

# 清心饮 II 号对病毒性心肌炎小鼠药效学的研究

程志清,熊福林(浙江中医学院,浙江 杭州 310053)

**摘要:**目的 通过前期拆方研究后而组成的清心饮 II 号进行不同剂量的药效学与作用机制研究,明确该方在实验动物中的有效治疗剂量,为新药开发提供实验依据。方法 通过检测用药 10d 后小鼠体重变化、血清中肌钙蛋白 I (cTnI)、SOD 及 MDA 的变化、小鼠心肌中病毒滴度水平,验证该方的疗效。结果 清心饮 II 号高剂量组和中剂量组均能有效降低小鼠心肌中病毒滴度和减轻心肌中的病理改变;清心饮 II 号中剂量组能显著降低小鼠血清中 cTnI 的含量,清心饮 II 号高、中剂量组均能有效提高血清中 SOD 含量和降低血清中 MDA 的水平。结论 清心饮 II 号对 VMC 小鼠有显著疗效。

**关键词:**方剂/清心饮 II 号;病毒性心肌炎;药效学

中图分类号:R289;R542.2 文献标识码:A 文章编号:1007-7693(2003)03-0191-04

## Pharmacodynamic study of Qingxin Yin II on viral myocarditis in mice model

CHENG Zhi-qing, XIONG Fu-lin (Zhejiang College of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310053, China)

**ABSTRACT:OBJECTIVE** By pharmacodynamics study on different dose of Qingxin Yin II (QXY II), which was developed based on the previous variation study of recipe components, the effective dose of QXY II for experimental animal was verified to support the future new medicine development. **METHOD** Treatment effectiveness of QXY II was demonstrated by measuring the virus titers level in mice myocarditis and changes in mice body weight, the serum cardiac troponin I (cTnI), superoxide Dis mutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) after 10 days treatment. **RESULTS** High-dose and middle-dose group both can effectively decrease the virus titers and the pathological changes in mice myocarditis, raise the SOD level in serum while lower the level of MDA. Middle-dose group can significantly lower the level of cTnI in serum. **CONCLUSION** Significant treatment effectiveness of QXY II was found, especially for high-dose and middle-dose group.

**KEY WORDS:**China Herbs Decoction / Qingxin Yin II;viral myocarditis;pharmacodynamics

清心饮是我院国家级名老中医陆芷青教授治疗该病的经验方,经课题组长期的临床与实验验证<sup>[1-4]</sup>,确有较好的疗效和抗病毒、保护心肌细胞及调节免疫等作用。本课题研究的主要目的是:通过对拆方研究后而组成的清心饮 II 号进行不同剂量的药效学与作用机制研究,明确该方在实验动物中的有效治疗剂量,并探讨其对心肌保护和免疫调节方面的作用机制,为进一步新药开发提供实验依据,为中医药治疗病毒性心肌炎提供有效方法。

### 1 实验材料

#### 1.1 药品

清心饮 II 号(由人参、丹参、苦参组成)高、中、低三个剂量组水煎醇提,由浙江中医学院制剂室提供,其中高剂量组生药含量为 3g/mL,中剂量组为 2g/mL,低剂量组为 1g/mL。玉丹荣心丸,由上海黄山制药厂提供(生产批号为:20001001),取说明书成人剂量的 30 倍的药物,以蒸馏水充分溶解后超声萃取 2h,取上清液浓缩而成。

#### 1.2 病毒

柯萨奇 B<sub>3</sub> 病毒(CVB<sub>3</sub>)(Nancy 株,TCID<sub>50</sub> = 10<sup>-5</sup>),由复旦大学附属中山医院病毒性心脏病重点实验室提供,本实验

室 -70℃低温冰箱保存。

#### 1.3 动物

雄性 BALB/c 小鼠,4~6 周龄,体重 12~16g,购自中国科学院上海实验动物中心。II 级清洁级合格证号。

#### 1.4 主要试剂和材料

SOD 试剂盒,批号:20001027;MDA 试剂盒,批号:20001101。以上试剂盒均由南京建成生物工程研究所提供。cTnI(肌钙蛋白 I)试剂盒 江苏省人民医院心血管病研究所提供。

### 2 实验方法

#### 2.1 动物分组

BALB/c 雄性小鼠 126 只,4~6 周龄,随机分为正常组、模型组、药物阳性对照组、清心饮 II 号高剂量组、清心饮 II 号中剂量组、清心饮 II 号低剂量组,每组均为 21 只。

#### 2.2 造模

根据前期实验经验,CVB<sub>3</sub> 原液以 1:400 的浓度稀释于 D-MEM 液中,每鼠 0.1 mL,腹腔注射。小鼠给药:造模后 2h,各中药组小鼠以相应中药灌胃,每鼠 0.2 mL,每日灌胃一次,共 10d,正常组和模型组以蒸馏水灌胃作为安慰用药。

## 2.3 标本的采集

2.3.1 血清标本的制备:小鼠灌胃 10d 后,禁食 12h,摘眼球取血,置于 eppendorf 管,37℃ 水浴 2h,3 000r/min 离心 15 min,取血清保存于 -20℃ 冰箱备用。

2.3.2 心肌标本的制备:取出小鼠心脏,滤纸吸干血迹,所有小鼠心脏取约 1/3~1/4 的体积立即置于 -70℃ 超低温冰箱保存,供 RT-PCR 之用。剩余心肌每组取约 1/2 部分置于 4% 的中性甲醛溶液中固定,供作病理切片。另 1/2 置于 1 mL hank's 液中研磨,离心后取上清保存于 -70℃ 超低温冰箱,供病毒滴度的检测。

## 2.4 观察项目

2.4.1 灌胃期间每日称体重并予记录,作体重变化曲线。

2.4.2 取心肌标本时作心脏巨检。记分方法:心脏巨检未见心肌病变记 0 分,可见散在的白色斑点样坏死灶,面积不超过整个心脏表面积的 10%,记 1 分;可见聚集成块的白色斑点或斑片样坏死灶,其面积介于整个心脏表面积的 10%~25%,记 2 分;心脏可见明显的坏死灶,其面积介于整个心脏表面积的 25%~50%,记 3 分;心脏巨检可见较大的白膜样、斑片样坏死灶,其面积约为整个心脏表面积的 50%~75%,记 4 分;整个心脏表面几乎均被斑片样坏死灶所覆盖,其面积约为整个心脏表面积的 75%~100%,记 5 分。

2.4.3 取血清作 SOD,MDA 检测:具体操作按试剂盒说明,于半自动生化仪上进行检测,SOD 样本滴加量为 5 $\mu$ L,于波长 546nm 比色;MDA 样本滴加量为 100 $\mu$ L,于波长 532nm 处比色。

2.4.4 心肌匀浆上清液病毒滴度的测定:按 Reed 法<sup>[5]</sup>在传代 vero 细胞上用 96 孔板测定各中药药组的病毒滴度。具体方法如下:(1)心肌匀浆以 Eagle MEM 液作 10 倍系列稀释。(2)取形态正常、生长于 96 孔细胞培养板的细胞,滴加经系列稀释的心肌匀浆上清液 100 $\mu$ L/孔,37℃ 作用 30 min,弃心肌匀浆上清,Hanks 液洗涤一次后加 100 $\mu$ L/孔病毒维持液(Eagle MEM 含 2% 新生牛血清),置 37℃ 培养。每一稀释度分别接种 6 孔,每次测定均设 CVB<sub>3</sub> 作阳性对照。(3)病毒 TCID<sub>50</sub> 测定:经 37℃ 培养 72h,分别读取每孔细胞病变,确定细胞病变程度,以 ++ (约 50%) 细胞病变为判断标准,分别计算出每一标本的 TCID<sub>50</sub>。

2.4.5 取血清作 cTnI 检测,方法为改良双抗体夹心 ELISA 法,具体操作按文献<sup>[6]</sup>,用抗人心肌 cTnI 单克隆抗体 2B1.9 为第一抗体包被 96 孔酶联板,加待测血清后再用生物素标记的 2F6.6 为第二抗体,形成双夹心,用碱性磷酸酶系统显色,波长 405nm 阅读,每次检测均置标准抗原 cTnI 0~100 $\mu$ g/L 不同浓度作定量参考。

2.4.6 小鼠心肌病理观察:甲醛固定的心肌标本,用乙醇梯度脱水,二甲苯透明,蜡块包埋,作连续切片 3 张,脱蜡后作 HE 染色,树脂封片。每个切片取 5 个视野(低倍镜下),按文献<sup>[7]</sup>方法计算病理积分。具体方法:无病理改变记 0 分,心肌细胞坏死,心肌组织细胞浸润和变性面积 < 25% 记 1 分,心肌组织坏死面积约 25%~50% 记 2 分,心肌组织坏死面积

50%~75% 记 3 分,心肌组织坏死面积 > 75% 记 4 分。

## 3 结果

### 3.1 对小鼠体重的影响

正常组的小鼠体重逐日递增,而注射了 CVB<sub>3</sub> 病毒的模型组和各用药组的体重均有不同程度的下降,说明感染 CVB<sub>3</sub> 可以影响小鼠的体重。感染病毒后 d<sub>2</sub>,模型组体重增加即较各用药组缓慢。模型组和三个清心饮 II 号剂量组在感染病毒 d<sub>3</sub> 时(从感染病毒前一天开始计算体重)体重开始下降,玉丹荣心丸组在 d<sub>4</sub> 时开始下降,以上五组小鼠体重均于 d<sub>6</sub> 开始回升。从体重下降幅度来看,以模型组体重下降最为明显,而清心饮 II 号高剂量组体重下降最缓;从体重回升幅度来看,依次为:清心饮 II 号高剂量组 > 清心饮 II 号低剂量组 > 清心饮 II 号中剂量组 > 药物阳性对照组 > 模型组。

### 3.2 小鼠心脏病理观察结果

从表 1 可以看出,正常组小鼠心肌巨检均未发现病理改变,感染病毒的各用药组心脏表面都可见不同程度的病变出现(与正常组比较有显著性差异,  $P < 0.05$ );与模型组相比,清心饮 II 号各剂量组心肌巨检病变明显减轻( $P < 0.01$ ),而玉丹荣心丸组无明显差异。清心饮 II 号高剂量组与药物阳性对照组比有统计学意义( $P < 0.05$ )。

表 1 各组小鼠心肌巨检结果( $\bar{x} \pm s$ )

Tab 1 The pathologic changes of each group( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	巨检积分
正常组	20	0.0000 $\pm$ 0.0000 <sup>2)</sup>
模型组	20	1.5500 $\pm$ 1.3169 <sup>1)</sup>
药物阳性对照组	20	1.2000 $\pm$ 1.1965 <sup>1)</sup>
清心饮 II 号高剂量组	20	0.4500 $\pm$ 0.6863 <sup>2,3)</sup>
清心饮 II 号中剂量组	21	0.7143 $\pm$ 0.9562 <sup>1,2)</sup>
清心饮 II 号低剂量组	21	0.7143 $\pm$ 1.0664 <sup>1,2)</sup>

注:1)与正常组比较  $P < 0.05$ ;2)与模型组比较  $P < 0.01$ ;3)与药物阳性组比较  $P < 0.05$

Note:1) compared with normal group  $P < 0.05$ ;2) compared with model group  $P < 0.01$ ;3) compared with positive control group  $P < 0.05$

### 3.3 各组对小鼠血清 SOD 的影响:

从表 2 可以看出,感染 CVB<sub>3</sub> 10d 后,模型组小鼠血清中 SOD 的含量较正常组显著降低( $P < 0.05$ ),高剂量和中剂量的清心饮 II 号均能显著提高血清中 SOD 的含量(与模型组比较  $P < 0.05 \sim 0.01$ ,与清心饮 II 号低剂量组比较  $P < 0.05$ ),其中以高剂量组效果最为明显,而清心饮 II 号低剂量组和玉丹荣心丸组对提高血清中 SOD 的含量无明显作用(与模型组相比较  $P > 0.05$ )。

表 2 各组对小鼠血清 SOD 的影响( $\bar{x} \pm s$ )

Tab 2 The influence of each group to the serum SOD of mice ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	SOD(un/ mL)
正常组	9	0.7080 $\pm$ 0.1124 <sup>1)</sup>
模型组	10	0.5700 $\pm$ 0.1327
药物阳性对照组	9	0.6644 $\pm$ 0.0945
清心饮 II 号高剂量组	10	0.7570 $\pm$ 0.1679 <sup>1,2,3)</sup>
清心饮 II 号中剂量组	9	0.7211 $\pm$ 0.1510 <sup>1,3)</sup>
清心饮 II 号低剂量组	9	0.5844 $\pm$ 0.1307

注:1)与模型组比较  $P < 0.05$ ;2)与模型组比较  $P < 0.01$ ;3)与清心饮

II号低剂量组比较  $P < 0.05$

Note: <sup>1)</sup>compared with model group  $P < 0.05$ ; <sup>2)</sup>compared with model group  $P < 0.01$ ; <sup>3)</sup>compared with low dose of QXY II group  $P < 0.05$

### 3.4 各组对小鼠血清 MDA 的影响

从表 3 可见,感染 CVB<sub>3</sub>10d 后,模型组小鼠血清 MDA 含量较正常组明显升高( $P < 0.01$ ),各用药组均能有效地降低血清 MDA 含量,与模型组比较  $P < 0.01$ ,其中尤以清心饮 II 号中剂量组的降低幅度最大。

表 3 各组对小鼠血清 MDA 的影响( $\bar{x} \pm s$ )

Tab 3 The influence of each group to the serum MDA of mice ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	MDA 值(nmol/mL)
正常组	7	6.2857 ± 0.9512 <sup>1)</sup>
模型组	8	9.1250 ± 2.3566
药物阳性对照组	8	6.1250 ± 1.3562 <sup>1)</sup>
清心饮 II 号高剂量组	9	5.6667 ± 1.1180 <sup>1)</sup>
清心饮 II 号中剂量组	9	5.2222 ± 0.9718 <sup>1)</sup>
清心饮 II 号低剂量组	9	5.7778 ± 1.2019 <sup>1)</sup>

注: <sup>1)</sup>与模型组相比较  $P < 0.01$

Note: <sup>1)</sup>compared with model group  $P < 0.01$

### 3.5 各组对小鼠血清 cTnI 的影响

从表 4 可见,正常组小鼠血清中 cTnI 均为阴性,较感染病毒的模型组和各用药组有显著性差异( $P < 0.01$ ),而模型组小鼠血清中有较高水平的 cTnI 表达。与模型组相比较,各用药组中只有清心饮 II 号中剂量组 cTnI 含量明显降低( $P < 0.05$ ),其余各组 cTnI 含量虽然均有不同程度下降,但与模型组比较,差别无显著性。且清心饮 II 号中剂量组与药物阳性对照组比较有显著性差异, $P < 0.05$ 。

表 4 各组对小鼠血清 cTnI 值的影响( $\bar{x} \pm s$ )

Tab 4 The influence of each group to the serum cTnI of mice ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	cTnI (mg/L)
正常组	9	0.0000 ± 0.0000
模型组	7	2.4429 ± 0.5028 <sup>1)</sup>
药物阳性对照组	10	2.2600 ± 0.9095 <sup>1)</sup>
清心饮 II 号高剂量组	7	1.8429 ± 0.9624 <sup>1)</sup>
清心饮 II 号中剂量组	7	1.2714 ± 1.2553 <sup>1,2,3)</sup>
清心饮 II 号低剂量组	7	2.6857 ± 1.2280 <sup>1)</sup>

注: <sup>1)</sup>与正常组比较  $P < 0.01$  <sup>2)</sup>与模型组比较  $P < 0.05$  <sup>3)</sup>与药物阳性对照组比较  $P < 0.05$

Note: <sup>1)</sup>compared with normal group  $P < 0.01$  <sup>2)</sup>compared with model group  $P < 0.05$  <sup>3)</sup>compared with positive control group  $P < 0.05$

### 3.6 各组对心肌组织形态学的影响

HE 切片光镜下观察,正常组小鼠心肌组织未见任何病理损害,模型组小鼠均出现病变,符合急性病毒性心肌炎病理改变。心肌可见散在的点状或严重的片状坏死,病灶内心肌坏死呈颗粒状,蓝染;有些病灶内心肌溶解消失,残留结缔组织和小血管,但心肌组织及病灶周围炎性细胞浸润不明显。与模型组相比较,各中药组心肌损害均有不同程度的减轻,其中清心饮 II 号高剂量组和中剂量组的损害最轻,(与模

型组比较有显著性差异, $P < 0.05$ ),清心饮 II 号低剂量组和药物阳性对照组病变较重,与模型组相比较无显著性差异。病理积分见表 5。

表 5 各组心肌病理积分( $\bar{x} \pm s$ )

Tab 5 The myocardial histopathologic changes of each group ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	病理积分
正常组	11	
模型组	13	1.7692 ± 1.0919 <sup>1)</sup>
药物阳性对照组	9	1.5556 ± 0.7265 <sup>1)</sup>
清心饮 II 号高剂量组	13	1.0769 ± 0.4935 <sup>2)</sup>
清心饮 II 号中剂量组	12	1.1667 ± 0.3892 <sup>1,2)</sup>
清心饮 II 号低剂量组	10	1.5000 ± 0.7071 <sup>1)</sup>

注: <sup>1)</sup>与正常组比较  $P < 0.01$  <sup>2)</sup>与模型组比较  $P < 0.05$

Note: <sup>1)</sup>compared with normal group  $P < 0.01$  <sup>2)</sup>compared with model group  $P < 0.05$

### 3.7 各组对心肌病毒滴度的影响

从表 6 可以看出,模型组的心肌病毒滴度水平较高(与正常组相比较, $P < 0.05$ ),各用药组中,清心饮 II 号高剂量组和中剂量组的病毒滴度水平较模型组有明显降低( $P < 0.05$ ),也明显低于药物阳性对照组和清心饮 II 号低剂量组( $P < 0.01$ ),而清心饮 II 号低剂量组和药物阳性对照组有较高心肌病毒滴度水平,与模型组无明显差异。

表 6 各组对心肌病毒滴度的影响( $\bar{x} \pm s$ )

Tab 6 The influence of each group to the the virus titers in myocardium cells of mice( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	病毒滴度(Ig)
正常组	5	0.5000 ± 0.4403
模型组	5	2.8320 ± 0.3100 <sup>1)</sup>
药物阳性对照组	6	2.9150 ± 0.4315 <sup>1)</sup>
清心饮 II 号高剂量组	7	1.4729 ± 0.5563 <sup>1,2,3)</sup>
清心饮 II 号中剂量组	5	1.9980 ± 0.3100 <sup>1,2,3)</sup>
清心饮 II 号低剂量组	5	2.9743 ± 0.9797 <sup>1)</sup>

注: <sup>1)</sup>与正常组相比  $P < 0.05$ ; <sup>2)</sup>与模型组比较  $P < 0.05$ ; <sup>3)</sup>与药物阳性对照组和清心饮 II 号低剂量组比较  $P < 0.01$

Note: <sup>1)</sup>compared with normal group  $P < 0.05$ ; <sup>2)</sup>compared with model group  $P < 0.05$ ; <sup>3)</sup>compared with positive control group and low dose of QXY II  $P < 0.05$

## 4 分析与讨论

### 4.1 清心饮 II 号治疗病毒性心肌炎的中医药理论基础

根据中医理论,病毒性心肌炎为温热之邪内舍于心,耗伤心之气阴而成。病变初起时以热毒犯心、气阴两伤为主;至恢复期和慢性期可兼夹瘀血、痰饮等有形之邪,形成虚实夹杂之候,故病情缠绵,难以痊愈。方中人参具有益气养心阴之作用,切中病机,苦参能清热解毒,丹参活血化淤,诸药合用,达到扶正祛邪、标本兼治的效果,为本病的正治之方。现代药理学研究证实:人参、苦参、丹参均具有清除氧自由基作用,人参、苦参具有抗病毒作用,对多种病毒如:流感病毒、柯萨奇 B 组病毒等均有抑制和杀灭作用<sup>[8,9]</sup>,丹参可改善心脏局部微循环,且可通过缩短心肌细胞 APD 和阻断 L

型钙电流而产生钙通道阻滞样作用<sup>[10]</sup>。为本方治疗病毒性心肌炎提供了依据。

#### 4.2 清心饮 II 号不同剂量组的疗效评价

从本实验清心饮 II 号及玉丹荣心丸对 VMC 小鼠的体重、心脏巨检、心肌病理改变、心肌病毒滴度和血清 SOD、MDA、cTnI 等疗效指针的影响,可以总结出各中药组均有一定的治疗效果,综合评价,其疗效依次为:清心饮 II 号高剂量组和中剂量组 > 清心饮 II 号低剂量组 > 玉丹荣心丸组。总体上清心饮 II 号组疗效好于玉丹荣心丸组,显示清心饮复方是治疗 VMC 的有效方剂。

#### 4.3 清心饮 II 号对 VMC 小鼠模型作用机制的评价

4.3.1 清心饮 II 号对 VMC 小鼠模型血清 SOD 和 MDA 的影响:最近研究发现,自由基与细胞凋亡有密切关系<sup>[11]</sup>。氧自由基可能为心肌细胞凋亡的诱发因素之一而参与心肌细胞凋亡的病理过程<sup>[12]</sup>。另外,OF<sub>R</sub>还与 VMC 病理有关,有文献表明:病毒性心肌炎患者 SOD 水平与血清 CK-MB 呈负相关,而与射血分数(EF)、心轴缩短率(FS)呈正相关<sup>[13]</sup>。

在本次实验中,与正常组相比较,模型组 SOD 水平显著下降,而 MDA 水平显著上升,与文献报道一致。清心饮 II 号和玉丹荣心丸均能不同程度地升高血清 SOD 水平和降低 MDA 水平,其中尤以清心饮 II 号高剂量组和中剂量组效果最为显著,优于清心饮 II 号低剂量组和药物对照组,显示出一定的量效关系。显示清心饮 II 号方具有较强的抗氧化的作用,这可能是清心饮 II 号对 VMC 有较好疗效的原因之一。现代药理研究表明,人参、苦参和丹参均具有较强的提高机体内源性 SOD 活性和抗氧化的作用。这也为该结果提供了理论依据。

4.3.2 清心饮 II 号对病毒性心肌炎小鼠模型血清 cTnI 的影响:肌钙蛋白 I (TnI)是肌钙蛋白 3 个亚单位中起调节作用的单链多肽,cTnI 为 TnI 三种同型形式之一,仅存在于心肌之中。在心肌细胞胞浆中,游离 cTnI 只占 4.1%,大部分以复合体形式存在,当心肌缺血或炎症引起细胞膜损害时,游离 cTnI 可迅速进入血液,而结合的 cTnI 由于分子量大,延迟透出胞膜入血,并逐渐分解出 cTnI<sup>[14]</sup>。因此,cTnI 在心肌损伤时可较早出现并持续较长时间。较之以 LDH、CK、CK-MB 等心肌酶学检查具有灵敏性高和特异性强的优点而成为 VMC 心肌损伤的可靠的标记物。有人测定 52 例急性病毒性心肌炎患者,血清 cTnI 阳性率为 73.1%,而 CK-MB 的阳性率仅为 5.8%<sup>[15,16]</sup>,其诊断 VMC 的敏感性和特异性均好于 CK-MB。故 1999 年 9 月昆明会议新制定的《病毒性心肌炎诊断标准》中,cTnI 的检测被列为该病的主要诊断依据之一<sup>[17]</sup>。

我们通过对 VMC 小鼠血清 cTnI 检测发现,正常组小鼠血清 cTnI 均为阴性,而模型组有较高的血清 cTnI 水平,用不同剂量的清心饮 II 号和玉丹荣心丸治疗后,血清 cTnI 水平均有不同程度的下降,说明中药的干预可以降低 VMC 小鼠 cTnI 的水平,间接证实清心饮 II 号方具有保护宿主心肌细胞免受感染病毒侵袭和免疫损伤的作用。其中,清心饮 II

号中剂量组效果最佳(与模型组比较  $P < 0.05$ )。

#### 5 结论

清心饮 II 号是治疗病毒性心肌炎的有效方剂。

本次实验中,清心饮 II 号高剂量组和中剂量组的疗效最佳;优于清心饮 II 号低剂量组和玉丹荣心丸组。

清心饮 II 号对 CVB<sub>3</sub> 病毒性心肌炎小鼠模型的治疗机理,与其抗病毒、抗氧化有关。

#### 参考文献

- [1] 程志清,陆芷青. 诊治病毒性心肌炎经验述要[J]. 浙江中医杂志,1993,4:28.
- [2] 程志清,刘强. 清心饮对柯萨奇病毒性心肌炎细胞作用的实验研究[J]. 中国中西医结合杂志,1998 年基础理论专辑.
- [3] 程志清. 用血清药理学方法观察清心饮对培养大鼠心肌细胞感染柯萨奇 B<sub>3</sub> 病毒的影响[J]. 中医杂志,1999,40(1):47.
- [4] 程志清,李树雯,刘强. 清心饮对实验性 VMC 小鼠的疗效与免疫调节作用的实验研究[J]. 中国中医药科技,2000,7(1):13.
- [5] Reed LJ, Muench LH. A Simple method of estimating fifty percent endpoints[J]. Amj Hygiene 1938,27:493.
- [6] 张寄南,苏恩本,杨留,等. 血清 cTnI 对病毒性心肌炎诊断价值的研究[J]. 江苏医药,2000,26(10):753.
- [7] Rezkalla S, Kloner RA, Khatib G, et al. Beneficial effects of Captoprilin acute coxsackievirus B<sub>3</sub> murine myocarditis[J]. Circulation, 1990,81:1039.
- [8] 侯世宽,张茂林,刘杰,等. 6 种中草药抗病毒试验[J]. 中国兽医学报,1998,18(6):596.
- [9] 陈曙霞,彭旭,刘晶星,等. 苦参对感染柯萨奇 B<sub>3</sub> 病毒乳鼠搏动心肌细胞的保护作用[J]. 中华实验和临床病毒学杂志,2000,14(2):137.
- [10] 徐长庆,姜延平,杨宝峰. 丹参酮 II-A 抑制豚鼠单个心肌细胞 L 型钙电流和缩短动作电位时程效应的相关性分析[J]. 中国药理学通报 1998,14(5):428.
- [11] 惠宏襄,赵小宁,金明,等. 自由基与细胞凋亡[J]. 生物化学与生物物理进展,1996,23(1):12.
- [12] 韩波,马沛然,韩秀珍,等. 小鼠病毒性心肌炎与细胞凋亡及氧自由基的关系[J]. 山东医药,2000,40(10):7.
- [13] 葛明,王立琴,沉得炜,等. 小儿病毒性心肌炎的氧自由基变化及其相关因素[J]. 山东医药,2000,40(10):9.
- [14] Larue C, Calzolari C, Bertichant JP, et al. Cardiac-specific immunoenzymometric assay of troponin I in the early phase of acute myocardial infarction clin chem, 1993,39(6):972.
- [15] 陆秋芬,赵美华,许之民,等. 血清心肌肌钙蛋白 I 判断病毒性心肌炎损伤及预后的判断[J]. 临床心血管杂志,2000,10,16(2):438.
- [16] 张寄南,苏恩本,魏瑾,等. 血清肌钙蛋白 I 升高与病毒性心肌炎诊断及病程关系探讨[J]. 中华心血管杂志,1999,27(6):421.
- [17] 吴铁吉. 病毒性心肌炎诊断标准(修订草案)[J]. 中国实用内科杂志 2000,15(5):315.

收稿日期:2002-03-18