

中药强心方对超负荷所致大鼠心力衰竭模型的疗效研究

杨明

(辽宁省营口市中心医院心内科, 营口, 115000)

摘要 目的:探究对于超容量负荷作用下的大鼠心力衰竭模型使用中药强心方在急性期与慢性期的相关影响。方法:取45只SD大鼠随机均分为A组(假手术组)、B组(单纯造瘘心脏超负荷组)与C组(心脏超负荷+强心方观察组),制备超容量负荷大鼠心力衰竭模型,并给予相应的处理与干预措施,急性期(3d)进行氧化应激、基质金属蛋白酶(MMP)等生物化学指标检测,远期(8周)评价左心室的大小与功能。结果:B组大鼠的左心室肥大细胞密度显著高于A组与C组($P < 0.05$);B组大鼠肥大细胞密度增加与基质金属蛋白酶2(Matrix Metalloprotein2, MMP2)活性增加呈显著相关性;容量超载使大鼠心肌氧化应激水平显著升高,B组平均水平显著高于A组与C组($P < 0.05$),心室的重量显著大于A组($P < 0.05$)。与A组大鼠比较,右心室与肺组织重量亦显著增加,然而C组显著降低左右心室与肺组织的重量增加;与B组比较,C组大鼠整体的体质量降低($P < 0.05$)。与A组大鼠 V_0 数据比较,B组大鼠存在显著左心室扩张($P < 0.05$);强心方治疗能够显著降低左心室容积增加的程度($P < 0.05$);心肌顺应性结果显示强心方可使其增加程度显著降低,与B组比较,差异无统计学意义($P < 0.05$);收缩期的压力-容积数据提示随心脏超负荷的持续加载可见心室内收缩显著受抑制($P < 0.05$),C组大鼠收缩功能与A组基本一致。结论:本研究中结果初步显示对于超容量负荷作用下诱导的大鼠心力衰竭动物模型,强心方具有明显的功能性心脏保护作用,并且这种保护作用可能与MMP活性与氧化应激反应的抑制相关。

关键词 强心方;中药;大鼠;心力衰竭;超负荷

Study on the Efficacy of Qiangxin Formula of Traditional Chinese Medicine in Heart Failure Model Induced by Overload in Rats

Yang Ming

(Cardiology Department, Yingkou Center Hospital in Liaoning Province, Yingkou 115000, China)

Abstract Objective: To explore the effects of applying Qiangxin Formula of traditional Chinese medicine (TCM) in acute and chronic phases of rat heart failure models under overload. **Methods:** A total of 45 Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into 3 groups: group A (sham operation), group B (simple ostomy cardiac overload) and group C (cardiac overload + Qiangxin Formula treatment). The model of heart failure induced by overload was made and the corresponding treatment were applied. Biochemical indexes such as oxidative stress and matrix metalloproteinases were detected in the acute phase (3 days), and the left ventricular size and function were evaluated in the long term (8 weeks). **Results:** The density of left ventricular mast cells in the group B was significantly higher than that in the group A and C ($P < 0.05$). The increase of mast cell density in the group B was significantly correlated with the increase of MMP-2 activity. The level of oxidative stress was increased significantly under overload, in which the average level of the group B was significantly higher than that of the group A and C. The weight of the ventricle was significantly higher than that of the group A; the weight of the right ventricle and the lung tissue was also significantly increased compared with the group A, however, Qiangxin Formula could significantly reduce the weight gain of the left and right ventricles and lungs; Qiangxin Formula could reduce the overall body weight of the rat compared with the group B ($P < 0.05$). Compared with the V_0 data of the group A, there was significant left ventricular dilatation in the group B; Qiangxin Formula could significantly reduce the increase of left ventricular volume ($P < 0.05$); myocardial compliance showed that Qiangxin Formula could reduce its increase ($P < 0.05$ compared with the group B). The systolic pressure-volume data suggested that the ventricular contraction was significantly inhibited as the cardiac overload was continuously loading ($P < 0.05$), and the contractive functions of rats in the group C and A were basically the same. **Conclusion:** The preliminary results of the study showed that Qiangxin Formula has a significant functional cardioprotective effect on rat models of heart failure induced by overload, and this protective effect may be related to the inhibition of MMP activity and oxidative stress reaction.

Key Words Qiangxin Formula; Traditional Chinese medicine; Rat; Heart failure model; Overload

中图分类号: R285.5 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2019.07.012

容量超负荷是心力衰竭病程进展中主要的伴随现象,患者出现心力衰竭的临床症状前,容量超负荷即已存在,其可导致室壁张力增加,不仅左室形状改变(由椭圆变为圆形,心肌重塑)导致二尖瓣关闭不全,还可形成心内膜下心肌缺血,导致心肌坏死/凋亡和神经内分泌系统的激活,严重影响患者预后^[1-3]。目前研究显示,肥大细胞在心室不良重塑中发挥着重要作用,在心脏超负荷作用下急性期可伴随发生心脏肥大细胞密度增加,基质金属蛋白酶(Matrix Metalloprotein, MMP)激活及胶原蛋白的降解,因此对肥大细胞脱颗粒的有效抑制能够在一定程度上减轻心室的扩张与功能障碍^[4-5]。强心方是主要针对心力衰竭的中药方,以利水消肿、益气温阳为根本,通脉活血,临床中对改善心力衰竭患者生命质量具有积极的作用^[6-7],但对于其在大鼠模型中的应用和急性期细胞分子生物学水平上的改变目前研究尚少,因此本文以此为目的展开研究,以期为临床诊疗和科研提供借鉴。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 研究选用8周雄性SD大鼠(购自北京华阜康生物科技股份有限公司,医动字第20-050号),总计45只,于我院动物实验中心在标准环境下喂养。实验饲养条件为:温度20~24℃,湿度约为50%~60%,光照与否循环时间为12h,灭菌饲料和饮用水由动物中心统一提供并由饲养者自行用。

1.1.2 药物 葶苈子(批号:201806)、大枣(批号:201805)、甘遂(批号:201804)、桂枝(批号:201803)和芫花(批号:2018002)均购自市中药材批发市场,经鉴定为十字花科葶苈属植物葶苈的种子,鼠李目鼠李科枣属植物的果实、大戟科大戟属植物的根、樟科植物肉桂的干燥嫩枝及瑞香科植物芫花的干燥花蕾。中药强心方组成:葶苈子40g、大枣40g、甘遂2g、桂枝2g、芫花2g;药物制备:使用砂锅水煎熬制药物,加水600mL,用竹筷搅动后浸泡0.5h,然后大火熬制15min后,中小火熬制50min后去渣,药物浓缩为1.5g~3.0g/mL,放置4℃冰箱备用。

1.1.3 试剂与仪器 T400型动物用多普勒超声(美国Transonic Systems公司),Gel Doc XR图像分析仪(美国BioRad公司),BL-420F生物功能实验系统/生物信号采集与分析系统/多道生理记录仪(成都泰盟软件有限公司)。异氟醚(上海倍卓生物科技有限公司,生产批号:20180011,4%浓度下进行诱导,维持浓度2.5%,供氧平衡),盐酸丁丙诺非(天

津药物研究院药业有限责任公司,生产批号:20180201,国药准字H12020275,皮下注射);戊巴比妥钠(北京华业寰宇化工有限公司,批号01703,腹腔注射),丙二醛(批号:20180102)、MMP-2(批号:20181112)和MMP-9(批号:20181201)试剂盒,均购自上海信帆生物科技有限公司。甲醇(批号:201803)、乙酸(批号:201804)均购自市化学试剂厂。

1.2 方法

1.2.1 分组与模型制备 心脏超负荷诱导:按照先前文献中报道的方法建立大鼠腹主动脉腔静脉瘘,将大鼠麻醉后腹腔打开,显现主动脉与下腔静脉,将18号针插入肾动脉下腹主动脉内并沿着内侧壁深入至腔静脉内造瘘,将针取出后穿刺部位使用氰基丙烯酸酯盐粘合剂密封,如果可见腔静脉内搏动的含氧血液则提示造瘘成功。实验终点时对每只大鼠进行称重与麻醉,打开腹腔,直视下查看瘘管是否畅通;行气管切开术,将大鼠连接至呼吸机上,开胸暴露心脏,使用动物用多普勒超声探头检测心输出量,之后分离心脏评估左心室大小和功能;功能评估后去除心房和大血管,分离并称重组剩余的左右心室与室间隔部分组织;将食管与气管剪掉后胸膜表面吸干测量肺湿重。本研究所有操作与相关内容均经我院伦理委员会知情同意。将制好的模型大鼠分为均分B组(单纯造瘘心脏超容量负荷组)与C组(心脏超容量负荷+强心方观察组),实施假手术的大鼠为A组(假手术组),每组各15只。

1.2.2 给药方法 3组动物均在制模成功后,第2天给药。C组动物给予中药强心方煎剂灌胃治疗,给药剂量为30g/100g,将药物浓缩膏稀释为1mL含有3g生药量,给药容积为:10mL/100g,1次/d。A组合B组动物给与等量蒸馏水灌胃,连续给药8周。给药期间实验动物均自由饮水并用普通饲料喂养。

1.2.3 检测指标与方法 1)急性期分子生物学指标评价:a.肥大细胞密度:福尔马林固定的左心室组织切片进行PE染色,其可选择性地对肥大细胞进行区分;以mm²区域为单元计数其中的肥大细胞数量;b.氧化应激反应监测:脂质过氧化化的程度,通过检测氧化应激的副产物丙二醛(MDA)来间接反映,先前研究已证实脂质过氧化物与硫代巴比妥酸的反应是测定组织中氧化应激较为敏感的指标;c. MMP活性检测:每例标本内提取30μg蛋白质在含8%SDS-PAGE的非还原条件下进行明胶电泳,之后将凝胶置于2.5%Triton X-100中室温下洗涤2次,每

次 30 min; 在 37 °C 下底物缓冲液中温育 18 h (50 mmol/L Tris-HCl, 0.15 mol/L NaCl, 5.0 mmol/L CaCl₂ 和 0.05% Brij 35, pH = 7.5); 孵育结束后凝胶使用考马斯亮蓝 R-250 进行染色并后续使用甲醇、乙酸脱色; 使用图像分析仪测量明胶溶解带, 并从中测定 MMP-2 和 MMP-9 活性, A 组设定为 100%。2) 远期心室大小与功能评价: 体外通过血液灌注分离的心脏评估大鼠左心室的体积和功能, 取出心脏之前首先结扎颈动脉, 将导管插入胸主动脉并用丝线固定, 尽快进行冠状动脉的逆行灌注, 取出心脏并予以固定后通过支持大鼠颈动脉的动脉血加压逆行灌注分离的大鼠心脏, 使冠状动脉灌注压力维持在 (100 ± 5) mmHg, 通过导管将静脉血流返回至支持大鼠内; 左心室内的压力通过连接乳胶气球的压力传感器通过二尖瓣深入至左心室内进行连续记录。当心脏形成稳定的等容收缩, 记录使左心室终末舒张压 (EDP) 为 0 mmHg 时的球囊体积 (V₀), 后逐渐增大球囊使左心室的 EDP 达到 25 mmHg, 排空球囊并重复相同操作 3 次。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 20.0 统计软件对数据进行分析, 计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较使用方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 急性期 (3 d 超负荷) 评价 组织采集之前直视下显示急性期大鼠模型的造瘘效果均较为满意, B 组大鼠的左心室肥大细胞密度为 (4.4 ± 0.6) 个细

胞/mm², 显著高于 A 组 (2.5 ± 0.3) 个细胞/mm²、C 组 (2.2 ± 0.2) 个细胞/mm² ($P < 0.05$), 提示强心方治疗可有效阻止瘘管所诱导的心脏肥大细胞密度增加。

各组大鼠左心室脂质过氧化程度 MDA 浓度检测, 结果显示容量超载使大鼠心肌氧化应激水平显著升高, B 组平均为 (0.38 ± 0.11) nM/mg, 显著高于 A 组 (0.18 ± 0.08) nM/mg 与 C 组 (0.16 ± 0.07) nM/mg 水平; 如图 1 所示 B 组大鼠肥大细胞密度增加与 MMP-2 活性增加呈显著相关性, 62 kDa 条带显示 B 组 (170.9 ± 16.4) ng/mL 比 A 组 (101.2 ± 15.8) ng/mL 增加 68.9% ($P < 0.05$), C 组 (99.6 ± 8.4) ng/mL 中无显著性改变, 因此 MMP-2 活性可被强心方所抑制; MMP-9 活性在各组内呈现多样化, B 组 (147.5 ± 12.8) ng/mL 亦显著高于 A 组 (106.5 ± 25.0) ng/mL, C 组则显著偏低 (68.4 ± 6.9) ng/mL, 组间比较显示强心方能够使其活性显著降低 ($P < 0.05$)。见图 1。

2.2 远期 (8 周超负荷) 评价

2.2.1 心脏结构改变评估 B 组的心脏体积宏观上显著大于其他 2 组。大鼠的平均心输出量增加 4~5 倍; B 组与 C 组大鼠造瘘后左心室的重量显著高于 A 组; 与 A 组大鼠比较, B 组与 C 组大鼠右心室与肺组织重量亦显著增加, 然而强心方治疗能够显著降低左右心室与肺组织的重量增加 ($P < 0.05$); 与 B 组比较, C 组大鼠整体体质量降低 ($P = 0.006$)。见图 2、表 1。

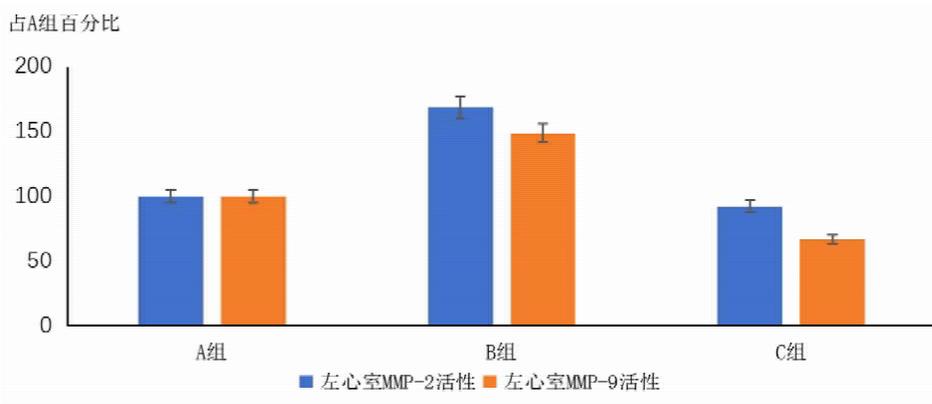


图 1 B 组与 C 组大鼠基质金属蛋白酶 (MMP) 水平与 A 组大鼠的比较分析

表 1 3 组大鼠心脏结构性指标评价 ($\bar{x} \pm s$)

指标	A 组 (n = 15)	B 组 (n = 15)	C 组 (n = 15)	P 值
体质量 (g)	372.5 ± 15.6	428.0 ± 40.2	270.4 ± 12.6	0.006
左心室重量 (mg)	826.9 ± 65.6	1735.7 ± 255.0	1028.6 ± 122.3	0.014
右心室重量 (mg)	225.4 ± 33.5	562.3 ± 88.4	338.0 ± 25.2	0.033
肺湿重 (mg)	1338.9 ± 114.1	2695.4 ± 533.9	1648.7 ± 175.6	0.028

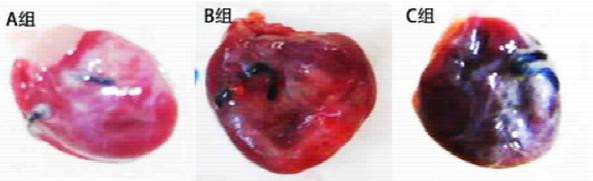


图2 3组大鼠心脏标本宏观表现

2.2.2 左心室功能性分析 与A组大鼠 V_0 数据比较,B组大鼠存在显著左心室扩张($P < 0.05$);强心方治疗能够显著降低左心室容积增加的程度($P < 0.05$);心肌顺应性体现在使EDP由0 mmHg上升至25 mmHg的体积变化,结果显示B组大鼠最高(均 $P < 0.05$),提示强心方可使其增加程度显著降低,与B组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);收缩期的压力-容积数据提示随心脏超负荷的持续加载可见心室内收缩显著受抑制($P < 0.05$),C组大鼠收缩功能与A组基本一致。见表2。

表2 左心室舒张期/收缩期功能性指标统计($\bar{x} \pm s$)

分组	舒张期		峰值收缩期压力-容积关联
	V_0 (μL)	V_{25} ($\mu\text{L}/\text{mmHg}$)	
A组($n=15$)	288.5 \pm 13.6	4.65 \pm 0.71	0.41 \pm 0.08
B组($n=15$)	598.2 \pm 50.3*	18.53 \pm 0.98*	0.15 \pm 0.02*
C组($n=15$)	408.2 \pm 7.6* Δ	7.99 \pm 0.62* Δ	0.38 \pm 0.05 Δ

注: V_0 表示终末舒张压为0 mmHg时左心室容积; V_{25} 表示终末舒张压由0 mmHg上升至25 mmHg时的所需容积;与A组比较,* $P < 0.05$;与B组比较, $\Delta P < 0.05$

3 讨论

目前临床上高血压与高血脂的发病率逐渐增加,大部分患者均存在不良生活习惯并且无规律药物治疗病史,冠状动脉粥样硬化后发生的心肌缺血与梗死使得局部的心肌细胞发生不可逆性损害,从而影响正常的心脏神经电生理功能而发生心肌重塑与心力衰竭^[8]。充血性心力衰竭是最常见的类型,患者的日常活动严重受到影响,同时合并其他系统的并发症使得治疗难度较大,单纯的西医药物治疗存在患者耐受性差及疗效不理想等^[9-10],对新型治疗方案的研究因此具有十分重要的意义。中医在这方面具有较为丰富的经验,其中强心方是以十枣汤为基础的中西医结合的专门用于改善心力衰竭患者临床症状的汤剂,起效较快,是一种攻补结合的中药复方制剂,具有泄脏腑水湿、清热平喘、消肿利水以及消胸伏饮痰瘀的效果,并且大枣性甘温,可辅助养心安神、补气益血,弥补了其他药物性情峻烈所以对正气产生的损伤。研究^[11]结果显示强心方对于多种心脏疾病模型均具有较为明显的保护作用,对去除卵巢的雌性大鼠在长期心脏超负荷作用下使用强心

方能够有效削弱左心室的肥厚与扩张,维持心脏功能,预防充血性心力衰竭(CHF)。本研究中除了评价强心方对慢性心脏超负荷下的相关影响以外,还对急性期的相关机制和改变进行初步的探究与观察,结果均于已报道的结果一致,体现出强心方的积极作用。

急性期的反应主要体现在肥大细胞的激活与密度的增加,导致心肌MMP活性增加与细胞外胶原蛋白的降解,后者可直接影响心室的扩张。本研究中显示未观察组大鼠的左心室肥大细胞密度显著增加,并且伴随MMP-2活性增加以及胶原的明显降解,这些由于心脏超负荷所引发的不利事件均可被强心方不同程度进行抑制,造瘻所诱发的结构性的心室扩张同时减弱,与诸文献的报道结果基本一致^[12-13],强心方能够预防肥大细胞脱粒后的胶原蛋白降解。

氧化应激被认为是充血性心力衰竭与心室重塑发展过程中的关键机制^[14],未观察组内持续的超负荷使心肌的氧化应激水平显著增加,而强心方观察组则无明显变化,文献报道氧化应激可激发肥大细胞激活,与MMPs的机制基本类似。因此强心方抑制超负荷所诱导的氧化应激可能是其心脏保护的主要机制之一。MDA方法确定氧化应激的一个缺点在于无法确定其来源,此外药物可通过基因组与非基因组途径的调控影响心血管及相关的系统效应,研究中难以逐一进行评价分析。相关的功能性受体目前已被证实存在于多种心肌细胞中,包括心肌细胞、心脏成纤维细胞、血管平滑肌和内皮细胞^[15],因此除了肥大细胞与细胞外胶原蛋白机制以外可能还存在其他的调节机制关于强心方对心室重塑的影响。例如已知的对血管内皮及一氧化氮合酶活性的影响,其中一氧化氮已显示能够抑制非心脏肥大细胞激活和肥大细胞依赖性炎症反应。

本研究结果显示,未观察组大鼠发生双心室的肥大,左心室扩张,对超容量负荷室腔的顺从性增加,使用强心方干预后能够显著减轻这种不良重塑的程度。部分研究显示对于卵巢切除患者的心肌病理性肥厚强心方能够产生一定的积极影响^[15];强心方治疗能够显著降低大鼠在心脏超负荷与心肌梗死下的心肌肥厚程度,与之相类似地,对于自发性高血压性心力衰竭使用强心方能够有效阻止高血压的进展,心肌肥厚的形成及心力衰竭的发生。收缩期大鼠压力-容积曲线所显示的室腔内收缩力改变是未治疗大鼠心室过分舒张与顺从性改变的主要原因,

强心方正是由于可有效阻止心室腔收缩性从而避免了心脏的不良特征改变。另一方面本研究中还显示强心方能够有效减缓为期8周的心肌超负荷下的肺水肿程度,同时维持心脏的收缩功能,因此提示强心方能够有效阻止心肌失代偿及心力衰竭的进展。强心方通过对一氧化氮合酶的影响,降低血管的通透性,尤其见于肺组织内,虽然长期来看强心方对心室重构的抑制作用是较为明显的,但在急性期使用强心方是否对长期的预后有利目前仍不明确^[17]。结构性心室扩张程度的降低表示心脏面临容量负荷增加的情况下调节能力增加,从而使心脏保持足够的功能,防止负担过重所致的心力衰竭加重。

综上所述,本研究结果初步显示对于超容量负荷作用下诱导的大鼠心力衰竭动物模型,强心方具有明显的功能性心脏保护作用,并且这种保护作用可能与MMP活性与氧化应激反应的抑制相关。

参考文献

- [1] 吕晓燕,马爱群,王亭忠,等. 比索洛尔对容量超负荷心力衰竭大鼠心室肌细胞钙调节蛋白的影响[J]. 中华老年心脑血管病杂志,2017,19(2):184-187.
- [2] 王建丽,马爱群,王贺,等. 比索洛尔对心衰大鼠心室肌细胞内向整流钾电流的影响[J]. 山西医科大学学报,2016,47(5):401-405.
- [3] Weinheimer C J, Lai L, Kelly D P, et al. A Novel Mouse Model of Left Ventricular Pressure Overload and Infarction Causing Predictable Ventricular Remodelling and Progression to Heart Failure[J]. Clin Exp Pharmacol P 2015,42(1):33-40.
- [4] 曹海涛,王晨阳,华川,等. 压力负荷型慢性心衰大鼠的心电图特征[J]. 中国比较医学杂志,2016,26(9):61-63,75.
- [5] Aboryag N B, Mohamed D M, Dehe L, et al. Histopathological Chan-

- ges in the Kidney following Congestive Heart Failure by Volume Overload in Ratse[J]. Oxid Med Cell Longev,2017,2017(2):1-10.
- [6] 安康,刘旭光,高健,等. 微创压力超负荷小鼠心衰模型的建立[J]. 中国胸心血管外科临床杂志,2016,23(11):1099-1102.
- [7] 凌望,张蕾,程大雁,等. 从cTnI探讨强心方对慢性心力衰竭患者心肌保护作用[J]. 世界中医药,2017,12(9):2084-2087,2092.
- [8] Hirose M, Takano H, Hasegawa H, et al. The effects of dipeptidyl peptidase-4 on cardiac fibrosis in pressure overload-induced heart failure[J]. J Pharmacol Sci,2017,135(4):164-173.
- [9] 史克羽,金妙文. 中药强心化痰方治疗慢性心力衰竭的临床疗效[J]. 江苏医药,2015,41(8):933-935.
- [10] 杨喆,柴洪佳,严夏. 活血强心方治疗慢性充血性心力衰竭的临床观察[J]. 世界中西医结合杂志,2016,11(7):976-978.
- [11] 卢廷贵. 益元强心方对慢性心力衰竭患者低LVEF水平及心功能的影响[J]. 中国当代医药,2015,22(33):97-99.
- [12] 李文佳,郭迪,王迪. 强心活力方对心肌梗死后慢性心衰大鼠心功能和氧化应激的作用研究[J]. 成都中医药大学学报,2017,40(3):17-19.
- [13] Leszek P, Trouve P, Korewicki J, et al. Contribution of abnormal sarcoplasmic reticulum ATPase expression in heart failure due to volume overload in mitral regurgitation mode[J]. Eur J Heart Fail, 2015,2(S1):42-43.
- [14] 王晨阳,曹雪滨,曹海涛,等. 红景天苷对压力负荷型慢性心衰大鼠心脏的作用及机制[J]. 实验动物科学,2016,33(4):6-10.
- [15] 韩曼,马莉,于远望. 2种慢性心力衰竭大鼠模型的建立[J]. 新乡医学院学报,2015,32(11):992-995.
- [16] 马金,张艳. 益气活血复方联合运动训练对心衰大鼠心肌间质及交感神经重塑作用机制的研究[J]. 世界中西医结合杂志,2016,11(9):1217-1221,1225.
- [17] 罗经宏,李玲. 呋塞米对心衰大鼠心功能及心肌纤维化的影响[J]. 实用药物与临床,2016,19(1):18-21.

(2018-12-02 收稿 责任编辑:芮莉莉)

(上接第1680页)

- [15] 邵洁琦,曾志江,杨敏,等. 右归丸联合隔姜灸治疗阳虚寒凝型膝骨性关节炎的临床效果[J]. 中国医药导报,2018,15(10):106-109.
- [16] 陈瑞群,廖成彬,郭茜,等. 结合血清代谢组学与支持向量回归机揭示右归丸调节肾虚证的代谢标志物群及其作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(13):62-70.
- [17] 刘浩龙,王家典,卢璠,等. 右归丸“阴中求阳”配伍对肾虚大鼠下丘脑-垂体-肾上腺轴的作用[J]. 环球中医药,2017,10(9):1050-1053.
- [18] 刘茜,武燕,束芹. 热敏灸联合右归丸治疗脾肾阳虚型卵巢功能早衰的疗效分析[J]. 重庆医学,2017,46(18):2497-2499.

- [19] 张晓媛,徐华,毕淑英,等. 多巴胺D2受体与慢传输便秘大鼠结肠动力的研究[J]. 临床消化病杂志,2015,27(4):222-224.
- [20] 钟莹,戴红,陈金锦. 双歧杆菌三联活菌散联合度洛西汀治疗腹泻型肠易激综合征临床疗效及对血清5-HT、脑肠肽水平的影响[J]. 浙江中西医结合杂志,2018,28(4):287-290.
- [21] 郭海霞,钱海华,张丹,等. 慢性传输型便秘“肠病及肺”相关机制实验研究[J]. 上海中医药杂志,2017,51(7):15-19.
- [22] 莫伟彬,杨衍滔,郭艳菊,等. 益生菌干预对运动大鼠胃肠激素与AQP4表达的影响[J]. 中国实验动物学报,2018,26(4):411-417.

(2018-10-29 收稿 责任编辑:杨觉雄)