

心血管疾病

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.000243

金莲花总黄酮对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用

房江山, 孟新玲, 刘远新

(新疆医科大学附属中医医院脑病一科, 乌鲁木齐 830000)

【摘要】目的:研究金莲花总黄酮对大鼠心肌缺血再灌注损伤(myocardial ischemia reperfusion injury, MI/RI)的保护作用及机制。**方法:**50 只雄性 SD 大鼠随机分为假手术组, 模型组, 阳性对照地奥心血康组, 金莲花总黄酮高、低剂量组, 每组 10 只, 手术前 1 周, 金莲花总黄酮组灌胃给予不同剂量药物[50、100 mg/(kg·d)], 地奥心血康组按 0.06 g/(kg·d)生药灌胃, 其余 2 组给予等量生理盐水。结扎大鼠左冠状动脉前降支 30 min, 再灌注 120 min 制备 MI/RI 模型。观察缺血期及再灌注期心电图 ST 段的变化, 测定血清中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathion peroxidase, GSH-Px)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、肌酸激酶(creatine kinase, CK)和乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)变化, TTC 染色法测定心肌梗死面积; TUNEL 法测定心肌细胞凋亡。**结果:**与对照组相比, 金莲花总黄酮高剂量组能明显降低 CK(945.2 ± 94.6)、LDH(978.8 ± 37.5)的释放和 MDA(5.75 ± 1.22)的产生, 提高 SOD(107.71 ± 10.95)、GSH-Px(1.62 ± 0.45)活性, 降低心肌梗死面积(22.18 ± 1.99), 拮抗心肌缺血再灌注心肌细胞凋亡(差异均有统计学意义 $P < 0.01$)。**结论:**金莲花总黄酮对大鼠 MI/RI 有保护作用, 其作用机制可能是与清除氧自由基、抗脂质过氧化、抑制心肌细胞凋亡、减少心肌酶释放入血有关。

【关键词】金莲花; 总黄酮; 缺血再灌注损伤**【中图分类号】**R541.4**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2013-12-03

Protective effects of flavone of Trollius chinensis Bunge on myocardial ischemia reperfusion injury in rats

Fang Jiangshan, Meng Xinling, Liu Yuanxin

(Department of Encephalopathy, Traditional Chinese Medicine Hospital Affiliated to Xinjiang Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the effect and possible mechanism of flavone of Trollius chinensis Bunge on myocardial ischemia reperfusion injury (MI/RI) in rats. **Methods:** Fifty male SD rats were randomly divided into sham operation group, model group, positive control Di'ao Xinxuekang group, nasturtium total flavonoids high and low dose groups (10 rats in each group). One week before the surgery, different doses (50, 100 mg/(kg·d)) were given to nasturtium total flavonoids high and low dose groups by intragastric administration, 0.06 g/(kg·d) crude drug was given to Di'ao Xinxuekang group by intragastric administration and the same amount of physiological brine was given to the other two groups. The myocardial ischemia reperfusion injury model was established through occluding the left anterior descending branch of coronary artery for 30 min and removing the ligation later to reperfuse for 120 min in vivo. The changes of ST segment on ECG during ischemia and reperfusion was observed. The activity of superoxide dismutase (SOD), glutathion peroxidase (GSH-Px) and the contents of malondialdehyde (MDA), lactate dehydrogenase (LDH), creatine kinase (CK) in serum were detected. The infarction area was determined by TTC staining and the myocardial apoptosis was determined by TUNEL method. **Results:** Levels of serum MDA, CK, LDH were decreased, content of SOD was improved, activity GSH-Px was enhanced, and infarction area and myocardial apoptosis rate were effectively reduced in nasturtium total flavonoids high dose group (CK: 945.2 ± 94.6 ; LDH: 978.8 ± 37.5 ; MDA: 5.75 ± 1.22 ; SOD: 107.71 ± 10.95 ; GSH-Px: 1.62 ± 0.45 ; infarction area: 22.18 ± 1.99) than in control group ($P < 0.01$). **Conclusion:** The flavone of Trollius chinensis Bunge could protect myocardium from MI/R injury and the mechanism may be associated with scavenging oxygen free radicals, reducing lipid peroxidation, inhibiting myocardial apoptosis and reducing the leak out of myocardial enzymes.

【Key words】Trollius chinensis Bunge; flavone; ischemia/reperfusion

作者介绍: 房江山, Email: sun_tfsx@163.com,

研究方向: 神经内科、中医内科。

通信作者: 刘远新, Email: lyx_liuyx@163.com。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13406/j.cnki.cyx.000243.html>

金莲花是毛茛科植物金莲花的干燥花及花蕾,具有清热解毒、抗菌消炎等功效^[1],民间主要用于治疗上呼吸道感染等疾病。其黄酮类化合物为金莲花的主要活性成分,目前已被开发成多种复方制剂应用于临床。其中,市场上出售的金莲花胶囊黄酮类化合物具有预防心血管疾病、防癌抗癌、抗菌抗病毒等作用,但金莲花总黄酮对大鼠心肌缺血再灌注损伤(myocardial ischemia reperfusion injury, MI/RI)的保护作用及机制研究报道甚少。为了进一步探讨金莲花的药效物质基础,本实验采用金莲花总黄酮预处理大鼠,分析其对 MI/RI 的保护作用及其机制,旨在为中药金莲花总黄酮用于防治心血管疾病提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 仪器

DW-2000 型小动物人工呼吸机(上海嘉鹏科技有限公司),TDL5M 型台式低速冷冻离心机(凯特实验仪器有限公司),显微数码互动显微镜(日本 Olympus 公司),BSM-7105K 床边监护仪(上海光电医川电子仪器有限公司),UV751GD 紫外/可见分光光度计(上海分析仪器厂),7170A 全自动生物化学分析仪(日本)。

1.2 药物与主要试剂

金莲花总黄酮由新疆维吾尔自治区中医医院制剂室提供,纯度为 98%。地奥心血康胶囊由成都地奥制药集团有限公司提供,批号 02121054,取出胶囊中内容物,每粒含甾体总皂苷 100 mg。氯化三苯基四氮唑(TTC) 购自美国 Sigma 化学公司;戊巴比妥钠粉剂由上海试剂三厂分装;丙二醛(malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)、肌酸激酶(creatine kinase, CK)和乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)试剂盒购自南京建成生物工程研究所;TUNEL 试剂盒(Roche 公司,货号:11772457001),其余均为国产分析纯。

1.3 动物

普通级 SD 成年雄性大鼠 50 只,体质量 250~300 g,由新疆维吾尔自治区医学实验动物研究中心提供,合格证号:医动字第 2 号。

1.4 方法

1.4.1 动物分组与处理 实验前先进行动物筛选,心电图检查无异常者进入实验。将 50 只大鼠随机分为假手术组、模型组、金莲花总黄酮剂量组[低、高剂量分别为 50、100 mg/(kg·d)]和地奥心血康组[给药剂量相当于生药含量 0.06 g/(kg·d)],每组 10 只。连续给药 7 d,口服灌胃,假手术组和模型组同时给予相应容积的生理盐水,末次给药 1 h 后行手术。

1.4.2 动物模型建立 戊巴比妥钠(ip, 45 mg/kg)腹腔麻醉,仰卧位固定,颈部去毛,切开皮肤,气管插管,人工呼吸,开胸暴露心脏。结扎大鼠左冠状动脉前降支缺血 30 min 后再灌注 120 min,以心电图 ST 段抬高、T 波高耸作为心肌缺血的标志;以抬高的 ST 段下降, T 波逐渐恢复确定再灌注的成功。假手术组冠状动脉左前降支穿线,不结扎。实验过程中,模型组动物有 1 只死亡,故动物总数为 49 只。

1.5 观测指标

1.5.1 大鼠 MI/RI 心电图 ST 段抬高情况 记录肢体标准 II 导联心电图,观察并记录心肌缺血和再灌注时 ST 段的变化。

1.5.2 血清心肌酶及脂质过氧化指标的检测 再灌注结束时,腹主动脉取血 3 ml,静置 30 min 后离心(3 500 r/min)10 min,分离血清,按试剂盒说明测相应指标。

1.5.3 心肌梗死面积测量 参考文献^[2-3]采用传统离体 TTC 染色法确定梗死面积,以心肌梗死区质量占左室质量的百分比(心肌梗死面积=心肌梗死区质量/左心室质量×100%)反映心肌梗塞范围。

1.5.4 心肌细胞凋亡的检测^[6-8] 取心肌梗死区组织,中性甲醛固定,石蜡包埋,切片,按照罗氏 TUNEL 试剂盒的操作说明进行染色。正常心肌细胞的细胞核呈蓝色,凋亡心肌细胞的细胞核呈棕黄色。每张切片随机选取 5 个视野(×400),每个视野至少计数 200 个细胞核,计算凋亡细胞数和细胞总数,然后计算凋亡指数。凋亡指数=(凋亡细胞数/总观察细胞数)×100%。

1.6 统计学处理

采用 SPSS 16.0 统计软件进行资料处理。实验数据均为计量资料,文中以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,均通过正态性检验。多组间的整体比较为单因素方差分析。各组间两两比较为 LSD-*t* 检验。考虑到比较的指标众多,有些指标间还具有某种性质的内在关联,故基于稳健统计原则,适当调低检验水准,取 $\alpha=0.01$ 。

2 结果

2.1 金莲花总黄酮对大鼠 MI/RI 心电图 ST 段的影响

观测数据列于表 1。经整体检验(单因素方差分析)ST 段缺血期及再灌注期的电水平,5 个组间整体具有统计学差异($P<0.01$)。多重比较知:与假手术组比较,其余各组缺血期 ST 均抬高,各组再灌注期的 ST 段较缺血期降低,提示模型建立成功。与模型组比较,地奥心血康组的缺血期及再灌注期的 ST 段明显降低,金莲花总黄酮高剂量组在缺血期和再灌注期 ST 段抬高幅度明显降低,低剂量组 ST 段抬高幅度与模型组比较无统计学差异。其他各组比较情况见表 1。

2.2 金莲花总黄酮对大鼠 MI/RI 心肌梗死范围测定(面积)的影响

数据亦列示于表 1 中。单因素方差分析知:5 个组间整体比较有统计学差异($P<0.01$)。再经多重比较:与假手术组比较,模型组大鼠心肌梗死面积增加;与模型组比较,地奥心血康组、金莲花总黄酮高剂量组 MI/RI 梗死面积均降低;其他

两两组间比较见表 1 此不赘述。5 个组的心肌病理形态变化情况参见图 1。

2.3 金莲花总黄酮对大鼠 MI/RI 心肌细胞凋亡的影响

5 个组的心肌细胞凋亡数据,整体比较有统计学差异 ($P<0.01$),仍见表 1。两两比较结果:模型组细胞凋亡率明显

高于假手术组;金莲花总黄酮低、高剂量组和地奥心血康组心肌细胞凋亡率明显低于模型组;金莲花总黄酮高剂量组和地奥心血康组细胞凋亡率均明显低于金莲花总黄酮低剂量组,但前 2 组无统计学差异。此外,经 TUNEL 染色后发现:凋亡阳性细胞颜色呈棕褐色,形状不规整。参见图 2。

表 1 金莲花总黄酮对 MI/RI 大鼠心电图等多项指标的影响 ($\bar{x} \pm s$)
Tab.1 Effects of Trollius flavonoids on ECG and many other indicators of MI/RI rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	数量 (n)	ST段缺血期 (mV)	ST段再灌注期 (mV)	心肌梗死面积 (%)	细胞凋亡率 (%)
A1:假手术组	10	0.12 ± 0.03	0.10 ± 0.03	0.00 ± 0.00	0.46 ± 0.15
A2:模型组	9	0.39 ± 0.07	0.38 ± 0.03	47.34 ± 4.46	15.57 ± 2.52
A3:地奥心血康组	10	0.27 ± 0.04	0.23 ± 0.04	22.55 ± 1.99	7.08 ± 1.67
A4:金莲花总黄酮低剂量组	10	0.36 ± 0.04	0.35 ± 0.03	44.84 ± 2.89	10.91 ± 2.20
A5:金莲花总黄酮高剂量组	10	0.30 ± 0.05	0.25 ± 0.03	22.18 ± 2.44	7.16 ± 1.19
整体比较:F,P		48.15,0.000	115.78,0.000	493.36,0.000	98.84,0.000
多重比较:LSD-t,P	A2vsA1	12.58,0.000	19.32,0.000	38.47,0.000	19.33,0.000
	A3vsA1	7.04,0.000	8.62,0.000	18.31,0.000	8.46,0.000
	A4vsA1	11.25,0.000	17.08,0.000	36.45,0.000	13.35,0.000
	A5vsA1	8.45,0.000	9.92,0.000	18.03,0.000	8.57,0.000
	A3vsA2	5.54,0.000	10.70,0.000	20.17,0.000	10.87,0.000
	A4vsA2	1.33,0.190	2.24,0.030	2.02,0.050	5.97,0.000
	A5vsA2	4.13,0.000	9.39,0.000	20.45,0.000	10.76,0.000
	A4vsA3	4.21,0.000	8.46,0.000	18.15,0.000	4.90,0.000
	A5vsA3	1.41,0.165	1.31,0.198	0.28,0.780	0.11,0.912
	A5vsA4	2.80,0.008	7.15,0.000	18.43,0.000	4.79,0.000

注:各指标的整体比较为单因素方差分析,多组间两两比较为 LSD-t 检验。因比较的指标较多,且这些指标间均有某种性质的内在关联,故综合考虑取检验水准 $\alpha'=0.01$,以求统计稳健

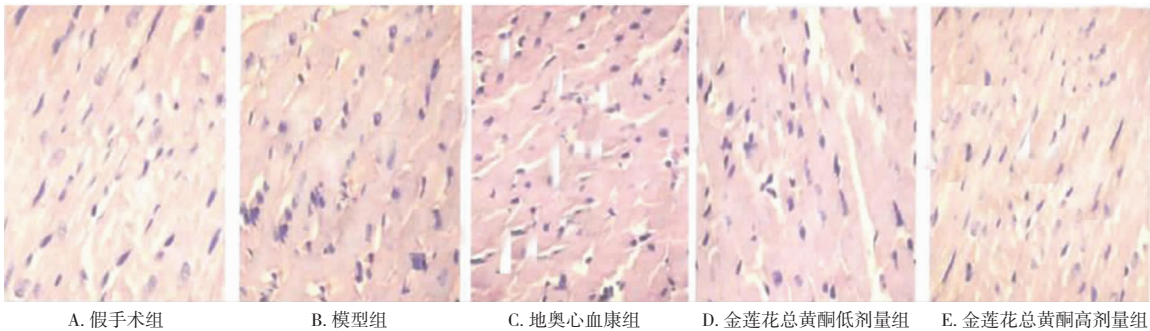


图 1 各组心肌病理形态变化情况 (400 ×)

Fig.1 Changes in myocardial pathomorphism in each group (400 ×)

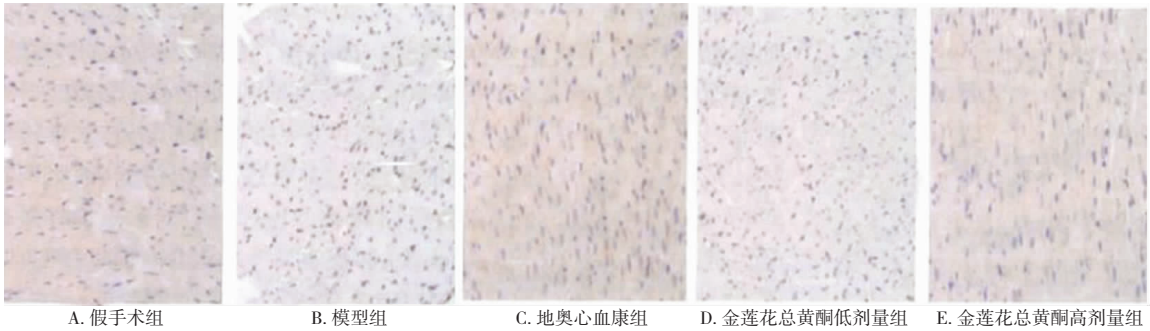


图 2 各组心肌细胞凋亡情况 (400 ×)

Fig.2 Apoptosis of myocardial cells (400 ×)

表 2 金莲花总黄酮对 MI/RI 大鼠血清几项指标的影响 ($\bar{x} \pm s$)Tab.2 Effects of Trollius flavonoids on several serum indicators of MI/RI rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	数量 (n)	SOD (U/ml)	MDA (nmol/ml)	GSH-Px (nmol/L)
A1:假手术组	10	118.28 ± 9.71	3.87 ± 1.17	1.86 ± 0.24
A2:模型组	9	76.00 ± 4.22	8.59 ± 1.29	1.26 ± 0.24
A3:地奥心血康组	10	98.65 ± 6.09	5.52 ± 1.12	1.45 ± 0.49
A4:金莲花总黄酮低剂量组	10	83.31 ± 10.06	7.18 ± 0.99	1.44 ± 0.31
A5:金莲花总黄酮高剂量组	10	107.71 ± 10.95	5.75 ± 1.22	1.62 ± 0.45
整体比较: F, P		43.88, 0.000	21.09, 0.000	3.22, 0.021
多重比较: $LSD-t, P$	A2vsA1	11.37, 0.000	8.72, 0.000	2.99, 0.004
	A3vsA1	6.08, 0.000	3.42, 0.001	3.07, 0.004
	A4vsA1	10.21, 0.000	6.09, 0.000	2.55, 0.014
	A5vsA1	3.47, 0.001	3.14, 0.003	1.96, 0.056
	A3vsA2	5.28, 0.000	5.30, 0.000	0.08, 0.938
	A4vsA2	1.15, 0.255	2.63, 0.012	0.44, 0.659
	A5vsA2	7.89, 0.000	5.58, 0.000	1.03, 0.308
	A4vsA3	4.13, 0.000	2.67, 0.011	0.52, 0.603
	A5vsA3	2.61, 0.012	0.28, 0.778	1.11, 0.273
	A5vsA4	6.74, 0.000	2.95, 0.005	0.59, 0.560

注:同表 1

2.4 金莲花总黄酮对大鼠 MI/RI 血清 SOD、MDA、GSH-Px 的影响

MI/RI 血清 SOD、MDA、GSH-Px 等 3 个指标的资料均列示于表 2 中。经单因素方差分析:前 2 个指标的 5 个组间整体比较均有统计学差异 ($P < 0.01$)。而 GSH-Px 指标的 5 组整体差异无统计学意义。再经多重比较:与假手术组比较,模型组血清 SOD、GSH-Px 活性明显降低,MDA 含量明显升高。与模型组比较,地奥心血康组 SOD、GSH-Px 活性明显升高,MDA 含量明显降低,金莲花总黄酮高剂量组 SOD、GSH-Px 活性明显升高,MDA 含量明显降低,金莲花总黄酮低剂量组 MDA 含量明显降低;金莲花总黄酮低剂量组 SOD、GSH-Px 活性与模型组无统计学差异。详见表 2。

2.5 金莲花总黄酮对大鼠 MI/RI 血清心肌酶的影响

血清心肌酶分别以 CK 和 LDH 2 个指标描述,整体分析知 5 个组间均有统计学意义 ($P < 0.01$)。经两两比较:与假手术组比较,模型组 CK 和 LDH 释放量明显增加。与模型组比较,地奥心血康组 CK 和 LDH 释放量均明显降低,金莲花总黄酮高、低剂量组 CK 和 LDH 释放量明显下降;金莲花总黄酮高剂量组与地奥心血康组 CK 和 LDH 释放量无统计学差异。详细数据及比较结果参见表 3。

表 3 金莲花总黄酮对 MI/RI 大鼠血清心肌酶的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.3 Effects of Trollius flavonoids on serum MI/RI of

rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	数量 (n)	CK/UoL ⁻¹	LDH/ UoL ⁻¹
A1:假手术组	10	614.1 ± 63.8	642.6 ± 17.1
A2:模型组	9	1 143.7 ± 111.5	1 280.1 ± 138.6
A3:地奥心血康组	10	951.8 ± 82.6	927.6 ± 37.2
A4:金莲花总黄酮低剂量组	10	1 062.5 ± 84.6	939.7 ± 31.4
A5:金莲花总黄酮高剂量组	10	945.2 ± 94.6	979.8 ± 37.5
整体比较: F, P		45.13, 0.000	154.01, 0.000
多重比较: $LSD-t, P$	A2vsA1	12.64, 0.000	24.94, 0.000
	A3vsA1	7.75, 0.000	12.57, 0.000
	A4vsA1	10.38, 0.000	13.29, 0.000
	A5vsA1	7.89, 0.000	15.02, 0.000
	A3vsA2	4.88, 0.000	12.37, 0.000
	A4vsA2	2.25, 0.029	11.66, 0.000
	A5vsA2	4.74, 0.000	9.92, 0.000
	A4vsA3	2.63, 0.012	0.71, 0.479
	A5vsA3	0.14, 0.892	2.45, 0.018
	A5vsA4	2.49, 0.017	1.74, 0.089

注:同表 1

3 讨 论

近年来,应用传统中药或其提取物防治 MI/RI 的研究逐渐增多^[9-10],尤其是黄酮类化合物,因其具

有保护心脑血管、利胆保肝等多种生物效应/活性作用愈来愈受到关注。

本文实验中,与模型组比较,金莲花总黄酮药物能降低缺血期和再灌注期的 ST 段抬高幅度。此外该药物亦能减小大鼠心肌缺血再灌注所致心肌梗死面积,甚至低剂量组心肌梗死面积也有所减小。

氧自由基引起的脂质过氧化是缺血/再灌注损伤的重要机制之一^[11]。缺血再灌注使自由基的生成和清除失衡,导致氧自由基堆积,进而使生物膜发生脂质过氧化反应,导致细胞膜的结构和功能损伤,从而加剧缺血心肌的组织损伤及功能障碍^[12]。所以,检测血清自由基清除酶 SOD、GSH-Px 活性能反映机体内氧自由基含量清除能力^[4],检测脂质过氧化反应终产物 MDA 值能反映脂质过氧化程度。本文实验结果表明,相对于模型组,金莲花总黄酮高剂量组能明显提高 SOD、GSH-Px 活性,降低 MDA 含量,表明金莲花总黄酮高剂量组通过提高自由基清除酶活性、减轻脂质过氧化损伤对心肌再灌注损伤起到保护作用;低剂量组可降低 MDA 含量,对 SOD、GSH-Px 活性影响无统计学差异,表明低剂量组与减轻脂质过氧化损伤有关。

MI/RI 时,自由基堆积和 Ca^{2+} 超载造成细胞膜和线粒体损伤,导致心肌细胞释放各种酶入血,会引起一系列血清酶(如 CK 及 LDH)活性变化。此外,心肌中心肌酶耗竭可反映心肌缺血范围的大小,而心肌中这些酶释放入血的多少则与心肌坏死程度呈正相关,故测定其血清活性可作为估计心肌缺血损伤程度的指标^[13]。本研究发现心脏冠状动脉结扎 30 min 再灌注 120 min 后 CK、LDH 释放量明显增加,说明缺血再灌注损伤后心肌细胞损害严重,高、低剂量组心肌酶释放量均下降,表明金莲花总黄酮组对缺血再灌注损伤心肌有一定保护作用,减轻了心肌细胞膜的损伤,降低了心肌酶的释放,从而改善能力代谢障碍。

本实验采用 TUNEL 法检测心肌细胞凋亡,发现在缺血再灌注组可见大量凋亡细胞,证实了缺血再灌注可诱导心肌细胞凋亡发生,金莲花总黄酮组凋亡细胞明显减少,表明其能有效抑制缺血再灌注

所致心肌细胞凋亡。

综上所述,金莲花总黄酮能够减轻实验大鼠 MI/RI,可能降低缺血期和再灌注期的 ST 段抬高幅度,缩小心肌梗死面积,明显抑制心肌细胞凋亡,提高 SOD、GSH-Px 活性,降低 MDA 含量,抑制心肌酶的释放,作用机制可能与金莲花总黄酮抗氧化、清除氧自由基、减少脂质过氧化产物的生成、减少心肌酶释放、抗凋亡有关。

参 考 文 献

- [1] 赵二劳,赵小花,范建凤.金莲花黄酮微波辅助提取及其抗氧化性[J].食品与生物技术学报,2009,28(1):81-85.
- [2] 赵 胜,冯国清,杨万雷.地奥心血康对大鼠心肌缺血再灌注损伤防护机制的探讨[J].医药论坛杂志,2005,26(23):68-69.
- [3] 方 明,张宏考,高羽勤,等.黄连素预处理对在体大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用[J].中国中医急症,2009,8(3):408-409.
- [4] 张绪东,蒋伟哲,焦 阳,等.龙眼参黄酮抗心肌缺血再灌注引起的脂质过氧化损伤的研究[J].时珍国医国药,2008,19(3):607-609.
- [5] Ytrehus K, Liu Y, Tsuchida A, et al. Rat and rabbit heart infarction: effects of anesthesia, perfusate, risk zone, and method of infarct sizing [J]. Am J Physiol, 1994, 267(6 Pt 2): H2383-H2390.
- [6] 翟宏颖,王桂敏.菟丝子黄酮对缺血再灌注大鼠心肌细胞凋亡的影响[J].中国动脉硬化杂志,2011,19(3):211-215.
- [7] 刘灵芝.巴戟天醇提物对离体大鼠心肌缺血再灌注损伤后白介素-1 β 、肿瘤坏死因子- α 及心肌细胞凋亡的影响[J].中国医药导报,2012,9(29):11-13.
- [8] 窦锦明,荆汉卫.黄芩总黄酮对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用[J].山东中医药大学学报,2013,37(1):50-51.
- [9] 傅俊英,史载祥.中药预处理心肌保护作用的研究现状及前景[J].中药药理与临床,2003,19(1):46-49.
- [10] 赵淑敏,孔祥玉,周 健,等.黄芪预处理对缺血再灌注大鼠心肌超微结构的保护作用[J].中国临床康复,2005,9(13):2583.
- [11] Hayashi A, Ito H, Shomori K, et al. Frequent occurrence of hepatocytic apoptosis in acute rejection of the grafted rat liver[J]. Pathol Int, 1997, 47(8):518-524.
- [12] Wolff AA, Rotmensch HH, Stanley WC, et al. Metabolic approaches to the treatment of ischemic heart disease: the clinicians' perspective [J]. Heart Fail Rev, 2002, 7(2):187.
- [13] Hillis LD, Braunwald E. Myocardial ischemia (second of three parts) [J]. New Engl J Med, 1977, 296(18):1034-1041.

(责任编辑:冉明会)