IgG 及鼠抗 Bax IgG:美国 Santa Cruz 公司生产;其他化学分析试剂均为分析纯。

1.3 仪器设备 RM2135 病理切片机(德国 Leica 公司),CMIAS-II 图像分析仪(北京航空航天大学),KA-1000 台式离心机(上海市金坛医疗仪器厂)。

2 方 法

2.1 模型建立 参照 Nithipongvanitch R 等^[3]方法制备 DCM 心衰大鼠模型,将注射用 ADR 用生理盐水配成 2 mg/mL 溶液,60 只造模大鼠均腹腔注射 ADR 2.5 mg/kg,正常组 12 只大鼠腹腔注射等量的生理盐水,每周 1 次,共 6 次。造模动物分笼饲养,常规进食及饮水。参考文献[4]:6 周时造模各组随机选取其中 1 只做病理检测以确定模型是否成功。光学显微镜下观察心肌组织,见心肌纤维排列紊乱、溶解、断裂,胞质呈溶解状态,心肌细胞间隙明显增宽、水肿,部分空泡变性;或有红细胞沉积,中性粒细胞、单核细胞及淋巴细胞浸润;伴胸水、腹水、腹腔内脏器粘连。造模各组随机取 2 只做心脏超声,检测左室舒张期末径(left ventricular end diastolic diameter, LVEDD)、左室收缩期末径(left ventricular end diastolic diameter, LVESD)、左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)、左室短轴缩短率(fraction shortening, FS),与正常组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),即造模成功。

2.2 给药 从注射 ADR 第 5 周开始灌胃给药,各组给药剂量按体表面积换算法换算为大鼠的相应剂量。将心复力颗粒用蒸馏水配成 0.5 g/mL

的混悬液,心复力颗粒低、中、高剂量组的灌胃剂量分别为 0.675、1.350、2.700 g/(kg·d),厄贝沙坦组剂量为 50 mg/(kg·d),正常组和模型组给予与中剂量组等量的生理盐水,每天上午灌胃 1 次,连续给药 4 周。

2.3 指标检测 末次给药后禁食水 12 h,以 5% 水合氯醛按 4 mL/kg 麻醉后称重,并仰卧固定好,开胸取出心脏,用冰浴生理盐水冲洗,用滤纸吸干水份,取左室前壁心肌部分组织浸泡于 10% 甲醛溶液中留待做病理检查,余组织大体切片后放于液氮罐中待用。

2.3.1 病理学观察 将待测左室前壁标本用 10% 中性缓冲甲醛液固定 18 h 后脱水、浸蜡、石蜡包埋。连续切片 4 μm 厚,经苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色,光镜下(10×20)进行病理学观察。参考文献[5],采用以下分级标准定量损伤程度:0 级:正常心肌;I 级:左室心内膜下有小灶性坏死,以修复反应为主,多为淋巴细胞和纤维细胞;II 级:左室有小灶性及条索状坏死,与健存心肌交错,无片状坏死,坏死累及心内膜下 1/3~2/3,以修复反应为主,右室亦有小灶性坏死;III 级:左室有散在片状坏死,透壁性,累及心内膜下 1/3~3/4,心肌细胞溶解消失,有较少的修复反应,右室亦有散在灶性坏死;IV 级:左室有片状心肌坏死,透壁性,坏死累及环周 2/3 以上,心肌细胞大片溶解消失,修复反应差,右室亦有灶性坏死。

2.3.2 心肌细胞凋亡检测 取左室心肌部分组织,10% 中性甲醛固定,常规石蜡包埋,切片 4 μm 厚,采用 TUNEL 法严格按试剂盒说明完成,以 DAB 显色,苏木精对比染色。应用 CMIAS-II 图像分析仪在 10×40 倍视野下,所有大鼠每张切片随机选取 5 个视野,随机不重复计数 100 个心肌细胞。判定标准:细胞核中有棕黄色颗粒者为阳性细胞,即凋亡细胞。核蓝染者为阴性细胞,即正常心肌细胞。凋亡率(%) = 凋亡阳性细胞数/总细胞数 × 100%。

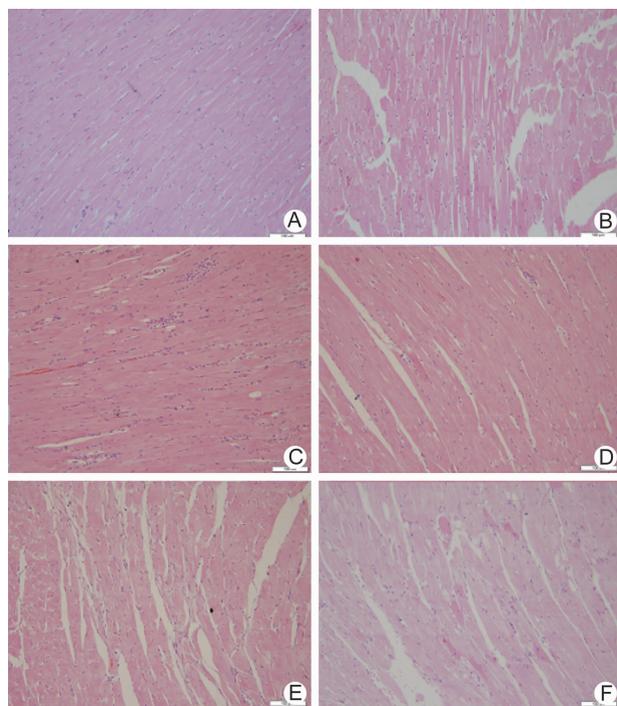
2.3.3 心肌细胞 Bax、Bcl-2 蛋白检测 采用免疫组化法结合图像分析半定量测定,严格按照说明书进行操作,免疫组化具体步骤同上。采用 CMIAS-II 图像分析仪分析各视野的平均光密度值。所有大鼠每只选 10 个视野,显微镜 10×40 倍下应用图像分析系统测量平均光密度值,然后计算均值作为此组的代表值。蛋白表达阳性判定标准:Bcl-2 和 Bax 均位于胞浆内,以胞浆呈棕黄色为 Bcl-2 和 Bax 蛋白阳性表达。

3 统计学方法 采用 SPSS 19.0 软件进行统计学处理,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析法,两两比较采用 LSD 检验法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 一般情况 造模过程中正常组大鼠毛色有光泽,行动敏捷,对周围变化反应灵敏;其余组大鼠逐渐出现毛色枯槁、散乱竖起,脱毛,懒动,少食,腹泻,口唇紫绀等症状和体征,体重逐渐下降,第 4 周开始部分大鼠出现腹水和死亡;第 6 周时症状和体征更加明显;第 8 周实验结束时,正常组全部存活,模型组死亡 4 只,心复力颗粒低剂量组死亡 4 只,中剂量组死亡 2 只,高剂量组死亡 3 只,厄贝沙坦组死亡 2 只。光学显微镜下观察死亡大鼠心肌组织,见心肌纤维排列紊乱、溶解、断裂,胞质呈溶解状态,心肌细胞间隙明显增宽、水肿,部分空泡变性;或有红细胞沉积,中性粒细胞、单核细胞及淋巴细胞浸润;伴胸水、腹水、腹腔内脏器粘连。

2 各组大鼠心肌细胞病理形态学变化比较(图 1) 光学显微镜下观察心肌组织,正常组(图 A)心肌细胞形态正常,纹理清晰,无心肌细胞坏死和纤维增



注:A 为正常组;B 为模型组;C 为心复力颗粒低剂量组;D 为心复力颗粒中剂量组;E 为心复力颗粒高剂量组;F 为厄贝沙坦组

图 1 各组大鼠心肌细胞病理形态学变化比较 (HE 染色,10×20)

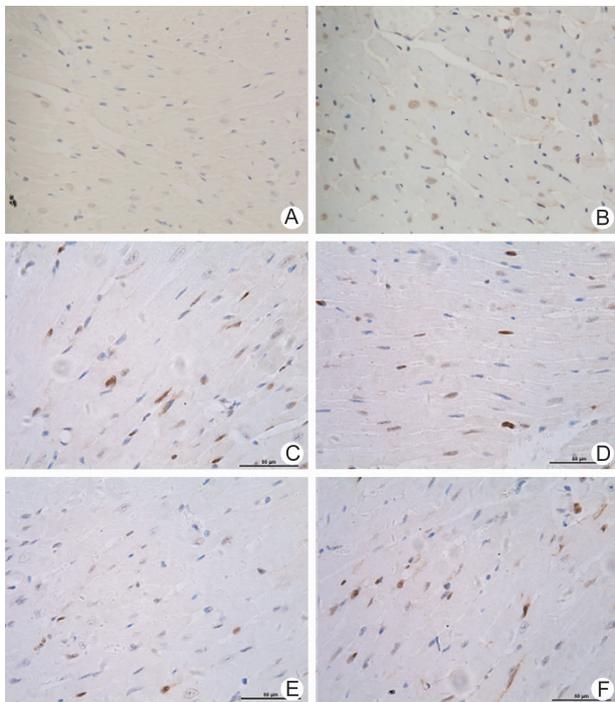
生;模型组(图 B)可见心肌有片状坏死,透壁性,心肌细胞大片溶解消失,心肌纤维波浪形,空泡变性,嗜酸性变性,间质纤维化,左室修复反应差;心复力颗粒低、中剂量组(图 C、D)以小灶性及条索状坏死与健存心肌交错,无片状坏死,均质化嗜酸性改变为主;心复力颗粒高剂量组(图 E)虽然可见变性和纤维化等改变,但均为轻微改变。厄贝沙坦组(图 F)心肌改变也主要表现为心肌空泡变性和嗜酸性变性,与心复力颗粒组比较无明显差别。

3 各组大鼠心肌细胞凋亡情况及凋亡率比较(表 1,图 2) 正常组(图 A)心肌切片偶尔可见凋亡细胞;模型组(图 B)大鼠心肌细胞凋亡严重,呈孤立、散在分布,棕褐色胞核数量明显增多,与正常组比较,细胞凋亡率显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,心复

表 1 各组大鼠心肌细胞凋亡率比较 ($\%, \bar{x} \pm s$)

组别	n	细胞总数	凋亡率
正常	12	500	3.50 ± 0.46
模型	8	500	17.12 ± 1.99*
心复力颗粒低剂量	8	500	10.37 ± 1.93 [△]
心复力颗粒中剂量	9	500	9.43 ± 1.39 [△]
心复力颗粒高剂量	8	500	7.85 ± 0.53 [△]
厄贝沙坦	9	500	10.54 ± 2.07 [△]

注:与正常组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较,[△] $P < 0.01$



注:A为正常组;B为模型组;C为心复力颗粒低剂量组;D为心复力颗粒中剂量组;E为心复力颗粒高剂量组;F为厄贝沙坦组

图 2 各组大鼠心肌细胞凋亡情况比较 (TUNEL法,10×40)

力颗粒各剂量组(图 C、D、E)及厄贝沙坦组(图 F)凋亡细胞明显减少,凋亡率显著下降($P < 0.01$),其中高剂量组的凋亡率下降最为明显;治疗组间两两比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

4 各组大鼠 Bcl-2、Bax 蛋白表达水平及 Bcl-2/Bax 比较(表 2,图 3) 与正常组比较,模型组 Bcl-2 蛋白表达水平及 Bcl-2/Bax 比值明显降低、Bax 表达水平显著升高,差异有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较,心复力颗粒高剂量组和厄贝沙坦组 Bcl-2 蛋白表达水平和 Bcl-2/Bax 比值显著升高($P < 0.01$, $P < 0.05$);心复力颗粒低、中剂量组 Bcl-2 蛋白表达水平及 Bcl-2/Bax 比值有所升高,但与模型组比较差异无统计学意义($P > 0.05$);心复力颗粒各剂量组和厄贝沙坦组 Bax 蛋白表达水平与模型组比较明显下降,差异有统计学意义($P < 0.01$)。

表 2 各组大鼠 Bax、Bcl-2 蛋白表达水平及 Bax/Bcl-2 比较 ($\bar{x} \pm s$)

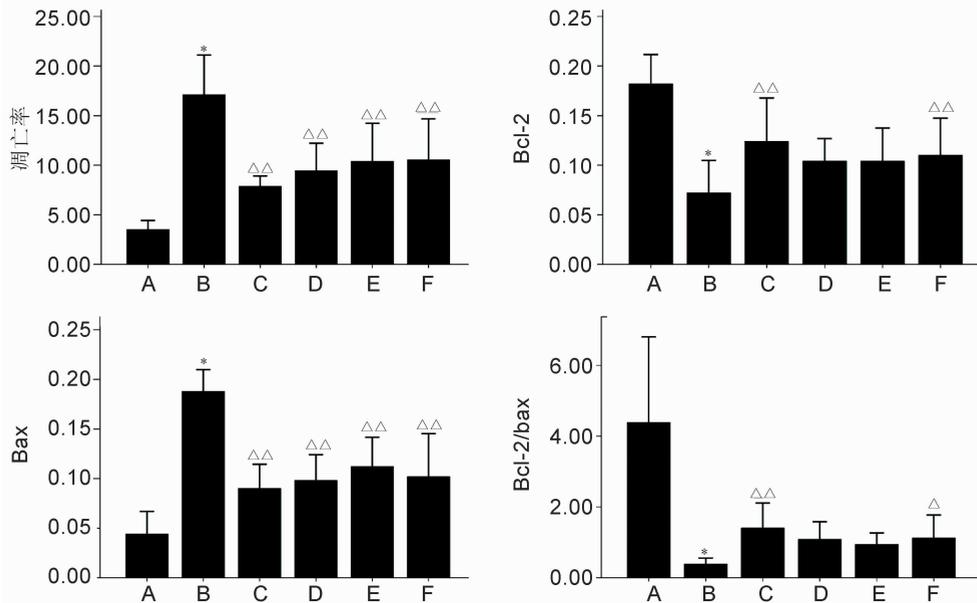
组别	n	Bcl-2	Bax	Bcl-2/Bax
正常	12	0.182 ± 0.015	0.044 ± 0.011	4.383 ± 1.210
模型	8	0.072 ± 0.016*	0.188 ± 0.011*	0.383 ± 0.086*
心复力颗粒低剂量	8	0.104 ± 0.017	0.112 ± 0.015 ^{△△}	0.937 ± 0.163
心复力颗粒中剂量	9	0.104 ± 0.011	0.098 ± 0.013 ^{△△}	1.084 ± 0.247
心复力颗粒高剂量	8	0.124 ± 0.022 ^{△△}	0.090 ± 0.012 ^{△△}	1.404 ± 0.352 ^{△△}
厄贝沙坦	9	0.110 ± 0.019 ^{△△}	0.102 ± 0.022 ^{△△}	1.121 ± 0.325 ^{△△}

注:与正常组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较,[△] $P < 0.05$,^{△△} $P < 0.01$

讨 论

DCM 是一种以心室扩大和收缩功能减退为主要特征的原因未明的常见心肌疾病,临床以心律失常、进展性 HF 及猝死为主要表现。国外报道 DCM 的患病率为 8.32 ~ 36.5/10 万人,而我国 DCM 的患病率高达 84.0/10 万人^[6]。近年来,DCM 发病率有逐步上升的趋势,严重威胁着人类的身体健康。由于其症状具有隐匿性,很多患者就诊时心脏已经明显扩大,并出现严重的 HF,而且一旦临床诊断确立,5 年病死率为 50% ~ 80%^[7],因此,尽早有效地控制 HF 已成为 DCM 的基础治疗策略。由于 DCM 发病原因不明,目前仍缺乏有效的治疗手段,寻找和探索新的药物已成为 DCM 领域的迫切需要和研究热点。

ADR 是一种常用的抗肿瘤药物,对心肌有着特殊的亲和力,可引起类似 DCM 样改变以及在此基础上发生的 HF,通过腹腔注射 ADR 可以成功建立大鼠 DCM 动物模型,该模型稳定、可靠、经济,适合研究 DCM 的发病机制及治疗药物的评价^[3,8]。为检测不同剂量 ADR 造模成功率和稳定性,笔者前期预饲养



注:A 为正常组;B 为模型组;C 为心复力颗粒高剂量组;D 为心复力颗粒中剂量组;E 为心复力颗粒低剂量组;F 为厄贝沙坦组;与正常组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较, $^{\Delta}P < 0.05$, $^{\Delta\Delta}P < 0.01$

图3 各组心肌细胞凋亡率及 Bcl-2、Bax 平均光密度值比较

20 只大鼠,随机分为两组,第 1 组腹腔注射 ADR 2.5 mg/kg,第 2 组腹腔注射 ADR 4 mg/kg,每周 1 次,连续 6 周。6 周后第 1 组剩余 7 只,正常喂养至第 8 周,剩余大鼠 7 只。第 2 组 6 周时剩余 6 只,正常喂养至第 8 周,剩余大鼠 5 只。两组随机各抽取其中 3 只做病理检测,其余大鼠做心脏超声检测心功能,结果表明两组造模均取得了成功,这与文献[4]报道一致。但解剖发现,第 2 组大鼠胸水、腹水较重,腹腔内脏器粘连明显,且死亡率较高,所以笔者选取第 1 组造模方案。

心复力颗粒主要由黄芪、人参、丹参、三棱、葶苈子、木瓜、焦槟榔、麦冬等组成,方中黄芪、人参补益心气,温阳利水为君;丹参、三棱活血祛瘀,通心脉之瘀滞,葶苈子泻肺平喘,利水消肿,泻肺气之壅闭而通调水道,为臣药;焦槟榔破积下气、行水消食、祛痰,木瓜平肝消食和胃,二药合用通调三焦之气;麦冬养阴生津,润肺清心为佐;诸药合用,温阳益气,利水祛瘀,通调三焦,标本兼治。阜外医院 50 余年临床验证其疗效显著。笔者前期实验研究证实^[9]:心复力颗粒能够减轻异丙肾上腺素所致的大鼠透壁性心肌梗死和左室重构,对心肌细胞有明显的保护作用。临床研究发现,该药不仅能改善 DCM 患者临床症状和预后、增加活动耐量;而且可明显提高 DCM 患者射血分数^[2]。为进一步探讨其作用机制,本实验选用 ADR 腹腔注射致 DCM 模型,并予心复力颗粒干预治疗。实验结果

表明:经心复力颗粒治疗后,大鼠心肌细胞损伤状况得到明显改善,且不同剂量组细胞损伤程度不同,提示存在一定剂量-一效应关系。

研究表明:HF 发生时左室功能的不断恶化是心肌细胞凋亡和(或)剩余的心肌细胞收缩功能代偿不足的结果。心肌细胞凋亡使细胞数量减少,进而心肌细胞肥大、纤维化增生,凋亡是 HF 发生的重要机制^[10]。而细胞凋亡是一个十分复杂的过程,其调控涉及许多基因,其中 Bcl-2 基因家族是目前最受重视的家族^[11]。Bcl-2 和 Bax 同属 Bcl-2 基因家族成员,在细胞凋亡的调控中起着十分重要的作用,Bcl-2 具有抑制心肌细胞凋亡作用,而 Bax 促进心肌细胞凋亡,细胞凋亡时促凋亡基因 Bax 上调,Bcl-2/Bax 比值下降^[12],两种蛋白表达比率(Bcl-2/Bax)常用以表示心肌细胞凋亡的程度^[13]。随着对细胞凋亡在 HF 中作用机制的不断探索,了解心肌细胞凋亡的分子基础,阻断、干预凋亡的信号途径,增强细胞抗凋亡能力,减少心肌细胞的缺失,减缓 HF 的进程,已经成为新的治疗途径的研究方向。耿召华等^[14]研究发现卡维地洛干预心功能不全,可以剂量依赖地使心肌细胞凋亡率和 Bax 蛋白表达水平降低,Bcl-2 蛋白表达水平增加。有研究发现生脉注射液可明显提高 ADR 诱导 DCM 大鼠 Bcl-2 表达水平,抑制 Bax 表达^[15]。笔者的研究结果提示心复力颗粒与生脉注射液有一致的作用,并显示一定的剂量依赖性。表明其抑制心肌细胞

凋亡的机制可能与调控 Bcl-2、Bax 蛋白表达有关。

细胞凋亡促进 HF 的发展。Abbate A 等^[16]报道 HF 存在着心肌细胞凋亡,即使心肌细胞凋亡率较低,经过数月或数年,因凋亡丢失的细胞数将持续影响心脏的功能。为此,本实验在造模的第 5 周予以心复力颗粒预防性治疗,以观察能否降低心肌细胞凋亡率。实验结果提示:心复力颗粒虽然不能逆转 DCM 大鼠的 HF,但早期干预可以抑制心肌细胞凋亡,延缓其心功能的进一步恶化。

综上所述,心复力颗粒能够抑制 HF 大鼠心肌细胞凋亡,延缓心脏重构的发生、发展,其机制可能与调控 Bcl-2、Bax 蛋白表达有关。针对这一作用,笔者已经开展了进一步的深化研究,为临床 DCM 的中药治疗提供新的理论依据。

参 考 文 献

- [1] Garg S, Narula J, Chandrashekhar Y. Apoptosis and heart failure: clinical relevance and therapeutic target [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2005, 38(1): 73-79.
- [2] 马丽红,阮英茂,焦增绵,等. 心复力冲剂对慢性心功能不全患者循环内皮细胞的影响[J]. *中国全科医学*, 7(16): 1181.
- [3] Nithipongvanitch R, Ittarat W, Cole MP, et al. Mitochondrial and nuclear p53 localization in cardiomyocytes: redox modulation by doxorubicin (Adriamycin) [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2007, 9(7): 1 001.
- [4] 周岩,赵丽蓉,杨思睿. 阿霉素诱导大鼠扩张型心肌病模型的建立[J]. *中国实验诊断学*, 2010, 14(3): 331-34.
- [5] 马丽红,焦增绵,范理礼,等. 心复力冲剂对大鼠实验性心肌损伤的影响[J]. *中国中西医结合杂志*, 2004, 24(6): 10-12.
- [6] Richardson P, McKenna W, Bristow M, et al. Report of the 1995 world Health Organization/International Society and Federation of Cardiology Task Force on the Definition and Classification of Cardiomyopathies [J]. *Circulation*, 1996, 93(5): 841-842.
- [7] 杨英珍,陈瑞珍. 扩张型心肌病发病机制和治疗的研究新动向[J]. *中华心血管病杂志*, 2006, 34(3): 196-197.
- [8] Berthiaume JM, Wallace KB. Adriamycin-induced oxidative mitochondrial cardiotoxicity [J]. *Cell Biol Toxicol*, 2007, 23(1): 15.
- [9] 马丽红. 心复力冲剂对心力衰竭猫血流动力学和大鼠病理形态的影响[J]. *中药新药与临床药理*, 2009, 20(1): 33-35.
- [10] Garg S, Narula J, Chandrashekhar Y. Apoptosis and heart failure: clinical relevance and therapeutic target [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2005, 38(1): 73-79.
- [11] Green DR, Kroemer G. The pathophysiology of mitochondrial cell death [J]. *Science*, 2004, 305(5684): 626-629.
- [12] Alam S, Mushtaq M. Antibiotic associated diarrhea in children [J]. *Ind Pediatr*, 2009, 46(6): 491-496.
- [13] Dong JW, Zhu HF, Zhu WZ, et al. Intermittent hypoxia attenuates ischemia/reperfusion induced apoptosis in cardiac myocytes via regulating bc1-2/Bax expression [J]. *Cell Res*, 2003, 13(5): 385-391.
- [14] 耿召华,李隆贵,吴强. 卡维地洛治疗心力衰竭对大鼠心肌细胞凋亡和 Bcl-2、Bax 蛋白表达水平的影响 [J]. *重庆医学*, 2002, 31(2): 71-73.
- [15] 杨晓东,舒婉清,杨水冰. 生脉注射液对大鼠阿霉素心肌损伤的保护作用及其抗细胞凋亡机制研究 [J]. *中南药学*, 2008, 6(2): 162-165.
- [16] Abbate A, Biondi-Zoccai GG, Bussani R, et al. Increased myocardial apoptosis in patients with unfavorable left ventricular remodeling and early symptomatic post-infarction heart failure [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2003, 41(5): 753-756.

(收稿:2012-12-17 修回:2013-02-27)