

文章编号: 1005-8982(2013)22-0020-06

·论著·

醋柳黄酮及其单体抑制大鼠心肌肥大的实验研究

宋 鑫¹, 余 琴², 刘应才²

(1.四川省合江县人民医院 心内科, 四川 合江 646200 2.四川省
泸州医学院附属医院 心内科, 四川 泸州 646000)

摘要:目的 研究醋柳黄酮(TFH)及其单体槲皮素(Quer)和异鼠李素(Isor)抑制心肌细胞肥大的机制是否与钙调神经磷酸酶(CaN)信号通路相关。方法 在培养原代大鼠心肌细胞的基础上,实验采用血管紧张素Ⅱ(AngⅡ)诱导新生大鼠心肌细胞肥大为模型,分别加入 TFH、Quer、Isor 和缬沙坦(Valsartan)进行预防性治疗。鉴定心肌细胞,检测心肌细胞表面积及总蛋白含量,测定心肌细胞肌浆网钙泵(Sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPases, SERCA)活力、CaN 活性及 CaN mRNA 表达。结果 实验培养的心肌细胞抗 α -actin 免疫细胞化学染色均为阳性;AngⅡ组细胞表面积增大,总蛋白含量增加,与对照组相比差异有显著性($P < 0.01$);TFH 组、Quer 组、Isor 组和 Valsartan 组均能显著降低心肌细胞肥大 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)、提高 SERCA 活力 ($P < 0.05$)、降低 CaN 活性($P < 0.05$)及 CaN mRNA($P < 0.01$)表达,而这四组之间差异无显著性($P > 0.05$)。结论 醋柳黄酮及其单体(槲皮素和异鼠李素)与缬沙坦一样,对 AngⅡ诱导心肌细胞肥大有明显的抑制作用,其作用机制可能与心肌细胞肌浆网钙泵活性及钙调神经磷酸酶信号通路有关。

关键词: 醋柳黄酮;血管紧张素Ⅱ;心肌肥大;钙调神经磷酸酶

中图分类号: R542.2;R965

文献标识码: A

Experimental study on the inhibition of rat myocardial hypertrophy with total flavones of Hippophae rhamnoides I (tfh) and its monomer

SONG Xin¹, YU Qin², LIU Ying-cai²

(1.Department of Cardiology, the People's Hospital, He-Jiang County, Hejiang, Sichuan 646200, P. R.China; 2.Department of Cardiology, Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou, Sichuan 646000, P.R.China)

Abstract: [Objective] To study whether the inhibition mechanism for cardiomyocyte hypertrophy of the total flavones of Hippophae rhamnoides (TFH) and its monomer Quercetin (Quer) and isorhamnetin (Isor) are associated with the signal passage of calcineurin (CaN). **[Method]** Based on the cultivation of primary rat cardiomyocytes, the angiotensin (Ang) was used to induce neonatal rat cardiomyocyte hypertrophy as a model in the experiment, and TFH, Quer, Isor and valsartan were added for preventive treatment. The cardiomyocytes were identified, the surface area and total protein content of cardiomyocyte were detected, and the vitality of Sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPases (SERCA), the CaN activity as well as the expression of CaN mRNA were determined. **[Results]** The anti- α -actin immunocytochemical staining for the cultured cardiomyocytes was positive in the experiment; the surface area of Ang group's cell enlarged, the total protein content increased; And compared with the control group, the difference was of statistical significance ($P < 0.01$). The cardiomyocyte hypertrophy in the TFH, Quer, Isor and Valsartan groups could significantly reduced ($P < 0.01$ or $P < 0.05$), the SERCA vitality improved ($P < 0.05$), and the CaN activity($P < 0.05$) and CaN mRNA ($P < 0.01$) expression were lowered. The differences among the four groups were of no statistical significance ($P > 0.05$). **[Conclusion]** Like valsartan, TFH and its monomer (quercetin and isorhamnetin) has a significant inhibition effect on the Ang -induced cardiomyocyte hypertrophy, and its mechanism may be associated with the ac-

tivity of Sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPases (SERCA) and the signal passage of calcineurin.

Key words: total flavones of hippophae rhamnoides; angiotensin II; cardiac hypertrophy; calcineurin phosphatase

醋柳黄酮 (total flavones of hippophae rhamnoides, TFH) 是以沙棘果实和叶为原料, 经提取加工而制成的天然成分制剂, 其主要包括槲皮素 (quercetin, Quer) 及其苷和异鼠李素 (isorhamnetin, Isor) 及其苷。心肌重塑是多种心脏疾病的共同病理过程, 而心肌肥大是心肌重塑中非常重要的表现形式。国内外的临床及实验研究提示 TFH 及其单体对心肌肥大有确切的抑制作用, 但是对其抑制心肌肥大作用的机制研究仍较少。有研究表明^[1], 由 Ca^{2+} 活化的、钙调神经磷酸酶 (calcineurin, CaN) 介导的信号途径在心肌肥大发生发展中起着至关重要的作用。本实验旨在研究 TFH 及其单体对心肌肥大抑制作用的机制是否与钙调神经磷酸酶信号通路相关, 以便为 TFH 及其单体的心血管保护机制提供合理解释和新的视野, 为其临床应用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 动物、试剂及仪器

1~3 d 清洁级新生 SD 大鼠 (泸州医学院实验动物房), 高糖 DMEM 及胎牛血清 (Hyclone), 血管紧张素 II (angiotensin II, Ang) (Sigma), 醋柳黄酮 (四川美大康药业), 槲皮素、异鼠李素、缬沙坦 (中国药检所), 钙调神经磷酸酶测定试剂盒 (南京建成科技有限公司), Rever Tra Ace 组合型 RT-PCR 试剂盒 (成都博瑞克生物技术有限公司), 紫外-可见分光光度计 (岛津), 全自动酶标仪 (芬兰 LABSYSTEM), ND-1000 核酸蛋白检测仪 (美国 Nanodrop 公司), Mastercycler gradient PCR 仪 (eppendorf)。

1.2 心肌细胞培养与实验分组

无菌条件下取 1~3 d 新生 SD 大鼠心室肌, 0.125% 胰酶 + 0.08% 型胶原酶分次消化至单细胞悬液, 离心, 弃上清, 用 10% 完全培养基制成细胞悬液, 二氧化碳孵箱中差速贴壁 1.5 h, 吸取未贴壁的心肌细胞进行计数, 然后按不同实验目的调节细胞接种密度接种培养。心肌细胞培养 72 h, 换无血清培养基同步化 24 h 后, 各组加入不同药物孵育 24 h。实验分组: 对照 (Control) 组: 不加任何处理因素, 与加入处理因素的组别共同进行换液处理; Ang 10^{-6} mol/L 组^[2]; 槲皮素 (Quer) 组: 槲皮素 $100 \mu\text{mol/L}$ ^[3] + Ang 10^{-6} mol/L; 异鼠李素 (Isor) 组: 异鼠李素 $100 \mu\text{mol/L}$ ^[4] + Ang 10^{-6} mol/L; 醋柳黄

酮 (THF) 组: 醋柳黄酮 100mg/L ^[5] + Ang 10^{-6} mol/L; 缬沙坦 (Valsartan) 组: 缬沙坦 10^{-6} mol/L^[6] + Ang 10^{-6} mol/L。

1.3 心肌细胞纯度检测与鉴定

倒置显微镜下, 通过形态和搏动情况判定心肌细胞与非心肌细胞的数量变化; 然后取有心肌细胞生长的玻片进行抗 α -actin 免疫组化细胞学鉴定, 细胞质被染成棕黄色者为心肌细胞, 并照相保存。

1.4 细胞表面积测定

每孔细胞随机选取 5 个视野, 每个视野选取 5~10 个细胞, 重复 8 次。在 $400\times$ 显微镜视野下照相 (包括微标尺) 保存, 再应用 Image-Pro Plus 软件测量心肌细胞表面积。

1.5 心肌细胞总蛋白测定

心肌细胞消化、离心, 加入 RIRA 裂解缓冲液, 超声破碎细胞, 取细胞裂解液按考马斯亮兰蛋白浓度测定试剂盒说明书操作。

1.6 肌浆网钙泵 (SERCA) 活力测定

在波长 410 nm 处测定不同浓度 PNP 标准溶液的吸光度, 作标准曲线。细胞匀浆液冰上裂解细胞; 向细胞裂解液中加入反应液, 37°C 恒温水浴箱中预温 10 min; 再向管中加入 100mmol/L pNPP, 37°C 恒温水浴箱中反应 30 min; 然后加入 2 倍反应体积的冷缓冲液终止反应, 在波长 410 nm 处测 OD 值。

1.7 钙调神经磷酸酶 (CaN) 活性测定

先获取细胞裂解液, 然后取上清液按照钙调神经磷酸酶测定试剂盒说明书进行操作。

1.8 RT-PCR 法检测 CaN mRNA 的表达

按说明书操作提取纯化心肌细胞总 RNA, 用 RT-PCR 试剂盒检测心肌细胞 CaN mRNA 的表达情况。运用 Primer 5.0 和 Olig 6.0 软件分别在 CaN (XM_002745551.1) 和内参照 GAPDH 基因的 CDS 区内设计合成一对特异性引物, 送上海生物工程有限公司合成, 引物序列见表 1。

表 1 引物序列

基因名称	引物序列	产物大小
CaN	F 5'-GGACAGGGTGGTCAAAGC-3'	296 bp
	R 5'-AGCGAGTGTGGCAGGAG-3'	
GAPDH	F 5'-CCTCAAGATTGTCAGCAAT-3'	141 bp
	R 5'-CCATCCACAGTCTTCTGAGT-3'	

逆转录反应条件 30℃ 10 min ,42℃ 20 min ,99℃ 5 min。 PCR 反应条件 :94℃ 2 min ,94℃ 30 s ,65℃ 30 s ,72℃ 30 s 3 个循环 ,94℃ 30 s ,64℃ 30 s ,72℃ 30 s 3 个循环 ,94℃ 30 s ,63℃ 30 s ,72℃ 30 s 3 个循环 ,94℃ 30 s ,62℃ 30 s ,72℃ 30 s 21 个循环 ,72℃ 2 min。 将扩增产物 ,进行 1.5%的琼脂糖凝胶电泳 ,以 DNA marker I 为分子量参照标准 ,凝胶成像系统下观察记录结果。用凝胶定量分析软件 Gel-Pro analyzer 4.0 检测 RT-PCR 扩增产物电泳条带的光密度值 ,分析计算基因相对表达值 ,实验重复 6 次。

1.9 统计方法

运用 SPSS 13.0 软件 ,方差齐性检验后多组间的比较采用单因素方差分析法 ,多组间的两两比较采用 S-N-K 法或 Dunnett 法 ,实验结果以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。检验水准为 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 心肌细胞纯度检测与鉴定

在培养 3~5 d 后 ,相差显微镜下绝大多数为已搏动的心肌细胞和心肌细胞团 ,成纤维细胞无明显增殖。细胞经抗 α -actin 免疫组化细胞学鉴定显示 :细胞质内可见棕黄色丝状物者为抗 α -actin 免疫细胞化学染色阳性 ,本实验细胞抗 α -actin 免疫组化均为阳性 ,见图 1A~C。

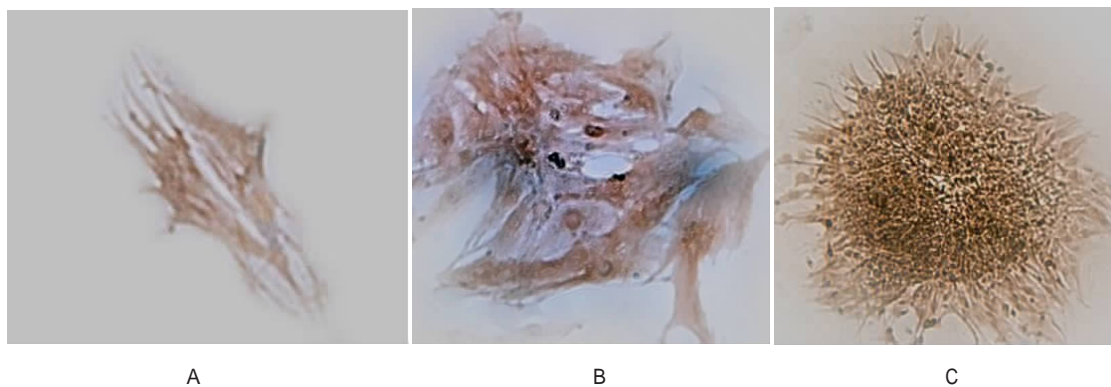


图 1 培养新生大鼠心肌细胞的抗 α -肌动蛋白染色图
A : $\times 200$ 倍 B : $\times 400$ 倍 C : $\times 100$ 倍

2.2 心肌细胞表面积

与空白对照组相比 ,AngII 可以使大鼠心肌细胞表面积显著增加($P < 0.01$) ,其他组与空白对照组的差异无显著性($P > 0.05$)。而应用 TFH 及其单体与缬沙坦等药物后 ,可抑制 AngII 诱导的心肌细胞表面积增大($P < 0.01$) ,但 TFH、Quer、Isor 与 Valsartan 之间差异无显著性($P > 0.05$) ,见表 2。

表 2 各组心肌细胞表面积的比较 ($n=8$ $\bar{x} \pm s$)

组别	表面积 / μm^2
对照组	489.64 ± 67.31
AngII 组	761.75 ± 95.09 ¹⁾
Valsartan 组	552.07 ± 93.48 ²⁾
Quer 组	584.22 ± 109.42 ²⁾
Isor 组	611.02 ± 149.38 ²⁾
TFH 组	572.05 ± 104.37 ²⁾

注 :1)与对照组比较 $P < 0.01$ 2)与 AngII 组比较 $P < 0.01$

2.3 心肌细胞总蛋白含量

与空白对照组相比 ,AngII 组心肌细胞总蛋白含量明显增加 ,从(2.63 ± 0.79)ng/well 升高到(4.61 ±

1.42)ng/well($P < 0.01$) ;其他组与空白对照组无显著性。与 AngII 组相比 ,Valsartan 组、TFH 组心肌细胞总蛋白含量明显减少 ($P < 0.01$) ;Isor 组心肌细胞总蛋白含量从(4.61 ± 1.42)ng/well 下降到(3.25 ± 0.94)ng/well ($P < 0.05$) ,Quer 组心肌细胞蛋白含量从(4.61 ± 1.42)ng/well 下降到 (3.41 ± 0.75)ng/well($P < 0.05$)。而 Valsartan 组、Quer 组、TFH 组及 Isor 组相互之间相比差异无显著性($P > 0.05$) ,见表 3。

表 3 各组心肌细胞总蛋白含量的比较 ($n=8$ $\bar{x} \pm s$)

组别	总蛋白含量 /(ng/well)
对照组	2.63 ± 0.79
AngII 组	4.61 ± 1.42 ¹⁾
Valsartan 组	3.04 ± 0.86 ²⁾
Isor 组	3.25 ± 0.94 ³⁾
Quer 组	3.41 ± 0.75 ³⁾
TFH 组	3.10 ± 0.52 ²⁾

注 :1)与对照组比较 $P < 0.01$ 2)与 AngII 组比较 $P < 0.01$ 3)与 AngII 组比较 $P < 0.05$

2.4 心肌细胞 SERCA 活力

与 Control 组相比 ,Valsartan 组、TFH 组、Quer 组和 Isor 组心肌细胞 SERCA 活力的变化差异无显著性($P>0.05$) ;AngII 组心肌细胞 SERCA 活力明显下降了 42.57% ,差异有显著的显著性($P<0.01$)。与 AngII 组相比 ,Valsartan 组心肌细胞 SERCA 活力提高了 56.36%($P<0.05$) ,TFH 组 SERCA 活力提高了 49.15% ($P<0.05$) ,Quer 组 SERCA 活力提高了 50.42%($P<0.05$) ,Isor 组心肌细胞 SERCA 活力提高了 44.49%($P<0.05$)。而 Valsartan 组、TFH 组、Quer 组、Isor 组各组两两相比心肌细胞 SERCA 活力的变化差异无显著性($P>0.05$) ,见表 4。

表 4 各组心肌细胞肌浆网钙泵活力的比较 ($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	SERCA 活力 [$\mu\text{mol}/(\text{gpro} \cdot \text{min})$]
对照组	4.11 ± 1.19
AngII 组	2.36 ± 0.99 ¹⁾
Valsartan 组	3.89 ± 1.12 ²⁾
TFH 组	3.52 ± 0.48 ²⁾
Isor 组	3.55 ± 1.36 ²⁾
Quer 组	3.41 ± 0.79 ²⁾

注 :1)与对照组比较 $P<0.01$ 2)与 AngII 组比较 $P<0.05$

2.5 心肌细胞 CaN 活性

与 Control 组相比 ,TFH 组、Quer 组、Valsartan 组 CaN 活性的升高差异无显著性 ($P>0.05$) AngII 组的心肌细胞 CaN 活性升高差异有显著性 ($P<0.01$) ,Isor 组心肌细胞 CaN 活性升高了 49%($P<0.05$)。与 AngII 组相比 ,TFH 组、Quer 组、Valsartan 组、Isor 组 CaN 活性下降差异有显著性 ($P<0.05$) ,但它们各组两两之间差异没有显著性($P>0.05$) ,见表 5。

表 5 各组心肌细胞钙调神经磷酸酶活性比较 ($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	CaN 活性 $I(u/\text{mgprot})$
对照组	0.25 ± 0.09
AngII 组	0.50 ± 0.13 ¹⁾
Valsartan 组	0.32 ± 0.14 ²⁾
Quer 组	0.37 ± 0.10 ²⁾
Isor 组	0.39 ± 0.11 ²⁾
TFH 组	0.36 ± 0.15 ²⁾

注 :1) 与对照组比较 $P<0.01$ 2) 与对照组比较 $P<0.05$ 3)与 AngII 组比较 $P<0.05$

2.6 心肌细胞 CaNmRNA 的表达

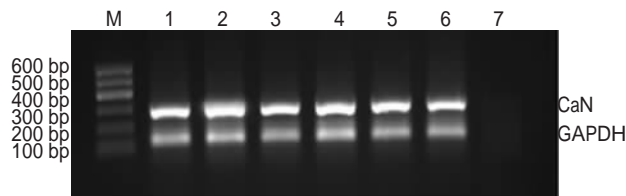
CaN 基因在不同组大鼠心肌细胞中的表达明显不同 ($P<0.05$) ,AngII 组的表达量最高 (1.84 ± 0.11) ,对照组的表达量最低(1.15 ± 0.07) ;在分别

预先加入不同 TFH 及其单体等药物后 ,再加入 AngII 处理 ,CaN 的表达与 AngII 组相比均出现明显下降($P<0.01$) ,其中 Isor 组抑制效果最差 ,与 Valsartan 组之间的差异存在显著性($P<0.05$) ;而其余各组两两比较抑制效果差异性不明显 ,无显著性($P>0.05$) ,见图 2 和表 6。

表 6 不同组大鼠心肌细胞中 CaN 基因表达的比较 ($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	IODCaN/IODGAPDH
Control 组	1.15 ± 0.07
AngII 组	1.84 ± 0.11 ¹⁾
Valsartan 组	1.29 ± 0.08 ¹⁾²⁾
Isor 组	1.44 ± 0.07 ¹⁾²⁾
Quer 组	1.36 ± 0.04 ¹⁾²⁾
TFH 组	1.33 ± 0.05 ¹⁾²⁾

注 :1)与对照组比较 $P<0.05$ 2)与 AngII 组比较 $P<0.01$ 3)与 Valsartan 组比较 $P<0.05$



1 :Control 组 2 :AngII 组 3 :Isor 组 4 :Valsartan 组 5 :Quer 组 6 :TFH 组 7 :不加模板的阴性对照

图 2 CaN 基因在各组中的 RT-PCR 扩增结果

3 讨论

实验显示 TFH 及其单体槲皮素与异鼠李素对血管紧张素 II(AngII)诱导的新生大鼠的肥大心肌细胞有明显的抑制作用 ,且与缬沙坦基本等效。实验结果与国内的报道相近。QIN TAI-CHUN 等^[3]在培养原代大鼠心肌细胞的基础上 ,用血管紧张素 诱导新生大鼠心肌细胞肥大为模型 ,发现 1~100 $\mu\text{mol/L}$ 的槲皮素可以按浓度依赖的方式抑制大鼠心肌细胞肥大。毛张凡等^[7]通过 AngII 制备心肌肥厚的 SD 大鼠模型 ,研究发现五甲基槲皮素(PMQ)能明显抑制 AngII 所致 SD 大鼠的左心指数并且能抑制与心肌肥厚相关的 BNPmRNA 表达上调 ;WU 等^[9]在研究槲皮素对心肌肥大的防治作用及其机制中发现 :Ang II 可诱导新生 SD 大鼠心肌细胞肥大 ,与氧化应激有关 ,而槲皮素可以抑制其肥大 ;高天林等^[9]在研究醋柳黄酮对高血压大鼠心血管重塑的影响中发现 TFH 对高血压及其导致的心肌肥厚均有确切的逆转作用 ,且与卡托普利等效。

国内外还暂无醋柳黄酮及其单体抑制心肌细胞肥大机制与 CaN 信号通路有关的研究报道,而本实验发现 TFH 及其单体对 AngII 诱导新生大鼠心肌细胞肥大的保护作用可通过 SERCA 和 CaN 相关途径来实现。CaN 信号通路在细胞内 Ca^{2+} 增高诱导的心肌肥大发生发展过程中起关键性作用^[10],CaN 是目前所知的体内受 Ca^{2+}/CaM 调节的丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶^[11],而 CaN 对舒张期持续升高的 Ca^{2+} 浓度更敏感^[12],在胞内 Ca^{2+} 增加时, Ca^{2+} 与 CaM 结合,激活 CaN。肌浆网是调节胞浆内 Ca^{2+} 浓度变化的主要因素,而其上的 SERCA 及其调节蛋白受磷蛋白(Phospholamban, PLB) 的作用是调控细胞钙池内钙的摄取,以 SERCA 为主^[13-14]。实验发现 AngII 可以引起 SERCA 活力显著下降、CaN 活性及 CaNmRNA 的表达增加,这些与国内外报道相符^[15-17]。实验还发现醋柳黄酮及其单体槲皮素与异鼠李素同缬沙坦相当,都能使下降的 SERCA 活力部分恢复,并且可以抑制 CaN 的活性及 CaNmRNA 的表达。这些实验结果说明 AngII 可使胞质内游离钙主动转运至肌浆网内贮存的能力下降,从而可能造成 $[Ca^{2+}]_i$ 在心肌细胞胞浆内浓度增加,从而激发 Ca^{2+} -Cal-cineurin-NFAT 信号通路,最终导致细胞肥大;而醋柳黄酮及其单体可能通过提高 SERCA 活力来稳定细胞内游离 Ca^{2+} 主动转运至肌浆网的能力,这样可以使细胞内 Ca^{2+} 浓度下降,从而降低形成钙超载的风险,这样可以抑制 CaN 信号通路,使 CaN 活性及 CaNmRNA 的表达相应降低。总之,该实验认为醋柳黄酮及其单体槲皮素与异鼠李素抑制心肌肥厚与提高肌浆网钙泵(SERCA)活力及 CaN 信号通路有关,这为醋柳黄酮及其单体的心血管保护作用及临床应用提供了理论基础。

参 考 文 献:

- [1] MOKKENTIN JD, LU JR, ANTOS CL, et al. A calcineurin-dependent transcriptional pathway for cardiac hypertrophy[J]. Cell, 1998, 93(2): 215-228.
- [2] ZOU Y, KOMURO I, YAMAZAKI T, et al. Protein kinase C, but not tyrosine kinases or Ras, plays a critical role in angiotensin II-induced activation of Raf-1 kinase and extracellular signal-regulated protein kinases in cardiac myocytes[J]. J Biol Chem, 1996, 271(52): 33592-33597.
- [3] QIN TC, CHEN L, YU LX, et al. Inhibitory effect of quercetin on cultured neonatal rat cardiomyocytes hypertrophy induced by angiotensin II[J]. Acta Pharmacol Sin, 2001, 22(12): 1103-1106.
- [4] 李家富,章茂顺,王家良,等.异鼠李素对兔主动脉血管平滑肌细胞内游离钙浓度的影响[J].泸州医学院报,1999,22(3):188-190.
- [4] LI JF, ZHANG MS, WANG JL, et al. Effects of isorhamnetin on intracellular free calcium concentration in cultured rabbit aortic smooth muscle cell[J]. Journal of Luzhou Medical College, 1999, 22(3): 188-190.Chinese
- [5] CHENG JY, TENG D, LI W. Protection and mechanism of total flavones of Hippophae rhamnoides on vascular endothelial cells [J]. Chinese Journal of Intergrated Traditional And Western Medicine, 2011, 31(3): 355-358.
- [6] ZHOU DX, LIANG QS, HE XX, et al. Changes of c-fos, c-jun mRNA expressions in cardiomyocyte hypertrophy induced by angiotensin II and effects of tanshinone IIA [J]. China Journal of Chinese Meteria Medica, 2008, 33(8): 936-939.
- [7] 毛张凡,孙宗全,杜心灵.五甲基槲皮素对 AngII 致心肌肥厚和细胞凋亡的作用[J].华中科技大学学报:医学版,2009,38(8):335-338.
- [7] MAO ZF, SUN ZQ, DU XL. Effects of 3,3',4',5',7'-Pentamethylquercetin on Cardiac Hypertrophy and Apoptosis in Angiotensin II-infused Rats[J]. Acta Med Univ Sci Technol Huazhong, 2009, 38(8): 335-338. Chinese
- [8] WU Y, GU YM. Extract of Ginkgo biloba and quercetin inhibit angiotensin-II induced hypertrophy in cultured neonatal rat cardiomyocytes[J]. Chinese Journal of Cardiology, 2006, 34(5): 454-457.
- [9] 高天林,蒋毅,谢雪梅,等.醋柳黄酮对高血压大鼠心血管重塑的影响[J].实用医学杂志,2011,27(21):3848-3850.
- [9] GAO TL, JIANG Y, XIE XM, et al. The effects of total flavones of hippophae rhamnoides on cardiovascular remodeling in hypertensive rats[J]. The Journal of Practical Medicine, 2011, 27(21): 3848-3850. Chinese
- [10] CACCIAPUOTI F. Molecular mechanisms of left ventricular hypertrophy (LVH) in systemic hypertension (SH)-possible therapeutic perspectives[J]. J Am Soc Hypertens, 2011, 5(6): 449-455.
- [11] RUMI-MASANTE J, RUSINGA FI, LESTER TE, et al. Structural basis for activation of calcineurin by calmodulin[J]. J Mol Biol, 2012, 415(2): 307-317.
- [12] CRABTREE GR. Generic signals and specific outcomes: signaling through Ca^{2+} , calcineurin, and NF-AT[J]. Cell, 1999, 96(5): 611-614.
- [13] DIBB KM, GRAHAM HK, VENETUCCI LA, et al. Analysis of cellular calcium fluxes in cardiac muscle to understand calcium homeostasis in the heart[J]. Cell Calcium, 2007, 42(4-5): 503-512.
- [14] WU X, CHANG B, BLAIR NS, et al. Plasma membrane Ca^{2+} -ATPase isoform 4 antagonizes cardiac hypertrophy in association with calcineurin inhibition in rodents[J]. J Clin Invest, 2009, 119(4): 976-985.
- [15] 周红敏,晋玉章,谢文利,等.黄芪 IV 对血管紧张素 II 诱导新生大鼠心肌细胞肥大的保护作用[J].中国药理学通报,2009,25(10): 1330-1334.
- [15] ZHOU HM, JIN YZ, XIE WL, et al. Protective effects of astra-

- galoside IV on hypertrophy induced by angiotensin II in primary cultured cardiomyocytes of neonatal rats[J]. Chinese Pharmaceutical Bulletin, 2009, 25(10): 1330-1334. Chinese
- [16] 符民贵,陈亚红,李淑莲,等. 钙调神经磷酸酶在血管紧张素 II 刺激的大鼠心肌细胞肥大中的作用及其活性调节[J]. 中国病理生理杂志,2000,16(7):588-591.
- [16] FU MG, CHEN YH, LI SL, et al. Role and regulation of calcineurin in angiotensin II-stimulated cardiac myocyte hypertrophy of rats[J]. Chinese Journal of Pathophysiology, 2000, 16(7): 588-591. Chinese
- [17] LU JY, ZHU JH, QIN XT, et al. Role of valsartan on myocardial Calpain I, calcineurin and Ca/calmodulin-dependent protein kinase II δ expression of renovascular hypertensive rats[J]. Chinese Journal of Cardiology, 2012, 40(6): 511-515.