

黄芪保心合剂对心肌梗死后心衰大鼠心肌保护作用机制研究

张庆^{1,2} 张培影³ 陈永刚³ 卢磊^{1,2} 李先池^{1,3} 刘敏^{1,2}

(1.南京中医药大学,江苏南京 210023; 2.南京中医药大学附属徐州市中医院,江苏徐州 221000;

3.徐州市中心医院,江苏徐州 221000)

摘要 目的:观察黄芪保心合剂对急性心肌梗死后心衰大鼠的心肌保护作用机制。方法:以冠脉结扎法造成大鼠慢性心衰动物模型,将造模成功的大鼠随机分为模型组、卡托普利组和黄芪保心合剂高、中、低剂量组,另取没有进行左冠脉结扎手术的大鼠为假手术组。卡托普利组予卡托普利 6.75mg/kg,黄芪保心合剂高、中、低剂量组分别予 22.68、11.34、5.67g 生药/kg 灌胃,模型组、假手术组灌胃同等剂量蒸馏水,每日 1 次,给药 4 周。给药结束后检测各组大鼠左室舒张末期内径(LVEDD)、左室收缩末期内径(LVESD)、左心室射血分数(EF)、左心室短轴缩短率(FS)、每搏输出量(SV)、心率(HR)、心排量(CO)、平均动脉压(MAP)、左室发展压(LVDP)、左室舒张末期压(LVEDP)、左心室内压最大上升速率(+dp/dt_{max})、左心室内压最大下降速率(-dp/dt_{max})、ST 值和血清 N 端前脑钠素(NT-proBNP)、基质裂解素 2(ST2)含量及心脏重量指数(HWI)、左室质量指数(LVMI)。结果:与假手术组比较,模型组大鼠心脏超声指数、血流动力学指数、HWI、LVMI 和 NT-proBNP、ST2 含量均有明显改变($P<0.01$);与模型组比较,卡托普利组和黄芪保心合剂高、中剂量组大鼠上述指标均显著改善($P<0.05, P<0.01$),黄芪保心合剂低剂量组有部分疗效。结论:以益气活血立法的黄芪保心汤具有良好的抗心衰作用,其作用机理可能与增强心肌收缩力、抗纤维化、抑制心肌细胞的坏死和凋亡有关。

关键词 黄芪保心合剂 心肌梗死 心衰 心功能 血流动力学 血清 N 端前脑钠素 基质裂解素 实验研究
中图分类号 R541.610.5 **文献标志码** A **文章编号** 1672-397X(2017)04-0078-04

慢性心力衰竭(chronic heart failure, CHF)是各种心脏结构或功能性疾病导致心室充盈和(或)射血功能受损,以器官、组织血液灌注不足为临床表现的一组综合征,是心血管疾病的终末期表现和最主要的死因^[1]。CHF 患者再住院率高,存活率低,严重影响了患者的生活质量,已成为我国心血管病领域的重要公共卫生问题。西医目前仍以药物治疗为主,起搏器、干细胞移植等治疗费用昂贵,难以推广应用。黄芪保心合剂为笔者导师张培影教授经验方,前期临床观察其治疗扩张型心肌病,具有较好的疗效^[2]。本研究通过冠脉结扎致大鼠心肌梗死后心衰,观察黄芪保心合剂对心衰大鼠的心肌保护机制,为其治疗心衰提供实验依据。

1 实验材料

1.1 实验动物 SD 大鼠,SPF 级,体重 170~210g,由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供,合格证号:SCXK(沪)2013-0016。大鼠于实验室环境中分笼饲养,保持环境温度 20℃~26℃,湿度 40%~70%,饲以实验动物用配合饲料(北京华阜康生物科

技有限公司提供)。

1.2 药物、试剂与仪器 黄芪保心合剂(黄芪 30g,党参 20g,丹参 15g,连翘 12g,牡丹皮 12g,鳖甲 9g,桂枝 6g,麦冬 12g,五味子 6g 当归 12g),江苏颐海药业股份有限公司,批号 160601,浓度 1.89g 生药/mL;卡托普利片,江苏黄河药业股份有限公司,批号 1508010,规格 25mg/片;大鼠 N 端前脑钠素(NT-proBNP),LSBio 公司,批号 3926,规格 96T;基质裂解素 2(ST2),NeoBiolab 公司,批号 SW60617-NS,规格 96T;VM7 型便携式彩色多普勒超声诊断仪,深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司;生物信号采集系统,AD 公司;BS224S 型电子分析天平,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;SC-3610 型低速离心机,安徽中科中佳科学仪器有限公司;Centrifuge 5804R 型冷冻离心机,德国 Eppendorf 公司;XMTD-8222 型电热恒温水浴锅,上海精宏实验设备有限公司;Milli-Q Advantage A10 型超纯水仪,美国 Millipore 公司;FlexStation 3 钙流工作站,美国 Molecular Devices 公司;Thermo 905 型超低温冰箱,美国 Thermo Scientific 公司。

2 实验方法

2.1 造模与分组、给药 按参考文献[3]方法造模,将大鼠禁食 12h 后用 10%水合氯醛腹腔麻醉,行气管切开术及气管插管,连接呼吸机予以正压通气,潮气量 25mL,频率 70 次/min,自胸骨左缘开胸,暴露心脏,距主动脉根部 5mm 处,用 6-0 眼科无创缝合丝线结扎冠脉左前降支,结扎后心室颜色变暗,心电图 ST 段抬高伴肢体导联 R 波高尖,即为结扎成功。术后关腹缝合,消毒,给予青霉素 16 万单位/只抗感染,治疗 3d。假手术组只穿线不结扎,其他制作程序与模型组相同。8 周后存活大鼠予以超声测量心功能相关指标,以心脏超声检测 EF<65%为慢性心衰造模成功。造模成功的大鼠随机分成 5 组,分别为模型组(灌胃给予同等剂量蒸馏水),阳性药组(卡托普利 6.75mg/kg)和黄芪保心合剂高剂量组(22.68g 生药/kg)、中剂量组(11.34g 生药/kg)、低剂量组(5.67g 生药/kg),假手术组灌胃同等剂量蒸馏水,各组均每日灌胃给药 1 次,共 4 周,给药结束后检测各项指标。

2.2 观察指标及方法

2.2.1 心脏超声心动图检测 末次给药后 1h,称取体重后,大鼠 10%水合氯醛麻醉,左胸部备皮,仰卧位,采用多功能超声诊断仪,用 10S 探头(探头频率 11.0MHz)检测。取胸骨旁左室长轴切面,获得清晰的左心室标准区二维图像,分别测量左室舒张末期内径(LVEDD)、左室收缩末期内径(LVESD)、左心室射血分数(EF)、左心室短轴缩短率(FS)、每搏输出量(SV)、心率(HR)、心排血量(CO),取 3 个心动周期求平均值。

2.2.2 血流动力学检测 麻醉的大鼠固定后分离右颈总动脉和左股动脉,丝线结扎远端,动脉夹夹住近心端,经右颈总动脉插入充满 250IU/mL 肝素生理盐水的聚苯乙烯/PE-20 导管至左心室,连接生物信号采集系统,稳定 5min 后记录平均动脉压(MAP)、左室发展压(LVDP)、左室舒张末期压(LVEDP)、左心室内压最大上升速率(+dp/dt_{max})、左心室内压最大下降速率(-dp/dt_{max})及 ST 值。

2.2.3 血清 NT-proBNP、ST2 含量测定 剖开大鼠腹腔,分离出腹主动脉,促凝管采血约 5mL,静置 30min 后以 4℃、3000r/min

离心 10min,分离血清,按照试剂盒说明采用 ELISA 法分别测定 NT-proBNP、ST2 含量。

2.2.4 心脏重量指数(HWI)、左室质量指数(LVMI)的测定 大鼠取血后用眼科弯镊夹住两心耳下方血管蒂,剪下心脏置于 4℃冷生理盐水中冲洗心腔内的残余血液,去除结缔组织,滤纸吸干后放于电子分析天平上,称出全心脏重量(HW)并记录;用眼科剪沿肺动脉圆锥修剪心脏,将血管、心房、心耳、右心室去除,称出左心室重量(LVW),通过计算出心脏重量指数(HW/BW,HWI)和左室质量指数(LVW/BW,LVMI)来对比各组间心脏肥厚程度的差异。

2.3 统计学方法 采用 SPSS 17.0 软件进行统计分析。计量资料数据采用($\bar{x} \pm s$)表达,采用 *t* 检验进行统计分析,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义, $P < 0.01$ 为差异具有极显著统计学意义。

3 实验结果

3.1 各组大鼠心功能指标比较 见表 1。模型组与假手术组比较,LVEDD、LVESD、EF、FS、SV、CO 差异有统计学意义($P < 0.01$),表明模型组大鼠左心泵血功能显著性下降,收缩及舒张功能明显减弱,造模成功。与模型组比较,卡托普利组和黄芪保心合剂高、中剂量组大鼠 EF、SV 及 CO 显著增加($P < 0.05$, $P < 0.01$),黄芪保心合剂低剂量组大鼠 SV 和 CO 显著增加($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

3.2 各组大鼠血流动力学参数比较 见表 2。模型组与假手术组比较,MAP、LVDP、LVEDP、+dp/dt_{max} 及 -dp/dt_{max} 差异有统计学意义($P < 0.01$),说明慢性心衰模型复制成功。与模型组比较,卡托普利组和黄芪保心合剂高、中剂量组大鼠 MAP、LVDP、+dp/dt_{max}、

表 1 各组大鼠心功能指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	LVEDD(mm)	LVESD(mm)	EF(%)	FS(%)	SV(mL)	HR(次/min)	CO(L/min)
假手术组	9	6.68±0.97	3.93±0.94	79.36±8.19	40.98±7.46	0.28±0.04	415±42	167.40±49.67
模型组	9	8.32±1.13 ^{△△}	6.64±1.34 ^{△△}	41.68±11.02 ^{△△}	20.72±6.57 ^{△△}	0.18±0.02 ^{△△}	395±31	53.02±11.35 ^{△△}
卡托普利组	7	7.60±0.58	5.71±0.70	57.03±7.42 [*]	25.11±4.66	0.25±0.04 [*]	405±22	136.90±35.12 [*]
黄芪保心合剂高剂量组	9	7.44±0.70	5.77±0.79	54.33±9.55 [*]	22.69±4.72	0.22±0.04 [*]	408±30	151.15±42.80 [*]
黄芪保心合剂中剂量组	7	7.55±1.55	5.79±1.71	55.16±14.52 [*]	24.52±8.79	0.22±0.08 [*]	412±43	141.49±19.36 [*]
黄芪保心合剂低剂量组	7	7.94±1.01	6.30±1.27	47.67±13.77	21.23±6.09	0.22±0.13 [*]	385±57	140.30±24.74 [*]

注:与假手术组比较,△△ $P < 0.01$;与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

表 2 各组大鼠血流动力学参数比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	MAP(mmHg)	LVDP(mmHg)	LVEDP(mmHg)	+dp/dt _{max} (mmHg/s)	-dp/dt _{max} (mmHg/s)	ST 绝对值
假手术组	9	221.76±15.24	224.61±30.97	100.92±5.00	3988.65±697.46	3953.80±674.77	0.028±0.017
模型组	9	179.48±18.77 ^{△△}	177.72±20.17 ^{△△}	121.02±6.51 ^{△△}	2492.16±323.49 ^{△△}	2489.73±314.02 ^{△△}	0.083±0.029 ^{△△}
卡托普利组	7	200.01±14.61 [*]	202.70±18.32 [*]	104.75±5.39 [*]	3138.90±646.09 [*]	3074.94±546.39 [*]	0.042±0.038 [*]
黄芪保心合剂高剂量组	9	202.71±18.96 [*]	213.54±29.32 [*]	101.05±5.70 [*]	3234.91±816.21 [*]	3075.70±514.90 [*]	0.037±0.041 [*]
黄芪保心合剂中剂量组	7	201.85±20.60 [*]	211.26±26.10 [*]	103.44±6.59 [*]	3140.37±739.43 [*]	3072.38±371.22 [*]	0.043±0.037 [*]
黄芪保心合剂低剂量组	7	188.02±19.20	198.81±21.88	107.24±6.56 [*]	2767.70±344.99	2683.59±397.79	0.048±0.012

注:与假手术组比较,△△ $P < 0.01$;与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

$-\text{dp}/\text{dt}_{\text{max}}$ 显著升高 ($P<0.05, P<0.01$), LVEDP 及 ST 显著降低 ($P<0.05, P<0.01$); 黄芪保心合剂低剂量组仅能显著性降低 LVEDP ($P<0.01$)。

3.3 各组大鼠血清 NT-proBNP、ST2 含量比较 见表 3。模型组与假手术组比较, 血清 NT-proBNP、ST2 含量均明显升高 ($P<0.01$)。与模型组比较, 卡托普利组和黄芪保心合剂高、中剂量组大鼠血清 NT-proBNP 及 ST2 含量显著降低 ($P<0.05, P<0.01$)。

表 3 各组大鼠血清 NT-proBNP、ST2 含量比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数 (只)	血清 NT-proBNP (pg/mL)	血清 ST2 (ng/mL)
假手术组	9	345.34±51.93	684.56±119.73
模型组	9	492.23±66.48 ^{△△}	1115.48±283.28 ^{△△}
卡托普利组	7	382.83±32.91 ^{**}	829.77±176.18 [*]
黄芪保心合剂高剂量组	9	393.20±71.63 [*]	845.64±162.29 [*]
黄芪保心合剂中剂量组	7	397.61±57.24 ^{**}	858.67±170.84 [*]
黄芪保心合剂低剂量组	7	411.99±84.91	986.80±323.92

注: 与假手术组比较, $\Delta\Delta P<0.01$; 与模型组比较, $*P<0.05$, $**P<0.01$ 。

3.4 各组大鼠体重、HWI 和 LVMI 比较 见表 4。模型组与假手术组比较, 体重无显著性差异 ($P>0.05$), HWI 和 LVMI 明显升高 ($P<0.01$)。与模型组比较, 卡托普利组和黄芪保心合剂高、中剂量组的 HWI 和 LVMI 降低明显 ($P<0.05$)。

表 4 各组大鼠体重和 HWI 和 LVMI 比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数 (只)	体重(g)	HWI(mg/g)	LVMI(mg/g)
假手术组	9	372.89±112.62	2.93±0.07	2.08±0.11
模型组	9	343.89±93.37	3.35±0.25 ^{△△}	2.69±0.35 ^{△△}
卡托普利组	7	343.86±99.69	3.08±0.16 [*]	2.35±0.16 [*]
黄芪保心合剂高剂量组	9	323.00±117.35	3.08±0.18 [*]	2.33±0.16 [*]
黄芪保心合剂中剂量组	7	347.78±114.82	3.10±0.32 [*]	2.27±0.27 [*]
黄芪保心合剂低剂量组	7	308.14±101.42	3.30±0.24	2.52±0.25

注: 与假手术组比较, $\Delta\Delta P<0.01$; 与模型组比较, $*P<0.05$ 。

4 讨论

心衰是由于心脏收缩功能或舒张功能减退导致的临床综合征, 与心脏、肺、肝脏、肾脏、内分泌、免疫等全身多个器官及系统相互影响, 而这些关系往往表现得相当复杂。现代医学通过有效的治疗手段, 降低了 CHF 患者的病死率, 但仍存在许多需要解决的问题, 如不能完全改善症状、药物副作用、存在许多药物使用禁区等。中药在改善患者预后、提高生存质量等方面发挥着不可替代的作用。

本研究通过观察 N 端前脑钠素 (NT-proBNP)、基质裂解素 2(ST2) 及心脏相关指数来评估黄芪保心合剂对心衰大鼠的疗效。BNP 是 32 个氨基酸组合而成的多肽, 是一种主要由心室肌细胞分泌的心脏激

素, 当患者出现心力衰竭时, 心室壁的张力会出现明显的变化, 从而导致心室肌 BNP 增加, 诱发水钠潴留及缩血管等现象的出现, 破坏心脏代偿状态的平衡, 而 BNP 的水平与压力负荷、左室的容量及射血分数成正比, 因而 BNP 是衡量心衰与否的定量标志物^[4]。美国心脏学会 (AHA)/美国心脏病学会 (ACC)、欧洲心脏病学会 (ESC) 和中国 HF 诊断治疗指南均肯定了 BNP 对 HF 诊断的价值^[5-7]。ST2 作为一种新的心脏标记物, 与心肌成纤维细胞的激活及心肌重塑有关。2013 年美国心脏病学基金会 (ACCF)/美国心脏学会 (AHA) 心衰指南明确指出, ST2 水平不仅可以预测 HF 患者的住院率和死亡率, 并且与 BNP 和半乳凝集素 (Galectin-33) 一并对评估患者预后具有重要价值^[8]。

黄芪保心合剂具有益气活血, 兼解毒、滋阴、利水之功。方中黄芪、党参为君药, 《本草正义》认为党参可益气、健脾、润肺, 功效不逊人参, 提出“凡百证治之应用人参者, 亦无不可以潞党参投之”; 丹参、当归、鳖甲等为臣药, 滋阴活血, 共奏益气之功; 连翘为佐药, 一则清心解毒, 解心脏之毒, 使心神得安, 心之气血阴阳贯通, 二则作为使药, 引药入心经; 桂枝、茯苓引经温经, 通阳利水。现代药理研究表明, 黄芪中黄芪甲苷 (ASIV) 含量最高, 其水溶性较好、活性较强, 是黄芪作用的有效部位^[9], 可以改善慢性心力衰竭患者心脏射血功能和左心室重构, 已经得到了广泛的认可^[10]。党参可抑制骨髓间充质干细胞 (MSCs) 凋亡, 使 MSCs 增殖, 且不影响其高度的自我更新和分化能力, 从而起到保护细胞的作用^[11]。丹参具有抗血小板聚集、抗血栓形成、调脂、改善冠脉循环、抗氧化及抗动脉粥样斑块形成等作用^[12-13]。连翘果壳水煎剂、大孔树脂吸附物及连翘多酚具有显著的抗炎、解热和中和内毒素作用^[14]。牡丹皮中含有牡丹酚, 能显著降低缺血心肌组织丙二醛 (MDA) 含量和血中磷酸肌酸激酶 (CPK) 浓度, 并保护心肌组织超氧化物歧化酶 (SOD) 活性和心肌细胞超微结构^[15]。桂枝中桂枝乙醇能抑制血管平滑肌细胞内质网储存钙的释放, 具有舒张血管作用^[16]。麦冬多糖 FOJ-5 能使大鼠离体缺血再灌注后的心脏收缩幅度和冠脉流量较快地恢复, 抑制心率的加快, 降低异丙肾上腺素诱导的心肌缺血小鼠心电图 ST 段的偏移和血浆中乳酸脱氢酶 (LDH) 的释放^[17]。五味子酚对大鼠离体心脏具有保护作用, 能够保护心肌结构和功能, 降低心肌耗氧量, 延长供体心的保存时间^[18]。

本实验在前期临床观察的基础上, 通过冠脉结扎复制心衰大鼠模型, 实验结果显示: 黄芪保心合剂可增加心衰大鼠 EF、SV、COMAP、LVDP、+dp/dt_{max}、-dp/dt_{max}, 降低 LVEDP、HWI、LVMI、NT-proBNP、ST2, 从而改善

大鼠心功能。由此可见,黄芪保心合剂对冠脉结扎致大鼠心衰模型确有改善心功能、保护细胞结构受损的功效,其机理可能与其抗氧自由基、增强心肌细胞ATP酶活力、改善组织能量代谢及减少心肌细胞内钙超载有关。由于黄芪保心合剂药味较多,成分复杂,其单体之间是否存在叠加或削弱效应尚不明确,其抗心衰的确切机制尚需进一步研究。

参考文献

- [1] Bonow R O, Mann D L, Zipes D P, et al. Braunwald's Heart Disease[M]. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2011: 134.
- [2] 李志刚, 张培影. 黄芪保心汤治疗扩张型心肌病疗效观察[J]. 光明中医, 2015, 30(11): 2351.
- [3] 杨涛涛, 肖颖, 奚赛飞, 等. 大鼠心肌梗死模型构建和评价方法的改良[J]. 中国比较医学杂志, 2014, 24(2): 46.
- [4] JANUZZI J L, TROUGHTON R. Are serial BNP measurements useful in heart failure management? Serial natriuretic peptide measurements are useful in heart failure management[J]. Circulation, 2013, 127(4): 500.
- [5] YANCY C W, JESSUP M, BOZKURT B, et al. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: a report of the American college of cardiology foundation/american heart association task force on practice guidelines[J]. J Am Coll Cardiol, 2013, 62(16): 147.
- [6] MCMURRAY J J V, ADAMOPOULOS S, ANKER S D, et al. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012 [J]. European Journal of Heart Failure, 2012(8): 803.
- [7] 中华医学会心血管病学分会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 慢性心力衰竭诊断治疗指南[J]. 中华心血管病杂志, 2007, 35(12): 1076.
- [8] YANCY C W, JESSUP M, BOZKURT B, et al. 2013 ACCF/AHA Guideline for the Management of Heart Failure[J]. Journal of the American College of Cardiology, 2013, 62(16): e147.
- [9] 刘星塔, 江明华, 俞正坤, 等. 黄芪有效成分研究: V. 黄芪中清除超氧阴离子成分的分离和检测[J]. 天然产物研究与开发, 1991, 3(4): 1.
- [10] 刘艳霞, 刘在萍, 焦建杰, 等. 黄芪苷IV对正常和心功能受抑制大鼠左心室心肌力学的影响[J]. 中草药, 2001, 32(4): 332.
- [11] Wang J G, Wang L R, Xiang P D, et al. Effects of Dangshen on proliferation of mesenchymal stem cells[J]. Chinese Journal of Public Health, 2009, 25(1): 123.
- [12] 季海刚, 司亮, 司晓晨, 等. 丹参对心肌缺血再灌注损伤保护作用的研究进展[J]. 光明中医, 2006, 21(3): 52.
- [13] 蒋海平, 吴艳涛, 陈景刚. 丹参对缺血心肌的保护作用[J]. 微循环杂志, 2006, 16(1): 40.
- [14] 胡竟一, 雷玲, 余悦, 等. 连翘的抗炎解热作用研究[J]. 中药药理与临床, 2007, 23(3): 51.
- [15] 刘春生, 王海. 药用动植物种养殖技术·牡丹皮[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2001: 77.
- [16] 池明哲, 金范学. 桂枝乙醇提取物对大鼠离体胸主动脉环的舒张作用[J]. 延边大学医学学报, 2010, 33(4): 256.
- [17] ZHENG Q, FENG Y, XU D S, et al. Influence of sulfation on anti-myocardial ischemic activity of Ophiopogon japonicus polysaccharide[J]. J Asian Nat Prod Res, 2009, 11(4): 306.
- [18] 高思海, 潘铁成, 李平. 五味子酚对大鼠心脏移植供心的保护作用研究[J]. 中华实用中西医杂志, 2004, 4(1): 1.

第一作者: 张庆(1981—)男, 博士研究生, 主治医师, 从事心血管疾病诊疗研究。

通讯作者: 张培影, 博士, 主任医师。zpy58@sina.com

收稿日期: 2016-12-05

编辑: 吴 宁

文末参考文献著录规则之文献类型和标识代码

根据国家标准 GB/T 7714—2015《信息与文献 参考文献著录规则》中的文末参考文献著录格式, 应在题名后注明“文献类型标识”, 各类文献类型对应的标识代码如下:

普通图书:M; 会议录:C; 汇编:G; 报纸:N; 期刊:J; 学位论文:D; 报告:R; 标准:S; 专利:P; 数据库:DB; 计算机程序:CP; 电子公告:EB; 档案:A; 舆图:CM; 数据集:DS; 其他:Z。

举例:

(普通图书) 黄亚博. 新世纪江苏省中医药学科发展报告[M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 2012: 前言.

(标准) 国家中医药管理局. 中医病证诊断疗效标准[S]. 南京: 南京大学出版社, 1994: 201.

(期刊) 谈勇, 胡荣魁, 夏桂成. 国医大师调治复发性流产经验探赜[J]. 江苏中医药, 2015, 47(9): 1.

(报纸) 周蔓仪. 109项中医药团体标准发布[N]. 中国中医药报, 2015-11-27(1).

(学位论文) 毕承明. 肺癌证治规律文献研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2015.

更多参考文献著录规则及举例见本刊网站(www.jstcm.cn)首页下载专区。