

# 通心络胶囊对异丙肾上腺素诱导的心肌肥厚大鼠心功能及心肌纤维化的影响

刘艳妮, 张莉, 胡建华, 陈世健\*

(湖北民族学院附属民大医院心内科, 湖北恩施 445000)

**摘要:** **目的** 探讨通心络胶囊(人参、全蝎、赤芍等)对异丙肾上腺素(ISO)诱导的心肌肥厚大鼠心功能及心肌纤维化的影响。**方法** 雄性SD大鼠45只随机均分为对照组, ISO组和通心络组。通心络组给予连续28 d通心络灌胃, 而ISO组和对照组则给予生理盐水。ISO组和通心络组连续7 d皮下注射ISO。治疗4周后, 测量左室收缩末期压力(LVESP)、左室舒张末期压力(LVEDP)及左室压力上升与下降最大速率( $\pm dp/dt_{max}$ )的血流动力学指标; 计算心脏质量指数(HWI)和左室质量指数(LVWI); 检测血清和心肌中氧化应激指标超氧化物歧化酶(SOD)和丙二醛(MDA)水平; 采用酶联免疫吸附法检测血清与心肌组织NO水平; 采用Masson染色观察心肌纤维化; RT-PCR检测心肌内皮型NO合酶(eNOS) mRNA表达量; Western blot法测定eNOS和磷酸化eNOS(p-eNOS)蛋白表达水平。**结果** 与对照组相比, ISO组的LVESP及 $\pm dp/dt_{max}$ 均减小, 心肌纤维化明显, 血清与心肌SOD和NO水平降低, 心肌eNOS的mRNA和蛋白表达及p-eNOS的蛋白表达均明显减少, LVEDP、HWI、LVWI、血清和心肌MDA水平显著增加。与ISO组相比, 通心络组LVESP及 $\pm dp/dt_{max}$ 均增加, 心肌纤维化程度减轻, 血清及心肌SOD和NO水平均升高、心肌eNOS的mRNA和蛋白表达及p-eNOS的蛋白表达均增加, LVEDP、HWI、LVWI、血清和心肌MDA水平均显著减少。**结论** 通心络胶囊可改善ISO诱导的心肌肥厚大鼠的心功能并减轻心肌纤维化, 其机制可能与通心络胶囊激活eNOS/NO信号通路及抗氧化应激有关。

**关键词:** 通心络胶囊; 异丙肾上腺素; 心肌肥厚; 心功能; 心肌纤维化

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2016)05-0967-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2016.05.002

## Effects of Tongxinluo Capsules on cardiac function and myocardial fibrosis in rats with isoproterenol-induced cardiac hypertrophy

LIU Yan-ni, ZHANG Li, HU Jian-hua, CHEN Shi-jian\*

(Department of Cardiovascular, Minda Hospital Affiliated to Hubei University for Nationalities, Enshi 445000, China)

**ABSTRACT: AIM** To explore the effects of Tongxinluo (TXL) Capsules (*Ginseng Radix et Rhizoma*, *Scorpio*, *Paeoniae Radix rubra*, etc.) on cardiac function and myocardial fibrosis in rats with isoproterenol (ISO)-induced cardiac hypertrophy. **METHODS** Forty-five male SD rats were randomly and equally divided into three groups, control group, ISO group and TXL group. Rats in the TXL group were consecutively intragastric administrated with TXL for twenty-eight days, and then received the hypodermic injection of ISO for seven days together with the control group, while rats in the control and ISO groups received normal saline. Four weeks after the treatment, the hemodynamic parameters, including left ventricular end systolic pressure (LVESP), left ventricular end diastolic pressure (LVEDP), maximum rate of pressure development ( $+ dp/dt_{max}$ ) and maximum rate of pressure decline ( $- dp/dt_{max}$ ) were measured. The indexes of heart weight/body weight and left ventricle weight/body weight, which were defined as heart weight index (HWI) and left ventricle weight index (LVWI), respectively, were cal-

收稿日期: 2015-10-12

作者简介: 刘艳妮(1986—), 女, 护师, 研究方向为冠心病、肥厚性心肌病及心律失常。Tel: (0718) 8301386, E-mail: 742779616@qq.com

\*通信作者: 陈世健(1977—), 男, 硕士, 主治医师, 研究方向为冠心病、肥厚性心肌病及心律失常。Tel: (0718) 8301777, E-mail: 17253669@qq.com

culated. Masson's trichrome staining was used for evaluating myocardial fibrosis, oxidative stress for levels of malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) in serum and tissue. The levels of nitric oxide (NO) in serum and tissue were also measured by ELISA. The mRNA of endothelial NO synthase (eNOS) was measured by RT-PCR. The protein expressions of eNOS and phosphorylation of eNOS (p-eNOS) were detected by Western blot. **RESULTS** Compared with the control group, the LVESP and  $\pm dp/dt_{max}$  declined; myocardial fibrosis severed; levels of SOD and NO in serum and myocardium decreased; mRNA of eNOS and protein expressions of p-eNOS and eNOS reduced; LVEDP, HWI, LVWI and levels of MDA in serum and myocardium increased, in the ISO group. Compared with the ISO group, the TXL group improved LVESP and  $\pm dp/dt_{max}$ ; augmented levels of SOD and NO in serum and myocardium; increased mRNA of eNOS and protein expressions of p-eNOS and eNOS; however, reduced LVEDP, HWI, LVWI, degree of myocardial fibrosis and levels of MDA in serum and myocardium. **CONCLUSION** TXL Capsules can improve cardiac function and attenuate myocardial fibrosis in rats with ISO-induced cardiac hypertrophy. It indicates that eNOS/NO signal pathway and anti-oxidative stress may be involved in its mechanism.

**KEY WORDS:** Tongxinluo (TXL) Capsules; isoproterenol; cardiac hypertrophy; cardiac function; myocardial fibrosis

心肌肥厚是心肌对各种有害刺激因素引起心脏功能超负荷的一种适应性反应,持续存在的心肌肥厚可引起心律失常及心源性猝死等多种心血管疾病的发生,从而增加心血管病患者的死亡率<sup>[1-2]</sup>。通心络胶囊(通心络)是依据络病学理论,由人参、全蝎、赤芍、土鳖虫、檀香、降香、乳香(制)、水蛭、蝉蜕、蜈蚣、酸枣仁(炒)及冰片12种中药研制而成一种复方制剂,不但具有益气、活血及通络等功效,其还可以扩张冠状动脉从而改善心肌缺血<sup>[3]</sup>。既往研究发现通心络对异丙肾上腺素(ISO)诱导的急性心肌损伤具有保护作用<sup>[4-5]</sup>,但通心络对ISO慢性作用诱导的心肌肥厚动物心功能及心肌纤维化的影响,既往并无相关研究。因此,本研究拟对这一问题进行探讨。

## 1 材料与方法

雄性SD大鼠45只,体质量250~300g,购自武汉大学医学部实验动物中心(合格证号SCXK[鄂]2007-0006)。将动物随机分为对照组、ISO组和通心络组,每组各15只。既往研究证实,持续的 $\beta$ 肾上腺受体过度激活可以引起心肌细胞肥大及心肌纤维化,因此在本实验中我们采用连续注射 $\beta$ 肾上腺受体激动剂ISO(Sigma公司,美国)来制备大鼠心肌肥厚模型。通心络组给予连续28d通心络灌胃[2g/(kg·d),以岭药业,石家庄]<sup>[6]</sup>,而ISO组和对照组则给予等体积生理盐水灌胃[1mL/(kg·d)]。ISO组和通心络组在药物灌胃的第22天开始连续7d皮下注射ISO[2.5mg/(kg·d)]<sup>[7]</sup>,而对照组则注射等体积生

理盐水[1mL/(kg·d)]。在给药及饲养过程中未出现动物死亡。

## 2 实验方法

2.1 血流动力学指标检测 在完成所有药物干预4周后,对动物进行血流动力学评价。给予戊巴比妥钠(30mg/kg, Sigma公司,美国)麻醉后,于右侧颈部纵行切开分离右颈总动脉,将一根2F的millar导管(Millar公司,美国)经右颈总动脉插至左心室,连接PowerLab生理记录仪(AD公司,澳大利亚),测量左心室收缩末期压力(LVESP)、左心室舒张末期压力(LVEDP)及左心室压力上升与下降最大速率( $\pm dp/dt_{max}$ )等血流动力学指标。

2.2 心脏解剖学改变及Masson染色评价心肌纤维化 每组各选5只动物麻醉后开胸取出心脏,剪除周围结缔组织和肺脏,滤纸吸尽残血后称重,作为全心质量。接着分离左心室并称重,作为左心质量。以全心质量、左室质量与体质量之比计算心脏质量指数(HMI)和左心室质量指数(LVMI)。随后将左心室心肌组织置于经10%甲醛溶液固定8~12h后,采用乙醇梯度脱水并常规石蜡包埋、切片,随后进行Masson染色。Masson染色使胶原纤维在光镜下呈蓝绿色,而心肌细胞则呈红色。光镜下拍照、电脑存储,采用Image Pro-Plus软件(Media Cybernetics公司,美国)对心肌纤维化进行分析,测量心肌间质胶原总面积和图像总面积,用以计算胶原容积百分比(CVF)。

2.3 血清和心肌组织SOD、MDA及NO水平测定 每组各选5只动物,药物麻醉后采用断头法处死,

取全血及左心室心肌组织各3.5 mL和100 mg。全血室温放置1 h后置于离心机(sc-359852, 日立公司, 日本)中, 在4 °C下1 000 r/min离心10 min, 分离血清后, EP管分装置于-80 °C冰箱保存待测。心肌组织加入0.6 mL生理盐水, 使用组织匀浆机(800S, Waring公司, 美国)研磨制成10%的组织匀浆, 随后4 °C, 14 000 r/min, 离心10 min, 取上清液置于-80 °C冰箱保存待测。SOD的检测采用黄嘌呤氧化酶法; MDA检测采用硫代巴比妥酸法; NO水平检测采用ELISA试剂盒(RD公司, 美国), 操作过程严格按照试剂盒说明书在全自动酶标仪(BL680, BIO-RAD公司, 美国)上完成。

2.4 RT-PCR检测内皮型NO合酶(eNOS)的mRNA表达量 剪取左心室心肌组织100 mg, 将其剪碎后加入1 mL预冷的Trizol液, 在冰上将组织充分研磨提取总RNA, 随后根据Fermentas反转录试剂盒说明书将总RNA反转录为cDNA。使用Primer 5.0软件设计eNOS mRNA和内参Gapdh的引物, 并由Invitrogen公司合成。eNOS mRNA引物序列正向为5' -AACATGTGTCCTTGCTCGAGGCA-3', 反向为5' -TTCCGGCGTCCACCCTGATCCTAA-3', 扩增片段长340 bp。内参Gapdh的引物正向为5' -CATCACCATCTTCCAGGAGCG-3', 反向为5' -TGACCTTGCCCACAGCCTT'G-3', 扩增片段长443 bp。eNOS PCR扩增条件为95 °C预变性3 min后, 95 °C变性30 s, 56 °C退火30 s, 72 °C延伸45 s, 共34个循环。Gapdh PCR反应条件为94 °C变性1 min, 60 °C退火30 s, 72 °C延伸45 s, 共30个循环。取5 μL PCR产物行凝胶电泳, 使用凝胶成像系统对eNOS的mRNA表达量行半定量分析,

结果用eNOS/Gapdh表示。

2.5 Western blot检测eNOS和磷酸化eNOS(p-eNOS)蛋白表达量 剪取左心室组织(50 ~ 100 mg), 使用匀浆器进行匀浆并提取膜蛋白, 采用BCA法对蛋白浓度定量分析后, 将膜蛋白样本置于-80 °C冰箱中待用。匀浆及提取膜蛋白的具体步骤及方法参照文献[6], 采用8%的聚丙烯酰胺凝胶电泳分离膜蛋白, 随后将膜蛋白电转至硝酸纤维素膜上, 置于含5%脱脂奶粉的TBST缓冲液中室温封闭3 h, 随后分别加入抗eNOS(1:800)和p-eNOS(1:1 000)的单克隆抗体I抗及抗GAPDH单克隆抗体I抗(1:2 000)(Sigma公司, 美国), 4 °C孵育过夜。第2天, 采用TBST缓冲液对膜洗涤3次(每次15 min), 室温加入相应的二抗(1:1 500)孵育1 h, 随后再次TBST缓冲液洗膜3次(每次15 min)。采用增强化学发光法将膜置于暗处反应5 min, 后X光片曝光显影和定影, 凝胶成像系统拍照。

2.6 统计学处理 SPSS 17.0统计软件进行数据分析, 正态分布计量资料以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 并采用Tukey事后检验法进行组间两两比较, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

### 3 结果

3.1 血流动力学指标结果 与对照组相比, ISO组LVESP及 $\pm dp/dt_{max}$ 均减小( $P < 0.01$ ), LVEDP增大( $P < 0.01$ ); 在给予通心络干预后, 通心络组LVESP及 $\pm dp/dt_{max}$ 均较ISO组增大( $P < 0.01$ ), 而LVEDP较ISO组减小( $P < 0.01$ ), 结果见表1。这些结果表明, 通心络能有效改善ISO慢性作用引起的大鼠血流动力学紊乱及心功能下降。

表1 3组血流动力学指标的比较( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 15$ , 1 mmHg = 0.133 kPa)

Tab. 1 Comparison of hemodynamic indexes in three groups ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 15$ , 1 mmHg = 0.133 kPa)

组别	LVESP/mmHg	LVEDP/mmHg	(+ dp/dt <sub>max</sub> )/(mmHg·s <sup>-1</sup> )	(- dp/dt <sub>max</sub> )/(mmHg·s <sup>-1</sup> )
对照组	118.34 ± 7.83	3.65 ± 0.27	8 945.34 ± 317.18	5 989.56 ± 332.64
ISO组	82.17 ± 6.39*	5.18 ± 0.46*	7 119.79 ± 278.54*	3 587.76 ± 260.62*
通心络组	102.76 ± 6.72 <sup>#</sup>	4.45 ± 0.31 <sup>#</sup>	8 247.93 ± 287.37 <sup>#</sup>	4 648.02 ± 301.90 <sup>#</sup>

注: 与对照组比较, \* $P < 0.01$ ; 与ISO组比较, <sup>#</sup> $P < 0.01$

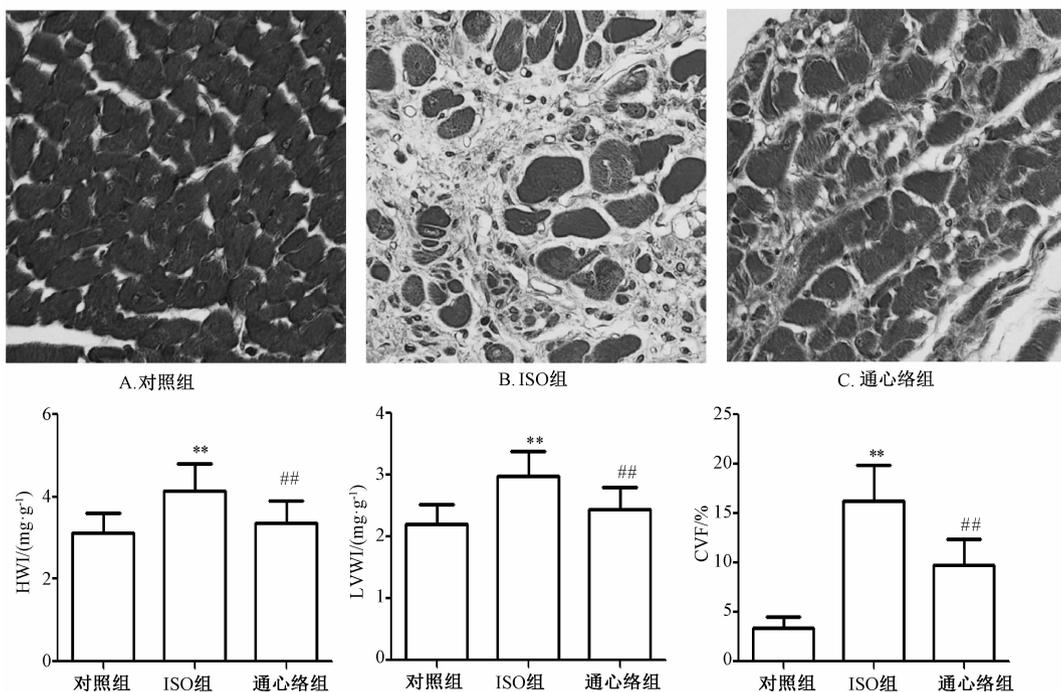
3.2 各组动物解剖学改变及Masson染色结果 与对照组相比, ISO组HWI及LVWI均明显增大( $P < 0.01$ ), 而通心络组HWI及LVWI均较ISO组减小( $P < 0.01$ ), 见图1, 提示通心络可以减轻ISO慢性刺激引起的心肌肥厚。此外, Masson染色显示, 对照组心室肌间胶原堆积少, ISO组心室

肌间胶原纤维堆积明显多, 通心络组心室肌间胶原堆积量介于两者之间。胶原纤维定量分析结果提示, ISO组的CVF显著高于对照组[(16.32 ± 3.55)%与(3.35 ± 1.12)%],  $P < 0.01$ ], 而通心络组的CVF较ISO组显著降低[(9.76 ± 2.67)%与(16.32 ± 3.35)%],  $P < 0.01$ ], 见图1。以上结

果说明, 通心络能有效降低 ISO 持续刺激引起的心室肌纤维化。

3.3 血清及心肌组织氧化应激指标结果 与对照组相比, ISO 组血清和心肌 MDA 水平均明显增加, 而血清和心肌 SOD 水平显著降低 ( $P <$

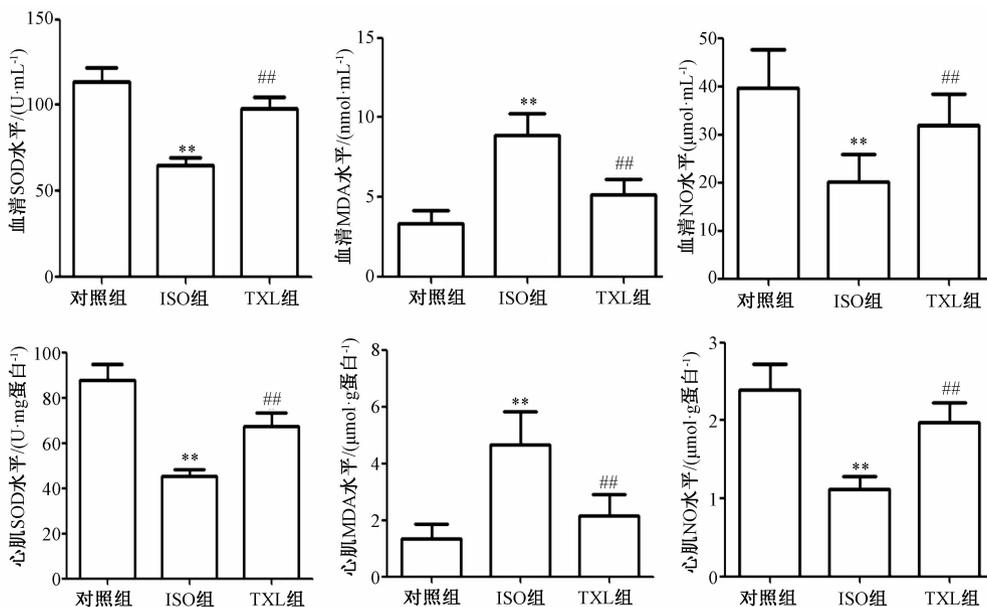
0.01); 与 ISO 组相比, 通心络组血清和心肌 SOD 水平均明显升高, 而血清和心肌 MDA 水平显著降低 ( $P <$ 0.01), 结果见图 2。这些结果提示, 通心络能减轻 ISO 持续刺激引起的氧化应激反应。



注: 与对照组比较, \*\* $P <$ 0.01; 与 ISO 组比较, ## $P <$ 0.01

图 1 3 组心脏质量指数、左心室质量指数及 Masson 染色 ( $\times 400$ ) 结果 ( $n = 5$ )

Fig. 1 Results of heart weight indexes, left ventricle weight indexes and Masson stainings ( $\times 400$ ) in three groups ( $n = 5$ )



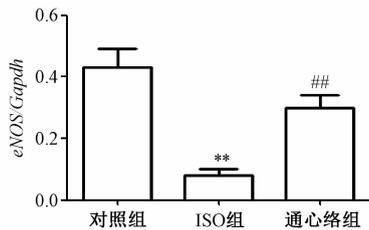
注: 与对照组比较, \*\* $P <$ 0.01; 与 ISO 组比较, ## $P <$ 0.01

图 2 3 组血清和心肌 SOD、MDA 及 NO 水平 ( $n = 5$ )

Fig. 2 Serum and myocardial SOD, MDA and NO levels in three groups ( $n = 5$ )

3.4 血清及心肌组织 NO 水平结果 与对照组相比, ISO 组血清和心肌 NO 水平均明显减少 ( $P < 0.01$ ); 给予通心络干预后, 通心络组血清和心肌 NO 水平较 ISO 组显著升高 ( $P < 0.01$ ), 结果见图 2。这些结果提示, 通心络能减轻 ISO 慢性作用引起的 NO 合成减少。

3.5 各组 eNOS mRNA 的表达结果 RT-PCR 结果显示, ISO 组心室 eNOS mRNA 的表达量显著低于对照组 ( $P < 0.01$ ), 而给予通心络干预后, 通心络组心室 eNOS mRNA 表达量较 ISO 组显著上调 ( $P < 0.01$ ), 结果见图 3。这一结果提示, ISO 持续刺激可引起 eNOS mRNA 水平的下调, 而通心络能减轻 ISO 持续刺激引起的 eNOS mRNA 的改变。



注: 与对照组比较, \*\* $P < 0.01$ ; 与 ISO 组比较, ## $P < 0.01$

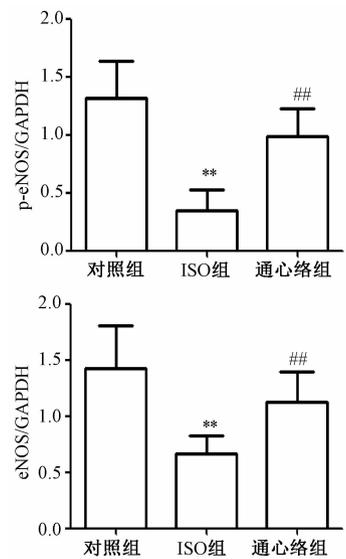
图 3 3 组左心室 eNOS mRNA 表达 ( $n = 5$ )

Fig. 3 mRNA expressions of eNOS in left ventricular tissues in three groups ( $n = 5$ )

3.6 eNOS 及 p-eNOS 蛋白表达结果 Western blot 实验检测 eNOS 和 p-eNOS 蛋白在 3 组动物间的表达, 结果显示, 与对照组相比, ISO 组心室 eNOS 和 p-eNOS 蛋白表达水平显著下降 ( $P < 0.01$ ); 而与 ISO 组相比, 通心络组心室 eNOS 和 p-eNOS 蛋白表达水平明显升高 ( $P < 0.01$ ), 结果见图 4。这些结果表明, ISO 持续刺激可抑制 eNOS 的激活, 而通心络可减轻 ISO 慢性作用对 eNOS 激活的影响。

#### 4 讨论

ISO 是一种非选择性  $\beta$  受体激动剂, 因其慢性作用可引起心肌产生病理性肥厚而常被用来制备心肌肥厚模型<sup>[7]</sup>。在本研究中我们同样采用 ISO 慢性注射制备心肌肥厚模型, 结果显示, ISO 组动物不仅 LVESP、LVEDP 和  $\pm dp/dt_{max}$  等血流动力学指标均较对照组出现显著改变, 且心肌间质胶原大量堆积, 提示 ISO 组动物心功能受损及心肌发生严重纤维化, 这与既往报道相一致<sup>[8-9]</sup>。当给予通心络干预后, 通心络组动物血流动力学各指标及心肌纤维化程度均较 ISO 组显著改善, 提示通心络对 ISO 诱



注: 与对照组比较, \*\* $P < 0.01$ ; 与 ISO 组比较, ## $P < 0.01$

图 4 3 组左心室 p-eNOS 和 eNOS 蛋白表达 ( $n = 5$ )

Fig. 4 Protein expressions of p-eNOS and eNOS in left ventricular tissues in three groups ( $n = 5$ )

导的心肌肥厚大鼠有改善心功能并减轻心肌纤维化的作用。

在本研究中, ISO 慢性作用下调了心肌 eNOS 及 p-eNOS 蛋白表达量, 并降低了心肌 NO 水平, 而这些改变在给予通心络干预后均显著减轻。NO 是 L-精氨酸在 NO 合酶催化下生成的一种生物活性气体, 内皮细胞与心肌细胞均能合成和分泌 NO<sup>[10]</sup>。既往研究显示, NO 可以通过舒张血管减少心脏的压力负荷、降低心肌氧耗及直接灭活氧自由基等途径抑制心肌肥厚<sup>[11-12]</sup>。此外, 一些增加机体 NO 合成的药物被证实具有改善心肌肥厚动物心功能及减轻心肌纤维化的作用<sup>[13]</sup>。eNOS 是心肌细胞 NO 合酶的常见类型, 其主要与生理浓度的 NO 合成有关。p-eNOS 是 eNOS 活化形式, 其表达下降可直接导致 NO 合成减少。Massion 等人发现 eNOS 基因敲除小鼠与野生型小鼠相比, 更易发生心室肥厚<sup>[12]</sup>。而 eNOS 基因过表达小鼠则能抵抗 ISO 诱导心肌肥厚作用<sup>[14]</sup>。早期的一些研究均发现, 通心络可以促进机体 NO 合成从而发挥血管保护作用<sup>[15]</sup>。近期 Wang 等人发现, 通心络可通过激活 Akt/eNOS 信号通路来增加心肌组织 NO 水平, 从而改善压力负荷诱导的心力衰竭大鼠心功能并减轻心肌纤维化程度<sup>[16]</sup>。因此, 我们认为通心络改善心肌肥厚大鼠心功能及心肌纤维化可能与其激活 eNOS/NO 相关信号通路来增加 NO 的合成

有关。

此外,既往研究结果证实,持续的 ISO 刺激可导致心肌氧化应激反应的发生<sup>[8]</sup>。在氧化应激反应作用下,心肌成纤维细胞将发生增殖和迁移,并最终分化为成肌纤维细胞,成肌纤维细胞又可分泌基质金属蛋白酶,使胶原纤维合成增加,进而引起心肌纤维化<sup>[17]</sup>。在本研究中,通心络干预一方面降低了 ISO 慢性刺激大鼠血清和心肌氧化损伤标志物 MOD 水平,另一方面升高了血清和心肌抗氧化酶 SOD 水平。这些结果提示通心络对 ISO 慢性刺激大鼠发挥了抗氧化应激的作用,这可能是通心络降低心室纤维化的另一个机制。

总之,在本研究中发现,通心络可改善 ISO 诱导的心肌肥厚大鼠心功能并减轻心肌纤维化,其机制可能与通心络激活 eNOS/NO 信号通路及抗氧化应激有关。

#### 参考文献:

[ 1 ] Tin L L, Beevers D G, Lip G Y. Hypertension, left ventricular hypertrophy, and sudden death[J]. *Curr Cardiol Rep*, 2002, 4(6): 449-457.

[ 2 ] Podrid P J, Myerburg R J. Epidemiology and stratification of risk for sudden cardiac death[J]. *Clin Cardiol*, 2005, 28(11): I3-I11.

[ 3 ] 尤士杰,杨跃进,陈可冀,等. 通心络对急性心肌梗死患者再灌注后心肌和微血管的保护性研究[J]. *中华心血管病杂志*, 2005, 33(5): 433-437.

[ 4 ] 赵明中,刘 岚,汪家瑞,等. 通心络胶囊对异丙肾上腺素致大鼠心肌损伤保护作用的实验研究[J]. *中国中西医结合杂志*, 2001, 21(1): 51-53.

[ 5 ] 丘志春,张国华,杨开清. 通心络胶囊对异丙肾上腺素诱导大鼠心肌损伤的保护作用[J]. *湖南中医药导报*, 2004, 10(8): 59-62.

[ 6 ] 吴相春,来 静,李爱然,等. 通心络对缺氧预适应小鼠脑组织细胞凋亡因子表达的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2010, 26(9): 1713-1717.

[ 7 ] Tang Y Q, Wang M H, Le X Y, *et al.* Antioxidant and cardio-protective effects of Danshensu [3-(3, 4-dihydroxyphenyl)-2-hydroxypropanoic acid from *Salvia miltiorrhiza*] on isoproterenol-induced myocardial hypertrophy in rats[J]. *Phytomedicine*, 2011, 18(12): 1024-1030.

[ 8 ] Zhang G X, Kimura S, Nishiyama A, *et al.* Cardiac oxidative stressin acute and chronic isoproterenol-infused rats[J]. *Cardiovasc Res*, 2005, 65(1): 230-238.

[ 9 ] Liu T, Shi S B, Qin M, *et al.* Effects of dantrolene treatment on ventricular electrophysiology and arrhythmogenesis in rats with chronic  $\beta$ -adrenergic receptor activation[J]. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2015, 20(4): 414-427.

[ 10 ] Tamargo J, Caballero R, Gómez R, *et al.* Cardiac electrophysiological effects of nitric oxide[J]. *Cardiovasc Res*, 2010, 87(4): 593-600.

[ 11 ] 吴庆玲,周祖玉,徐建国. 黄连素对异丙肾上腺素诱导的大鼠心肌肥厚的影响[J]. *现代中西医结合杂志*, 2008, 17(3): 1956-1958.

[ 12 ] Massin P B, Balligand J L. Modulation of cardiac contraction relaxation and rate by the endothelial nitric oxide synthase (eNOS): lessons from genetically modified mice[J]. *J Physiol*, 2003, 546(Pt 1): 63-75.

[ 13 ] Lin Y, Wang L N, Xi Y H, *et al.* L-arginine inhibits isoproterenol-induced cardiac hypertrophy through nitric oxide and polyamine pathways[J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2008, 103(2): 124-130.

[ 14 ] Ozaki M, Kawashima S, Yamashita T, *et al.* Overexpression of endothelial nitric oxide synthase attenuates cardiac hypertrophy induced by chronic isoproterenol infusion[J]. *Circ J*, 2002, 66(9): 851-856.

[ 15 ] 赵明奇,刘 艳,赵丹洋,等. 通心络改善缺血心肌供血的 NO 机制研究[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2003, 9(6): 43-45.

[ 16 ] Wang B, Yang Q, Bai W W, *et al.* Tongxinluo protects against pressure overload-induced heart failure in mice involving VEGF/Akt/eNOS pathway activation [J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): e98047.

[ 17 ] 富华颖,李广平,刘长乐. 普罗布考对糖尿病兔心房重构及心房颤动发生的干预作用[J]. *中华临床医师杂志: 电子版*, 2012, 24(6): 7978-7981.