

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2021.06.008

磷酸肌酸钠对高糖培养的心肌细胞凋亡与 IL-6、TNF- α 表达的影响 *

王玉静¹ 弥娜² 张文强² 谢晓莉² 侯云飞² 杨巧妮^{2Δ}

(1 空军军医大学第一附属医院心内科 陕西 西安 710016; 2 空军第九八六医院心内科 陕西 西安 710000)

摘要 目的:探讨磷酸肌酸钠对高糖培养的心肌细胞凋亡与白介素(Interleukin, IL)-6、肿瘤坏死因子(Tumor necrosis factor, TNF)- α 表达的影响。**方法:**SD 大鼠心肌细胞分为三组 - 正常组、心衰组、磷酸肌酸钠组,心力衰竭组用含血清的高糖 DMEM 培养基(33 mmol/L 葡萄糖)培养;磷酸肌酸钠组用含血清的高糖 DMEM 培养基(33 mmol/L 葡萄糖)和 100 μ mol/L 磷酸肌酸钠培养;正常组用含 10 % 血清的 DMEM 培养基(5.5 mmol/L 葡萄糖)培养。采用 MTT 法检测细胞增殖指数,流式细胞术检测细胞凋亡指数,酶联免疫检测上清 IL-6、TNF- α 含量,Western blot 法检测半胱氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)、B 淋巴细胞瘤-2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)蛋白水平。**结果:**处理后 24 h、48 h,磷酸肌酸钠组心肌细胞增殖指数高于心衰组($P < 0.05$),细胞凋亡指数、Caspase-3 和 Bcl-2 蛋白、IL-6、TNF- α 含量相对表达量低于心衰组($P < 0.05$),与正常组对比差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论:**磷酸肌酸钠在大鼠心肌细胞心力衰竭模型中的应用能降低心肌细胞 Caspase-3、Bcl-2 蛋白表达,抑制细胞凋亡,提高细胞增殖指数。

关键词:磷酸肌酸钠;心肌细胞;心衰;白介素-6;肿瘤坏死因子- α

中图分类号:R-33;R587.1;R541.61 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2021)06-1036-04

Effect of Creatine Phosphate Sodium on Cardiomyocyte Apoptosis and Expression of IL-6 and TNF- α Cultured in High Glucose*

WANG Yu-jing¹, MI Na², ZHANG Wen-qiang², XIE Xiao-li², HOU Yun-fei², YANG Qiao-ni^{2Δ}

(1 Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital of Air Force Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710016, China;

2 Department of Cardiology, 986th Hospital of Air Force, Xi'an, Shaanxi, 710000, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effects of creatine phosphate sodium on cardiomyocyte apoptosis and the expression of interleukin (IL)-6 and tumor necrosis factor (TNF)- α in high glucose cultured. **Methods:** The cardiomyocytes of SD rats were divided into three groups-normal group, heart failure group, and sodium creatine phosphate group. The heart failure group was cultured with serum-containing high glucose DMEM medium (33 mmol/L glucose); creatine phosphate sodium group was cultured with serum-containing high glucose DMEM medium (33 mmol/L glucose) and 100 μ mol/L creatine phosphate sodium; the normal group was cultured with 10 % serum-containing DMEM medium (5.5 mmol/L glucose). MTT method was used to detect cell proliferation index; flow cytometry was used to detect cell apoptosis index; enzyme-linked immunosorbent assay was used to detect the content of IL-6 and TNF- α in the supernatant; Western blot method was used to detect Caspase-3, B-cell lymphoma-2 (Bcl-2) protein level. **Results:** 24 h and 48 h after treatment, the proliferation indexes of myocardial cells in the sodium phosphate creatine group were higher than those in the heart failure group ($P < 0.05$), and the apoptosis index, Caspase-3 and Bcl-2 protein, IL-6, TNF- α The relative expression of α content were lower than those in the heart failure group ($P < 0.05$), and there was no significant difference compared with the normal group ($P > 0.05$). **Conclusions:** The application of creatine phosphate sodium in rat cardiomyocyte heart failure model can reduce the expression of Caspase-3 and Bcl-2 protein in cardiomyocytes, inhibit cell apoptosis and increase cell proliferation index.

Key words: Creatine phosphate sodium; Cardiomyocytes; Heart failure; Interleukin-6; Tumor necrosis factor- α

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R587.1; R541.61 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2021)06-1036-04

前言

心力衰竭(Heart failure)为临床上常见的心血管疾病,病理表现为早期心肌细胞发生代偿性肥大,当前在我国发病人数逐年上升,且开始多发于年轻人^[1,2]。心力衰竭的具体发病机

制还不明确,但是涉及的病因包括心肌细胞凋亡、基因表达改变、能量代谢障碍、氧化应激等^[3]。为了研究心力衰竭的发生机制,基础研究多采用高糖环境建立心肌细胞衰竭模型^[4,5]。心力衰竭时,其机体多伴随有磷酸肌酸(creatine phosphate, CP)表达异常,从而影响机体的心脏功能和交感神经活动,也会导致机

* 基金项目:陕西省社会发展领域项目(2020SF-263)

作者简介:王玉静(1976-),女,本科,主治医师,研究方向:冠心病,高血压,心衰,电话:13991266909, E-mail: wangys323@163.com

Δ 通讯作者:杨巧妮(1978-),女,本科,主治医师,研究方向:冠心病,高血压,电话:13992049111, E-mail: 262427342@qq.com

(收稿日期:2020-10-02 接受日期:2020-10-25)

体心肌出现能量代谢障碍、细胞凋亡等^[9]。心肌缺血期间充足的腺苷三磷酸(adenosine triphosphate, ATP)生成是维持心脏功能的重要物质,磷酸肌酸是 ATP 的储存和转运形式,可促进机体内细胞内能量的传递^[7]。外源性磷酸肌酸的加入可导致机体内 ATP 合成增加,从而能改善缺血时急性期患者的血流动力学状况^[9]。已有报道显示酸肌酸钠可降低线粒体活性氧水平,从而抑制机体内炎症因子的释放^[9,10]。本文具体探讨了磷酸肌酸钠对高糖培养的心肌细胞凋亡与 IL-6、TNF- α 表达的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物与材料

研究时间为 2020 年 1 月到 2020 年 8 月,选择 0~3 d SD 大鼠的幼崽,购自常州卡文斯实验动物有限公司(SCXK-2020-C003),自由喂养,清洁级饲养环境。注射用磷酸肌酸钠(河北天成药业股份有限公司,国药准字 H200840211,浓度 1 g/mL),异硫氰酸荧光素标记的膜联素 V / 碘化丙啶(annexin V -fluorescein isothiocyanate/ propidium iodide, annexin V -FITC/PI)细胞凋亡检测试剂盒购自美国 sigma 公司,MTT 溶液购自深圳晶美公司,DMEM 培养基与高糖 DMEM 培养基、胰蛋白酶购自美国 sigma 公司,IL-6、TNF- α 酶联免疫检测试剂盒购自大连 TAKARA 公司,抗 Caspase-3 抗体、抗 Bcl-2 抗体购自英国 CSL 公司。

1.2 心肌细胞分离与处理

消毒仔鼠要切开的周围皮肤,在超净工作台取出心脏,剪碎后分离出仔鼠的心肌细胞,接种于 96 孔板培养 (3×10^5 孔)。分为三组:心力衰竭组:培养于含血清的高糖 DMEM 培养基(33 mmol/L 葡萄糖);磷酸肌酸钠组:培养于含血清的高糖 DMEM 培养基(33 mmol/L 葡萄糖)和 100 μ mol/L 磷酸肌酸钠中;正常组用含 10%血清的 DMEM 培养基 (5.5 mmol/L 葡萄糖)培养。均处理 24 h、48 h 后进行如下实验。

1.3 MTT 法检测心肌细胞增殖指数

在处理 24 h、48 h 后,去掉培养基。每孔加入 10 μ L MTT 溶液(5 mg/mL)与 100 μ L 无血清培养基,孵育 4 h,加 150 μ L 二甲基亚砜,振荡 10 min。采用酶标仪测定 490 nm 波长处的吸光度值,计算细胞增殖指数。

1.4 流式细胞术检测心肌细胞凋亡指数

处理 24 h、48 h 后,胰蛋白酶消化心肌细胞,接种于 12 孔板(1×10^6 个 / 孔),PBS 重悬,annexin V-FITC/PI 染色,流式细胞术检测凋亡指数。

1.5 生化分析仪检测 IL-6、TNF- α 含量

处理 24 h、48 h 后,冷 PBS 液清洗细胞 2~3 次,将冷 2% TritonX-100 0.5 mL 加入各组中,裂解细胞,12000 rpm 离心 3 min,取上清液,全自动生化分析仪检测 IL-6、TNF- α 水平。

1.6 Western blot 法检测 Caspase-3、Bcl-2 蛋白水平

处理 24 h、48 h 后,裂解细胞,离心取蛋白,采用 BCA 法定量蛋白浓度,上样 SDS-PAGE 胶,转膜后,一抗稀释羊抗鼠 caspase-3 抗体 ($\times 1000$)、羊抗鼠 Bcl-2 抗体 ($\times 1000$)、羊抗鼠 GAPDH 抗体($\times 1000$),4 $^{\circ}$ C 过夜;二抗($\times 10000$)室温孵育 1 h,放入自动显像系统,曝光读取,分析各蛋白目的条带的吸光度(A)值,以 A 目的蛋白 / AGAPDH 比值表示目的蛋白的相对表达水平。

上述实验都重复 4 次,取平均值。

1.7 统计方法

应用 SPSS 22.00,计量数据以($\bar{x} \pm s$)表示,多组间对比为方差分析,两组比为 t 检验, $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞增殖指数对比

处理后 24 h、48 h,磷酸肌酸钠组心肌细胞增殖指数高于心力衰竭组($P < 0.05$),与正常组对比无差异($P > 0.05$),见表 1。

表 1 三组处理后 24 h、48 h 的细胞增殖指数对比(% , $\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of cell proliferation indexes 24 h and 48 h after treatment among three groups (% , $\bar{x} \pm s$)

Groups	n	24 h	48 h
Heart failure group	4	73.52 $\pm$ 2.18**	76.88 $\pm$ 3.10**
Sodium creatine phosphate group	4	95.44 $\pm$ 4.52	94.22 $\pm$ 5.33
Normal group	4	94.24 $\pm$ 4.13	95.20 $\pm$ 4.51
F		6.335	5.633
P		0.014	0.021

Note: Compared with the normal group, $^{\#}P < 0.05$; compared with the sodium phosphate creatine group, $^*P < 0.05$.

2.2 细胞凋亡指数对比

处理后 24 h、48 h,磷酸肌酸钠组心肌细胞凋亡指数低于心力衰竭组($P < 0.05$),与正常组对比无差异($P > 0.05$),见表 2。

2.3 炎症因子表达对比

处理后 24 h、48 h,磷酸肌酸钠组心肌细胞上清 IL-6、TNF- α 含量低于心力衰竭组($P < 0.05$),与正常组对比无差异($P > 0.05$),见表 3。

2.4 Caspase-3、Bcl-2 蛋白表达水平对比

处理后 24 h、48 h,磷酸肌酸钠组心肌细胞 Caspase-3、

Bcl-2 蛋白相对表达量低于心力衰竭组($P < 0.05$),与正常组对比无差异($P > 0.05$),见表 4。

3 讨论

心力衰竭是各种心脏疾病的严重和终末阶段,是由各种病因引起的心脏病终末阶段,致残率与死亡率都比较高^[11,12]。在病理学上表现为间质纤维化、细胞溶解与凋亡、心肌细胞肥大等^[13,14]。长期高糖刺激可通过压力超负荷作用对心肌细胞的直接或间接作用经由多种机制造成心肌损伤,为此可依据此原理建

立心力衰竭的心肌细胞模型^[15,16]。磷酸肌酸钠是一种外源性高能物质,能够直接进入细胞内供给细胞能量,改善血管上皮细胞的生理状态,防止血小板聚集,促进细胞维持正常生理稳态^[17,18]。细胞凋亡是非常复杂的病理生理过程^[19],本研究显示处理后 24 h、48 h, 磷酸肌酸钠组心肌细胞增殖指数高于心力衰

竭组,心肌细胞凋亡指数低于心力衰竭组,与正常组对比差异无统计学意义,表明磷酸肌酸钠的应用能抑制心肌细胞凋亡,提高心肌细胞增殖指数。当前也有研究显示在心肌缺血以及再灌注阶段,磷酸肌酸钠能显著减少心律失常的发生,有潜在抗心律失常作用^[20,21]。

表 2 三组处理后 24 h、48 h 的细胞凋亡指数对比(% , $\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of apoptosis indexes 24 h and 48 h after treatment among three groups (% , $\bar{x} \pm s$)

Groups	n	24 h	48 h
Heart failure group	4	11.78± 0.11 ^{#*}	16.89± 0.10 ^{#*}
Sodium creatine phosphate group	4	1.22± 0.24	1.54± 0.22
Normal group	4	1.28± 2.44	1.50± 4.11
F		16.533	30.144
P		0.000	0.000

表 3 三组处理后 24 h、48 h 的心肌细胞 IL-6、TNF- α 含量对比(pg/ml, $\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of IL-6 and TNF- contents in myocardial cells 24 h and 48 h after treatment among three groups (pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

Groups	n	IL-6		TNF- α	
		24 h	48 h	24 h	48 h
Heart failure group	4	45.33± 2.74 ^{#*}	54.20± 3.33 ^{#*}	33.48± 2.47 ^{#*}	34.09± 3.17 ^{#*}
Sodium creatine phosphate group	4	11.09± 1.00	9.99± 1.40	8.76± 0.56	8.82± 0.44
Normal group	4	10.23± 1.72	10.00± 1.64	8.98± 0.43	8.92± 0.54
F		25.093	34.001	18.943	19.005
P		0.000	0.000	0.000	0.000

表 4 三组处理后 24 h、48 h 的心肌细胞 Caspase-3、Bcl-2 蛋白相对表达量对比($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of relative expression levels of caspase-3 and Bcl-2 proteins in cardiomyocytes 24 h and 48 h after treatment among three groups ($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	Caspase-3		Bcl-2	
		24 h	48 h	24 h	48 h
Heart failure group	4	7.24± 1.30 ^{#*}	9.28± 1.11 ^{#*}	2.22± 0.22 ^{#*}	2.58± 0.16 ^{#*}
Sodium creatine phosphate group	4	1.55± 0.33	1.42± 0.61	1.89± 0.11	2.10± 0.15
Normal group	4	1.00± 0.45	1.03± 0.45	0.89± 0.13	0.98± 0.09
F		14.022	18.022	9.883	11.093
P		0.000	0.000	0.001	0.000

心力衰竭大鼠会大量释放炎症因子,引起心肌损伤。TNF- α 可诱导活性氧的产生,降低心肌收缩力,导致心肌功能障碍。IL-6 与心力衰竭病情的严重程度、预后相关,在心肌细胞和成纤维细胞间传递信号^[22,23]。TNF- α 与 IL-6 可激活 NF- κ B,从而导致中性粒细胞迁移、释放炎症因子^[24,25]。本研究显示处理后 24 h、48 h, 磷酸肌酸钠组心肌细胞上清 IL-6、TNF- α 含量低于心力衰竭组,表明磷酸肌酸钠的应用能抑制心肌细胞炎症因子的释放。与陈仙芳^[26]等的研究类似,探讨磷酸肌酸钠对心力衰竭伴肺部感染患者 IL-6、TNF- α 水平及心功能影响, 对照组患者接受抗感染和抗心力衰竭的常规治疗,试验组患者在对照组治疗的基础上联合用磷酸肌酸钠注射液治疗, 治疗后, 两组血清 IL-6、TNF- α 水平均低于治疗前,且试验组血清 IL-6、TNF- α 表达水平较对照组低。从机制上分析,磷酸肌酸钠能够稳定心肌纤维膜,抑制缺血心肌部位的磷酸降解,保持细胞内嘌呤核苷酸的水平,从而达到保护心肌^[27,28]。

心肌细胞数目减少是导致心肌功能障碍的决定因素,与心

肌细胞凋亡有关^[29,30]。凋亡通路包括外源性通路和内源性通路,其中线粒体依赖性凋亡通路主要和线粒体通透性转换孔的开放度相关。Caspases 是细胞凋亡的重要执行者,活化的 Caspases-3 可经蛋白酶过程激活,参与细胞凋亡^[31,32]。本研究显示处理后 24 h、48 h, 磷酸肌酸钠组心肌细胞 Caspase-3、Bcl-2 蛋白相对表达量低于心力衰竭组,表明磷酸肌酸钠的应用能抑制心肌细胞 Caspase-3、Bcl-2 蛋白的表达。与黄洋洋^[33]等学者的研究类似,该学者探讨磷酸肌酸钠对心力衰竭大鼠心脏功能和交感神经活动的影响,结果也显示不同时间点的磷酸肌酸钠组心肌细胞存活率均高于磷酸肌酸钠对心力衰竭组,细胞凋亡率、caspase-3 蛋白相对表达量低于磷酸肌酸钠对心力衰竭组。说明磷酸肌酸钠能降低心肌细胞 caspase-3 蛋白的表达,抑制细胞凋亡,提高细胞存活率,从而改善心脏功能。本研究也有一定的不足,没有明确磷酸肌酸钠的作用机制,将在后续研究中深入研究。

总之,磷酸肌酸钠在大鼠心肌细胞心力衰竭模型中的应用能降低心肌细胞 Caspase-3、Bcl-2 蛋白表达,抑制细胞凋亡,提

高细胞增殖指数。

参考文献(References)

- [1] Gaddi AV, Galuppo P, Yang J. Creatine Phosphate Administration in Cell Energy Impairment Conditions: A Summary of Past and Present Research[J]. *Heart Lung Circ*, 2017, 26(10): 1026-1035
- [2] Haddad S, Wang Y, Galy B, et al. Iron-regulatory proteins secure iron availability in cardiomyocytes to prevent heart failure[J]. *Eur Heart J*, 2017, 38(5): 362-372
- [3] Arad M, Swiatlowska P. Microtubules regulate cardiomyocyte transversal Young's modulus [J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2020, 117(6): 2764-2766
- [4] Conceição G, Gonçalves-Rodrigues P, Gonçalves N, et al. Sodium-glucose cotransporter 2 inhibitor Dapagliflozin attenuates diabetic cardiomyopathy[J]. *Acta Physiol (Oxf)*, 2020, 19(1): e7
- [5] Gao G, Chen W, Yan M, et al. Rapamycin regulates the balance between cardiomyocyte apoptosis and autophagy in chronic heart failure by inhibiting mTOR signaling [J]. *Int J Mol Med*, 2020, 45 (1): 195-209
- [6] Faller KME, Atzler D, McAndrew DJ, et al. Impaired cardiac contractile function in arginine: glycine amidinotransferase knockout mice devoid of creatine is rescued by homoarginine but not creatine[J]. *Cardiovasc Res*, 2018, 114(3): 417-430
- [7] 梁丽俊.磷酸肌酸在婴幼儿房间隔缺损合并肺动脉高压体外循环手术中的心肌保护作用[J]. *中国药物与临床*, 2017, 17(7): 1010-1012
- [8] 袁书刚,郭英选.磷酸肌酸钠对缺血性心脏病心肌酶及心功能指标的影响[J]. *临床医学*, 2016, 36(6): 49-51
- [9] Hou W, Zhu X, Liu J, et al. Correction to: Inhibition of miR-153 ameliorates ischemia/reperfusion induced cardiomyocytes apoptosis by regulating Nrf2/HO-1 signaling in rats [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 19(1): e43
- [10] Luo J, Yan D, Li S, et al. Allopurinol reduces oxidative stress and activates Nrf2/p62 to attenuate diabetic cardiomyopathy in rats[J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2020, 24(2): 1760-1773
- [11] 薛梅苓,杜小波.磷酸肌酸钠对阿霉素所致大鼠心肌损伤的保护作用及其机制研究[J]. *海南医学*, 2017, 28(7): 1033-1035
- [12] 段梅梅,张耀晴,付佳佳,等.注射用磷酸肌酸钠联合注射用复合辅酶对蒽环类药物所致恶性肿瘤患儿心肌损伤的防治效果研究[J]. *实用心脑血管病杂志*, 2016, 24(9): 29-32
- [13] Khan NA, Abid M, Ahmad A, et al. Cardioprotective Effect of Coenzyme Q (10) on Apoptotic Myocardial Cell Death by Regulation of Bcl-2 Gene Expression [J]. *J Pharmacol Pharmacother*, 2017, 8 (3): 122-127
- [14] Dietl A, Maack C. Targeting Mitochondrial Calcium Handling and Reactive Oxygen Species in Heart Failure [J]. *Curr Heart Fail Rep*, 2017, 14(4): 338-349
- [15] Abdurrachim D, Prompers JJ. Evaluation of cardiac energetics by non-invasive ^{31}P magnetic resonance spectroscopy [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2018, 1864(5): 1939-1948
- [16] Jungi S, Fu X, Segiser A, et al. Enhanced Cardiac S100A1 Expression Improves Recovery from Global Ischemia-Reperfusion Injury[J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2018, 11(3): 236-245
- [17] Kong HL, Hou AJ, Liu NN, et al. The effects of ginsenoside Rb1 on fatty acid beta-oxidation, mediated by AMPK, in the failing heart[J]. *Iran J Basic Med Sci*, 2018, 21(7): 731-737
- [18] Mahmod M, Pal N, Rayner J, et al. The interplay between metabolic alterations, diastolic strain rate and exercise capacity in mild heart failure with preserved ejection fraction: a cardiovascular magnetic resonance study[J]. *J Cardiovasc Magn Reson*, 2018, 20(1): e88
- [19] Nathania M, Hollingsworth KG, Bates M, et al. Impact of age on the association between cardiac high-energy phosphate metabolism and cardiac power in women[J]. *Heart*, 2018, 104(2): 111-118
- [20] Parve S, Aliakberova GI, Gylmanov AA, et al. Role of Exogenous Phosphocreatine in Chemotherapy-induced Cardiomyopathy [J]. *Rev Cardiovasc Med*, 2017, 18(2): 82-87
- [21] Scally C, Rudd A, Mezincescu A, et al. Persistent Long-Term Structural, Functional, and Metabolic Changes After Stress-Induced (Takotsubo) Cardiomyopathy [J]. *Circulation*, 2018, 137 (10): 1039-1048
- [22] Uthman L, Baartscheer A, Bleijlevens B, et al. Class effects of SGLT2 inhibitors in mouse cardiomyocytes and hearts: inhibition of $\text{Na}^{+}/\text{H}^{+}$ exchanger, lowering of cytosolic Na^{+} and vasodilation [J]. *Diabetologia*, 2018, 61(3): 722-726
- [23] Zhu J, Wang YF, Chai XM, et al. Exogenous NADPH ameliorates myocardial ischemia-reperfusion injury in rats through activating AMPK/mTOR pathway[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 41(4): 535-545
- [24] Meng Y, Tian M, Yin S, et al. Downregulation of TSPO expression inhibits oxidative stress and maintains mitochondrial homeostasis in cardiomyocytes subjected to anoxia/reoxygenation injury [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 121(0): 109588
- [25] Miranda-Silva D, Wüst RCI. Disturbed cardiac mitochondrial and cytosolic calcium handling in a metabolic risk-related rat model of heart failure with preserved ejection fraction [J]. *Acta Physiologica*, 2020, 228(3): e13378
- [26] 陈仙芳,毛伟君,吴燕飞,等.磷酸肌酸钠对心衰伴肺部感染患者 VEGF, IL-6, $\text{TNF-}\alpha$ 及心功能影响[J]. *中华医院感染学杂志*, 2020, 30(8): 124-129
- [27] Mota G a F, De Souza SLB, Da Silva VL, et al. Cardioprotection Generated by Aerobic Exercise Training is Not Related to the Proliferation of Cardiomyocytes and Angiotensin-(1-7) Levels in the Hearts of Rats with Supravalvar Aortic Stenosis [J]. *PLoS One*, 2020, 54(4): 719-735
- [28] Guan X, Xu W, Zhang H, et al. Transplantation of human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes improves myocardial function and reverses ventricular remodeling in infarcted rat hearts[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11(1): e73
- [29] Hou W, Zhu X, Liu J, et al. Inhibition of miR-153 ameliorates ischemia/reperfusion-induced cardiomyocytes apoptosis by regulating Nrf2/HO-1 signaling in rats[J]. *Biomed Eng Online*, 2020, 19(1): e15
- [30] Zhang W, Zhang H, Yao W, et al. Morphometric, Hemodynamic, and Multi-Omics Analyses in Heart Failure Rats with Preserved Ejection Fraction[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(9): 99-103
- [31] Zhou X, Lu B, Fu D, et al. Huoxue Qianyang decoction ameliorates cardiac remodeling in obese spontaneously hypertensive rats in association with ATF6-CHOP endoplasmic reticulum stress signaling pathway regulation [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 121 (14): e109518
- [32] 武艳. 磷酸肌酸钠治疗新生儿窒息致心脏损害的疗效和可能机制[J]. *中国妇幼保健*, 2017, 32(12): 2657-2660
- [33] 黄洋洋,王利宏.磷酸肌酸钠对心力衰竭大鼠心脏功能和交感神经活动的影响[J]. *现代实用医学*, 2020, 32(5): 474-476