

· 基础研究 ·

运动训练对心肌梗死后心室重构及 MMP-2, MMP-9 表达的影响*

侯伊玲¹ 薄海² 刘子泉² 吴振军¹ 姜铁民¹ 李贺^{1,3}

摘要

目的:观察大鼠心肌梗死(MI)后早期运动训练对左心室(LV)重构、心室功能、心肌间质胶原、基质金属蛋白酶(MMPs)的影响。

方法:SD大鼠随机分为假手术组(Sham组)、MI对照组(AMI-Sed组)和MI+运动训练组(AMI-Ex组),结扎前降支建立MI模型。手术后1周Ex组进行8周跑台训练(运动强度相当于45%VO₂max),术后第9周测量各组大鼠左心室重量、血液动力学参数,处死大鼠,用Masson染色检测左心室非梗死区心肌胶原容积分数(CVF),RT-PCR检测I、III型胶原纤维mRNA表达,Western blot检测非梗死区心肌基质金属蛋白酶-2(MMP-2)及基质金属蛋白酶-9(MMP-9)蛋白表达。

结果:与Sham组比较,AMI-Sed、AMI-Ex组左心室重量指数(LVWI)和左心室长轴径(LVLA)均显著增加($P<0.05$),运动训练对LVWI和LVLA无明显影响;与AMI-Ex组比较,AMI-Sed组RVWI、肺含水率显著增高,左心室压峰值(LVSP)和左心室压力变化最大值(+dp/dt max)显著降低,左心室压力负最大值(LVEDP)显著升高(P 均 <0.05);与AMI-Sed组比较,AMI-Ex组大鼠左心室非梗死区CVF降低,I、III型胶原纤维mRNA表达量均降低($P<0.05$),以I型胶原纤维表达降低为著;与Sham组比较,AMI-Sed、AMI-Ex组MMP-2表达均显著升高($P<0.05$),MMP-9无显著变化;AMI-Ex组MMP-2蛋白表达显著低于AMI-Sed组($P<0.05$)。

结论:AMI后早期运动训练可抑制非梗死区心肌纤维化、改善左心室重构及左心室功能,机制可能与抑制胶原纤维合成有关,MMP-2表达变化对此可能发挥一定作用。

关键词 心肌梗死;心室重塑;运动;胶原;基质金属蛋白酶-2;基质金属蛋白酶-9

中图分类号:R542.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2010)-03-0200-05

Effects of exercises training on myocardial remodeling and MMP-2 and MMP-9 expressions in post myocardial infarction rats/HOU Yiling, BO Hai, LIU Ziquan, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2010, 25(3): 200-204

Abstract

Objective: To investigate the role of exercises training (ET) on left ventricular (LV) remodeling and dysfunction in post-ischemic failing rats by ligation of the left descending coronary artery.

Method: Adult SD male rats were randomly assigned to three experimental groups including sham-operated group, post-MI control group (AMI-Sed) and MI+exercises group (AMI-Ex). Rats were housed under sedentary conditions and assigned to 8-week treadmill exercise protocol.

Result: Comparing with AMI-Sed groups, in AMI-Ex group collagen volume fraction (CVF) of LV non-infarction area decreased and pulmonary congestion reduced ($P<0.05$), LVSP and +dp/dt max improved, but LVEDP increased ($P<0.05$). AMI-Ex group was associated with normalization of the MI-induced decrease in type I procollagen and type III procollagen mRNA levels ($P<0.05$). Also, it showed that exercise decreased MMP-2 protein expression in non-infarcted LV, but ET and MI had no effect on MMP-9 protein expressions in AMI-Ex rats.

* 基金项目:天津市科委自然科学基金重点项目资助(05YFJZJC01602)

1 武警医学院附属医院,武警部队心血管病研究所,天津,300162;2 武警医学院基础部,生理学与病理生理学教研室;3 通讯作者
作者简介:侯伊玲,女,主治医师,硕士;收稿日期:2009-08-31

Conclusion: Early ET in rats after AMI may have beneficial effect on LV remodeling and pumps function by attenuating type I and III procollagen and MMP-2 expression. It suggests that early exercises training is a positive clinically relevant option in post-MI rehabilitation.

Author's address Pingjin Hospital, Medical College of CAPF, Institute of Cardiovascular Disease of CAPF, Tianjin, 300162

Key words myocardial infarction; ventricular remodeling; exercises training; collagen; matrix metalloproteinase-2; matrix metalloproteinase-9

急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 后常出现心室重塑 (ventricular remodeling), 最终导致心力衰竭 (heart failure, HF), 是严重危害人民健康的常见心血管疾病之一, 虽然 AMI 治疗技术长足进步, 然而 HF 发生率仍逐渐增加。临床研究表明, 运动对冠心病、AMI 后心功能恢复、减少冠脉事件、降低死亡率、改善预后有益^[1-3]。但运动训练发挥上述有益作用的确切机制及 MI 后早期运动训练是否对心功能及心脏重塑发挥有益的影响目前尚不完全清楚, 且研究较少^[3]。研究证明心肌间质 (extracellular matrix, ECM) 对心肌收缩功能、MI 后心室重塑有重要影响^[4-6]。本研究通过观察大鼠 MI 后早期运动训练对心脏功能, 心肌胶原及调控因素 MMP-2、9 表达的影响, 探讨运动训练 (exercise training, ET) 对 MI 后心室重塑和心功能影响的可能机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

雄性 Sprague-Dawley 大鼠, 体重 230—260g (购自军事医学科学院实验动物中心)。分笼饲养, 自由进食水, 饲养环境为 20—25℃, 光照 12h。实验前将大鼠置于小动物跑台训练 3d, 剔除不能适应跑台的大鼠。

1.2 试剂与仪器

Trizol Reagent 试剂盒 (Invitrogen 公司)、逆转录试剂盒 (Ferment 公司)、SYBR Green I 荧光染料 (Molecule Probe 公司)、兔抗大鼠 MMP-2、MMP-9 及 β -actin 抗体 (Santacruz 公司); 辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG (H+L) (TBD 公司)、ECL 发光底物 (Santacruz 公司)、其他试剂均为市售分析纯。小动物跑台、BI-2000 医学图像分析系统 (成都泰盟科技有限公司)、RM-6240 多导生理记录仪 (成都仪器

厂)、ChampGel 2000 型凝胶成像仪 (上海天能科技有限公司)、IC5Mcler 荧光定量 PCR 仪 (BIO-RAD 公司)。

1.3 建立 AMI 模型及分组

AMI 模型建立: 3% 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉后, 接心电图肢体导联, 气管切开行气管插管, 接动物呼吸机。左胸第 3—4 肋间开胸, 以无损伤缝合线 (7-0) 在左心耳根部和肺动脉圆锥左缘下 1 mm 处结扎左冠状动脉前降支并观察心电图变化。观察结扎区变为紫色, 同时 QRS 波增高、增宽及不同肢体导联出现 ST 段弓背上抬 0.2mV 以上, 持续 30min 为结扎成功。术后存活的大鼠随机分成 MI 对照组 (AMI-Sed 组, n=10) 和 MI+运动训练组 (AMI-Ex 组, n=10)。假手术组 (Sham 组, n=10) 手术步骤同 AMI 模型组, 但不结扎冠状动脉。

1.4 运动训练

术后 1 周, AMI-Ex 组大鼠进行跑台训练。采用 Bedford 大鼠体重/摄氧量回归方程建立 ET 模型, 动物先在跑台上进行 5min 跑步以适应跑台 (0°, 8.2m/min), 随后调整为 5°, 10m/min (相当于最大氧摄取 45%VO₂max)。第一次运动 15min, 第二次 30min, 第三次 45min, 从第四次开始每次运动 60min, 共运动 8 周, 每周 5 次。

1.5 测定血液动力学参数

AMI 术后第 9 周, 各组大鼠 3% 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉, 将微型心导管经右颈总动脉、升主动脉, 插至左心室内, 导管另一端连于 RM-6240 多导生理记录仪, 测定左心室压峰值 (LVSP), 左心室压力负最大值 (LVEDP)、左心室压力变化速率最大值 ($\pm dp/dt \max$)。

1.6 心脏指数测定

心功能测定后, 股静脉注射 10% 氯化钾 2ml, 使心脏停搏于舒张期, 迅速开胸取出心脏, 预冷生理盐

水洗净后,剔除非心肌组织,分隔左、右心室(左心室部分包括室间隔),滤纸吸干,用电子天平称量左、右心室重量(LVW,RVW)和心室重量, LVW、RVW与体重比值为左、右室心脏重量指数(LVWI,RVWI)。测量从心尖部到主动脉瓣的长度,为左室长轴径(LVLA)。取左侧肺叶,电子天平秤湿重后置于真空干燥箱,80℃恒温,24h后测干重,肺含水率=(肺湿重-肺干重)/肺湿重×100%。

1.7 心肌胶原容积分数(collagen volume fraction, CVF)测定

心脏沿心脏长轴将心尖至结扎点取3片2mm厚组织切片。40g/L多聚甲醛固定24h,常规石蜡包埋,用Masson染色法使胶原特殊染色,心肌细胞染成红色,胶原染成绿色。在显微镜200倍视野下,每张切片随机选取5个视野,用BI-2000医学图像分析系统测量每个视野胶原组织所占百分率,取平均值即为CVF。

1.8 检测左心室非梗死区心肌组织I、III型原胶原(CoL I、CoL III)mRNA表达

取100mg非梗死区心肌,用Trizol Reagent试剂抽提总RNA,总RNA定性定量后用逆转录试剂盒进行逆转录反应。pro-CoL I、pro-CoL III引物参照文献^[7],内参基因β-actin引物用Oligo 6.0软件自行设计,由北京博雅生物有限公司合成;pro-CoL I (1075bp):

上游5'-CAAGAATGGCGACCGTGTTGA-3'

下游5'-GGTGTGACTCGTGCAGCCAT-3'

pro-CoL III (450bp):

上游5'-AGATGGACTAAGTGGACATC-3'

下游5'-CATGTTTCTCCGGTTTCCAT-3',

β-actin(664bp):

上游5'-ACCCAGATCATGTTTGAGACCT-3'

下游5'-TCAGGACGAGCAATGATCTTG-3';

PCR反应体系:Buffer (10×)2.5μl、MgCl₂ (25mM)2.5μl、dNTP (2.5mM each)0.5μl、引物(10pmol)0.6μl、β-actin引物(10pmol)0.6μl、taq酶(1U/μl)1μl、cDNA4μl、SYBR Green I 荧光染料0.5μl、ddH₂O13.3μl。全过程于实时荧光定量PCR(Real Time-PCR)扩增仪上进行扩增反应。反应参数:预变性94℃ 5min,变性94℃ 45s,退火56℃ 45s,延伸72℃ 60s,循环32次,终末延伸72℃ 10min。

连续检测荧光并记录扩增曲线,采用样点拟合法分析结果得到目的基因和β-actin的Ct值。利用公式计算目的基因mRNA对β-actin的相对表达量:目的基因mRNA表达量/β-actin表达量=2^(Ct_{β-actin}-Ct_{目的基因})。

1.9 检测心肌组织MMP-2、9蛋白表达

取非梗死区心肌,匀浆后,PBS洗2遍,加入5倍体积的组织蛋白裂解液,冰浴上30min,离心2min,吸取上清,考马斯亮蓝法测蛋白浓度。将上样缓冲液与心肌蛋白样品等体积混合煮沸10min,离心后取上清。在垂直电泳仪上用相同体积的10μg蛋白质样品经15% SDS-PAGE分离后,转移于PVDF膜上。1:1000兔抗大鼠一抗4℃静置孵育过夜,PBS洗涤3次,再以1:1000辣根过氧化物酶标记的羊抗兔IgG(H+L)二抗室温孵育1h,PBS充分洗涤后,在暗室用ECL试剂盒发光显影,X光胶片压片曝光。用ChampGel2000凝胶系统分析软件,扫描定量各条带的相对灰度值,以Sham组条带灰度值为100%,其他两组条带灰度值与对照组条带灰度值的比值,即为其相对表达量(%)。

1.10 统计学分析

实验数据用SPSS11.0统计软件进行方差分析,数据以均数±标准差表示。

2 结果

2.1 AMI及运动训练后心脏指数及血液动力学参数变化

AMI-Sed、AMI-Ex组LVWI和LVLA均显著高于Sham组(P<0.05),8周运动训练后AMI-Ex组LVWI、LVLA与AMI-Sed组相近。AMI-Sed组RVWI和肺含水率显著高于Sham组、AMI-Ex组(P<0.05),AMI-Ex组RVWI、肺含水率与Sham组比较无显著差异(表1)。

AMI-Sed和AMI-Ex组LVSP和±dp/dt max显著低于Sham组(P<0.01),而LVEDP显著高于Sham

表1 AMI及运动训练对心脏指数的影响 (x±s)

组别	LVWI(mg/g)	RVWI(mg/g)	LVLA(mm)	肺含水率(%)
Sham	3.47±0.45	0.85±0.09	11.3±0.61	5.19±0.72
AMI-Sed	4.59±0.58 ^①	1.31±0.17 ^①	19.4±1.1 ^①	8.43±1.02 ^①
AMI-Ex	4.37±0.60 ^①	0.96±0.07 ^②	17.1±1.4 ^①	5.77±0.90 ^②

与Sham组比较^①P<0.05;与AMI-Sed组比较^②P<0.05

组($P<0.01$)。AMI-Ex 组 LVSP 和+dp/dt max 显著高于 AMI-Sed 组($P<0.05$),而 LVEDP 显著低于 AMI-Sed 组($P<0.05$)(表 2)。

表 2 AMI 及运动训练对血液动力学参数的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	LVSP (mmHg)	LVEDP (mmHg)	+dp/dt max (mmHg/s)	-dp/dt max (mmHg/s)
Sham	139.78±2.69	5.51±0.27	6277.1±515.4	5342.2±380.4
AMI-Sed	91.06±2.45 ^②	13.92±0.33 ^②	4369.2±397.2 ^②	3539.5±363.5 ^①
AMI-Ex	121.79±2.70 ^{①③}	10.79±0.28 ^{①③}	5509.4±514.3 ^{①③}	3875.5±366.0 ^①

与 Sham 组比较① $P<0.05$,② $P<0.01$;与 AMI-Sed 组比较③ $P<0.05$

2.2 AMI 及运动训练后非梗死区胶原容积分数

Masson 染色显示,AMI-Sed 组及 AMI-Ex 组 CVF 均显著高于 Sham 组(分别为 $P<0.01$ 和 $P<0.05$);AMI-Ex 组 CVF 显著低于 AMI-Sed 组($P<0.05$)(见图 1)。

2.3 AMI 及运动训练后 I、III 型原胶原纤维 mRNA

及 MMP-2、MMP-9 蛋白表达变化

与 Sham 组比较,I、III 型原胶原 mRNA 表达 AMI-Sed 组分别升高 167% 和 99%(均 $P<0.01$);AMI-Ex 组分别升高 72% 和 61%(均 $P<0.05$),均显著低于 AMI-Sed 组(见表 3)。

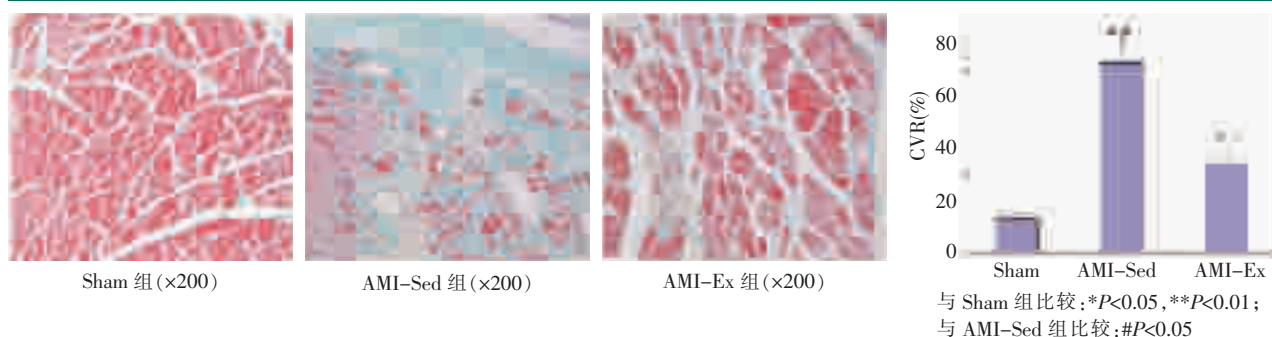
AMI-Sed、AMI-Ex 组 MMP-2 蛋白水平均显著高于 Sham 组(分别为 $P<0.01$, $P<0.05$);AMI-Ex 组 MMP-2 蛋白水平显著低于 AMI-Sed 组($P<0.05$)。三组中 MMP-9 表达无明显差异(见图 2)。

表 3 I、III 型原胶原纤维 mRNA 及 MMP-2、MMP-9 蛋白表达变化 ($\bar{x}\pm s$)

组别	I 型原胶原 mRNA	III 型原胶原 mRNA	MMP-2 蛋白 (%)	MMP-9 蛋白 (%)
Sham	0.43±0.06	0.77±0.09	100	100
AMI-Sed	1.15±0.09 ^②	1.54±0.13 ^②	259.4±34.9 ^②	125.7±16.5
AMI-Ex	0.74±0.07 ^{①③}	1.23±0.12 ^{①③}	174.2±25.1 ^{①③}	117.4±18.6

与 Sham 组比较① $P<0.05$,② $P<0.01$;与 AMI-Sed 组比较③ $P<0.05$

图 1 Sham/AMI-Sed/MI-Ex 三组 Masson 染色及 CVF 变化



3 讨论

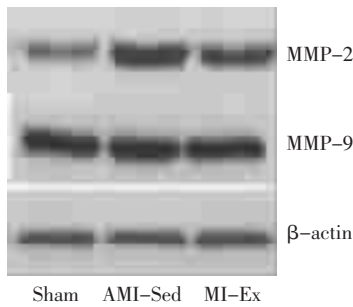
研究表明,ET 可对 MI 后心脏产生多方面影响,如降低心肌间质纤维蛋白含量、恢复肌丝滑动异常、改善心功能、增加心肌 β -肾上腺素能受体、 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交换蛋白表达、降低血管紧张素转化酶(angiotension converting enzyme,ACE)等^[8-12]。AMI 后康复 ET 有益和不利的结果均有报告^[11,13];实验研究也观察到,MI 后 ET 可使 MI 面积扩大,或无影响,原因可能与运动负荷强度不同有关,中等强度 ET 通常有益^[8-12]。本实验表明,AMI 后早期 ET:减轻 MI 模型大鼠左心室重塑,改善左心室收缩功能;降低非 MI 区心肌间质原胶原 mRNA 表达及含量;ET 主要降低心肌 MMP-2 蛋白表达,对 MMP-9 无明显影响。

研究证明,药物干预降低 MI 后心肌间质胶原含量可提高左心室收缩功能,但对舒张功能异常无

影响^[8];Xu 等观察到 MI 后 ET 大鼠除心肌间质胶原含量降低外,左心室收缩末内径、左心室收缩、舒张功能均显著改善^[9]。本实验结果与之相近,ET 改善 MI 后大鼠左心室重塑、肺含水率与假手术对照大鼠相近,还观察到 ET 使 MI 大鼠左心室 I、III 型原胶原 mRNA 表达水平、胶原含量明显减低,收缩功能(LVSP 和+dp/dt max)提高,主要的舒张功能指标(-dp/dt max)无明显改善。

心脏 ECM 主要由 I、III 型胶原组成,对维持心脏心态、心功能正常发挥重要的作用。ECM 含量正常、稳定主要受胶原合成、降解/抑制因素如 MMPs、基质金属蛋白酶组织抑制剂(tissue inhibitor of matrix metalloproteinase,TIMP)活性变化控制。心肌胶原过度增加或降低均对心脏产生不良影响。MI 后心肌间质异常变化是导致心室重塑的重要原因。MI

图2 Sham/AMI-Sed/MI-Ex 三组蛋白变化



恢复期心肌胶原含量或 I/III 型胶原比值下降、胶原交联程度降低,可致左心室扩张等严重后果^[1,4-6]。使用强的松龙降低 MI 后心肌胶原含量可导致心室扩张^[8]。而本实验结果显示,ET 虽然使心肌胶原含量降低,但无心室扩张;另外,ET 的 MI 大鼠心肌 MMP-2 蛋白表达明显低于非运动大鼠,说明 ET 使 ECM 降解因素减弱。目前研究表明避免过强的 ECM 降解对维持 MI 后正常心室形态有重要作用^[1,4-6]。

本实验饶有兴趣的问题是,MI 后 ET 大鼠心肌胶原含量并未随 MMP-2 活性降低增加,反而明显降低,同时心室重塑减轻。分析原因可能为:①其他心肌胶原影响因素,如骨桥蛋白(osteopontin, OPN)表达增加。研究显示 MI 后 OPN 表达增加,对促进 MI 后心肌间质胶原沉积、减轻心室重塑均发挥重要作用^[14-18]。细胞研究显示 OPN 与 MMP2 活性之间呈相反关系,即当 OPN 合成受抑制时 MMP-2 活性增加,而 MMP-2 表达减低时 OPN 表达增加^[17]。本实验观察到 MI 后 ET 大鼠心肌 MMP-2 蛋白表达降低,推测此时 OPN 表达和作用可能加强,因而改善心室重塑。②心脏肾素血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)不但对 MI 时心室重塑,还对 MI 后心肌纤维化程度有重要影响,抑制 RAS 可显著减轻这些变化^[20-21]。ET 可降低 MI 心肌 ACE 表达、血管紧张素 II (Angiotensin II) 水平^[7-10],通过此途径可抑制 RAS、降低胶原合成,可能是 MI 后 ET 发挥有益心脏修复作用的重要机制之一。

本实验结果表明,中等强度 ET 对 MI 后心功能维持和恢复有益,但 ET 对心肌 MMPs 表达变化的影响机制仍需进一步研究。

参考文献

[1] Crimi E, Ignarro LJ, Cacciatore F, et al. Mechanisms by which exercise training benefits patients with heart failure[J]. Nat Rev

Cardiol,2009,6(4):292-300.
 [2] 谭思洁,杨凤英.冠心病患者康复Ⅲ期运动处方的研制及效果观察[J].中国康复医学杂志,2008,23(2):150-152.
 [3] 邱峰,励建安,陆晓,等.心肌缺血和有氧运动训练诱导 VEGF 表达时间规律的实验研究[J].中国康复医学杂志,2008,23(3):193-197.
 [4] Spinale FG. Myocardial matrix remodeling and the matrix metalloproteinases: influence on cardiac form and function[J]. Physiol Rev,2007,87(4): 1285-1342.
 [5] Spinale FG, Wilbur NM. Matrix metalloproteinase therapy in heart failure [J]. Curr Treat Options Cardiovasc Med,2009,11(4): 339-346.
 [6] Zamilpa R, Lindsey ML. Extracellular matrix turnover and signaling during cardiac remodeling following MI:Causes and consequences[J]. J Mol Cell Cardiol,2009,in press
 [7] Kohno T, Anzai T, Naito K, et al. Angiotensin - receptor blockade reduces border zone myocardial monocyte chemoattractant protein-1 expression and macrophage infiltration in post-infarction ventricular remodeling [J]. Circ J,2008,72(10): 1685-1692.
 [8] Van Kerckhoven R, Kalkman EA, Saxena PR, et al. Altered cardiac collagen and associated changes in diastolic function of infarcted rat hearts[J].Cardiovasc Res,2000,46(2):316-323.
 [9] Xu X, Wan W, Ji L, et al. Exercise training combined with angiotensin II receptor blockade limits post-infarct ventricular remodelling in rats[J]. Cardiovasc Res,2008,78 (3):523-532.
 [10] Pereira MG, Ferreira JC, Bueno CR Jr, et al. Exercise training reduces cardiac angiotensin II levels and prevents cardiac dysfunction in a genetic model of sympathetic hyperactivity-induced heart failure in mice [J]. Eur J Appl Physiol,2009,105(6):843-850.
 [11] de Waard MC, Duncker DJ. Prior exercise improves survival, infarct healing, and left ventricular function after myocardial infarction[J]. J Appl Physiol, 2009,107(3):928-936.
 [12] de Waard MC, van der Velden J, Bito V,et al. Early Exercise Training Normalizes Myofilament Function and Attenuates Left Ventricular Pump Dysfunction in Mice With a Large Myocardial Infarction[J]. Circ Res,2007, 100(7):1079-1088.
 [13] Kubo N, Ohmura N, Nakada I,et al. Exercise at ventilatory threshold aggravates left ventricular remodeling in patients with extensive anterior acute myocardial infarction [J]. Am Heart J,2004;147(1):113-120.
 [14] Dobaczewski M, Gonzalez-Quesada C, Frangogiannis NG. The extracellular matrix as a modulator of the inflammatory and reparative response following myocardial infarction [J]. J Mol Cell Cardiol,2009,in press.
 [15] Trueblood NA, Xie Z, Communal C, et al. Exaggerated Left Ventricular Dilation and Reduced Collagen Deposition After Myocardial Infarction in Mice Lacking Osteopontin[J].Circ Res, 2001,88(10):1080-1087.
 [16] Krishnamurthy P, Peterson JT, Subramanian V,et al. Inhibition of matrix metalloproteinases improves left ventricular function in mice lacking osteopontin after myocardial infarction[J].Mol Cell Biochem,2009,322 (1-2):53-62.
 [17] Singh M, Foster CR, Dalal S, et al. Osteopontin: Role in extracellular matrix deposition and myocardial remodeling post-MI[J]. J Mol Cell Cardiol,2009; in press
 [18] Okamoto H. Osteopontin and cardiovascular system[J].Mol Cell Biochem,2007,300(1-2):1-7.
 [19] Nemir M, Bhattacharyya D, Li X, et al. Targeted inhibition of osteopontin expression in the mammary gland causes abnormal morphogenesis and lactation deficiency [J]. J Biol Chem, 2000,275(2):969-976.
 [20] Brilla CG.Renin-angiotensin-aldosterone system and myocardial fibrosis[J].Cardiovasc Res,2000;47(1):1-3.
 [21] Jin Y, Han HC, Lindsey ML. ACE inhibitors to block MMP-9 activity: New functions for old inhibitors [J]. J Mol Cell Cardiol,2007,43(6) :664-666.