

HDAC9 通过下调 PDE4b 表达参与调控小鼠心肌肥厚

曹腾飞¹ 孙中新² 张俊¹

(1. 成都市第一人民医院心内科, 四川 成都 610016; 2. 成都市第三人民医院, 四川 成都 610012)

【摘要】 目的 探讨心肌肥厚性重构可能分子机制。方法 选取 8 周龄清洁级雄性 C57 小鼠 18 只, 随机分为升主动脉缩窄术(TAC)组和对照组(SHAM 组), 每组 9 只。TAC 组给予升主动脉缩窄术(TAC 术)构建心肌肥厚模型。SHAM 组给予假手术。术后 4 周, 利用二氧化碳窒息处死实验小鼠, 剖开胸腔后分离心脏组织, 用于后续实验。H&E 染色观察心脏组织结构; 心室/体质量指数评估心室重构情况; 荧光测定法测定心脏组织中组蛋白去乙酰化酶(HDACs)活性; qPCR 检测 MYH7、PDE4b、HDAC4、HDAC5 及 HDAC9 的表达水平, Western blot 检测 PDE4b 及 HDAC9 蛋白表达水平, ChIP-qPCR 检测 HDAC9 与 PDE4b 启动子结合水平。结果 与 SHAM 组相比, TAC 组小鼠室间隔及左室壁明显增厚, 心室/体质量指数明显升高(4.48±0.18 vs 5.50±0.23)($P<0.05$), 心肌肥厚标志物 MYH7 表达明显升高(0.91±0.04 vs 1.44±0.07)($P<0.05$); PDE4b 表达明显降低(mRNA 水平 0.75±0.09 vs 0.27±0.06; 蛋白水平 0.67±0.11 vs 0.34±0.05)($P<0.05$); 肥厚心肌组织中组蛋白去乙酰化酶活性显著增加(3.24±0.32 vs 5.03±0.58)($P<0.05$), HDAC9 表达显著升高(mRNA 水平 0.85±0.08 vs 1.35±0.07; 蛋白水平 0.77±0.10 vs 1.25±0.05)($P<0.05$), 而 HDAC4、HDAC5 表达与 SHAM 组无明显差异($P>0.05$); HDAC9 与 PDE4b 启动子结合水平明显升高(1.67±0.10 vs 2.47±0.20)($P<0.05$)。结论 心肌肥厚中 HDAC9 可能参与下调 PDE4b 表达, 进而参与心室肌肥厚性重构。

【关键词】 心室肌重构; 心肌肥厚; 组蛋白去乙酰化酶 9; 磷酸二酯酶 4b

【中图分类号】 R542.2 **【文献标志码】** A **DOI:**10.3969/j.issn.1672-3511.2022.03.007

HDAC9 down-regulates PDE4b in cardiac hypertrophy remodeling

CAO Tengfei¹, SUN Zhongxin², ZHANG Jun¹

(1. Department of Cardiology, The First Hospital of Chengdu, Chengdu 610016, China;

2. The Third Hospital of Chengdu, Chengdu 610012, China)

【Abstract】 **Objective** To investigate the role of HDAC9 in regulating PDE4b in cardiac hypertrophy. **Methods** 8-week old male c57 mice were treated with TAC surgery, Sham for mice of control group. 6 weeks after TAC and Sham surgery, heart samples were collected. Cardiac general morphology was evaluated by H&E staining, heart weight/body weight ratio was calculated. Immunostaining was used for detecting activity of HDACs. Q-PCR was employed to determine expression levels of BNP, PDE4b, HDAC4, HDAC5 and HDAC9. The protein levels of PDE4b and HDAC9 were detected by Western blot. ChIP-q-PCR was employed to analyze the binding status of HDAC9 with the promoter region of PDE4b. **Results** Heart ventricle and septum were significant hypertrophied. HW/BW was increased 4 weeks after TAC surgery ($P<0.05$). The expression levels of MYH7 and HDAC9 were increased compared with the controls ($P<0.05$). Total HDACs activity was enhanced in failure hearts ($P<0.05$). PDE4b levels reduced in mice of TAC surgery group ($P<0.05$). Binding affinity of HDAC9 with the promoter of PDE4b was reduced significantly ($P<0.05$). **Conclusion** HDAC9 regulating PDE4b low expression may cause cardiac hypertrophy remodeling.

【Key words】 Heart remodeling; Cardiac hypertrophy; HDAC9; PDE4b

通信作者: 张俊, E-mail: chencongxl1@126.com

引用本文: 曹腾飞, 孙中新, 张俊. HDAC9 通过下调 PDE4b 表达参与调控小鼠心肌肥厚[J]. 西部医学, 2022, 34(3): 347-351. DOI: 10.3969/j.issn.1672-3511.2022.03.007

心室肥厚性重构是心力衰竭病理进展中的重要环节之一^[1-2], 诸多信号通路及分子蛋白参与其中。β 肾上腺素能受体通路在心脏生理及病理中均发挥重要作用^[3], 其通过激活第二信使 cAMP 促进 PKA 活

性增加^[4],进而磷酸化其下游底物,直接影响心肌舒缩力^[5]。磷酸二酯酶(Phosphodiesterases, PDEs)能够直接降解 cAMP 而参与心脏功能调控^[6]。现已发现 PDEs 共有 11 个亚型,其广泛参与机体生理功能调控,其中 PED3 和 PDE4 为心脏主要亚型^[7]。PDE4 活性被抑制与心律失常、心肌肥厚均有相关性^[8]。有文献报道 PDE4b 基因敲除可致模型动物出现心律失常、心肌细胞肥厚及心力衰竭^[9]。PDE4b 在心衰心肌细胞中存在低表达情况^[8-9]。然而其在心肌肥厚中的具体调控机制仍不完全清楚。基因启动子区域组蛋白乙酰化影响染色质构象,其是调控基因转录的重要方式^[10-11]。乙酰化修饰由组蛋白乙酰化酶(Histone acetylase, HATs)和组蛋白去乙酰化酶(Histone deacetylase, HDACs)共同参与,动态调控基因转录^[12],HDACs 酶影响靶基因启动子区域组蛋白乙酰化水平,进而抑制基因转录。心脏 HDAC4、5、9 为心脏中最为重要的几种组 HDAC 亚型^[13]。已有心衰研究提示心脏总体 HDACs 表达及活性均有升高^[13],结合 PDE4b 在心衰中表达下调,因此本研究推测 PDE4b 的下调可能由 HDACs 调控介导。本研究以组蛋白乙酰化调控为切入点,探讨其是否通过影响 PDE4b,参与心肌重构(肥厚)的调控,为抗心室重构提供潜在治疗靶点。

1 材料与方法

1.1 实验动物 8 周龄清洁级雄性 C57 小鼠 18 只,体重 25~28 g,购于四川大学华西基础医学院动物中心,SCXK(川)2015-030。本实验小鼠的处理符合动物伦理要求,并经医院伦理委员会审核同意。

1.2 主要试剂 抗 HDAC9 抗体(ChIP 级),工作浓度 1:2 000;抗 PDE4b,工作浓度 1:2 000;抗 β -actin 抗体,工作浓度 1:2 000;ChIP 试剂盒(Abcam 英国);HDAC 酶活性试剂盒(HDAC Activity Fluorometric Assay kit, BioVision);山羊抗兔及山羊抗小鼠带 HRP 标记的 IgG(北京中杉金桥生物技术有限公司);BCA 蛋白测定试剂盒(Pierce 公司);总 RNA 提取试剂盒(北京百泰克生物技术有限公司);反转录试剂盒(TaKaRa 公司);实时定量 PCR 试剂盒(天根生化技术有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 小鼠分组及处理 利用耳标形式将其编号,将编号录入 SPSS 软件中,利用软件将编号随机分为 TAC 组和对照组(SHAM 组),每组 9 只。TAC 组给予主动脉弓缩窄术(Transverse aortic constriction, TAC 术)。予以 4%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉。小鼠取仰卧位。清洁手术区域,经胸骨正中切口,暴露胸腔,分离主动脉弓,6.0 丝线打活结备用,将外径

0.4 mm 的 27-G 的平头针与动脉平行放置,穿入活结内,缝合丝线扎紧后移去针头。关闭胸腔。术中有 2 只小鼠出现死亡。SHAM 组给予假手术,将丝线放置于相同位置,但不做结扎。术后 4 周利用二氧化碳处死小鼠,取心脏组织备用。

1.3.2 检测小鼠心脏/体重指数 术后 4 周利用 METTLER TOLEDO 电子秤进行体重称重,单位以克(g)计;利用二氧化碳窒息处死小鼠后,立刻开胸取心脏组织,PBS 溶液中充分挤压,将心腔内血液排出。剔除心房组织,将心室置于干燥灭菌纱布上,来回滚动至无水印后对心室进行称重,单位以毫克(mg)计。心脏体重指数即为心室重量/体重(mg/g)。

1.3.3 H&E 染色 心脏组织取出后放入 4%多聚甲醛中固定过夜,冲水后利用梯度乙醇进行脱水,石蜡包埋后进行切片,切片厚度 5 μ m。切片后进行 H&E 染色。染色封片后在光学显微镜下进行拍照。H&E 染色详细实验方法参照马恒辉等^[14]文献报道。

1.3.4 实时定量 PCR 按照 RNA 提取试剂盒说明书操作进行 RNA 提取,逆转录得到 cDNA。后进行实时定量 PCR 检测。BNP 的上游引物序列为 5'-ACTCTTGCTAACTG-3',下游引物序列为 5'-CAGTTAGCCAAGAGT-3',产物长度为 116 bp;PDE4b 的上游引物序列为 5'-TAACCTCCCTGGGTAGC-3',下游引物序列为 5'-GCTACCCAGGGAAGGTTA-3',产物长度为 152 bp;HDAC4 的上游引物序列为 5'-TACCGCCTCTCCAAGACA-3',下游引物序列为 5'-TGCTTTGGAGAGGCGGTA-3',产物长度为 139 bp;HDAC5 的上游引物序列为 5'-AATCGTCTGGGTA GATTTCG-3',下游引物序列为 5'-CGAATCTACCCAGACGATT-3',产物长度 144 bp;HDAC9 的上游引物序列为 5'-CCGTAGATTGGCCATTGC-3',下游引物序列为 5'-GCAATGGCCAATCTACGG-3',产物长度 124 bp;选取 β -actin 作为内参基因。所得数据用 Bio-RadCFX96 荧光定量 PCR 仪自带基于 Pfaffl 原理的相对定量数据分析软件分析。

1.3.5 检测 HDAC 酶活性 利用 BioVision 的 HDAC 酶活性检测试剂盒对 HDACs 总体活性进行检测,操作按说明书进行。

1.3.6 Western blot 检测 PDE4b 和 HDAC9 蛋白 小鼠冰浴下迅速取出胎盘组织,放入 PBS 中清洗,尽量除去残留血液,存于液氮中备用。收集胎盘组织后,利用全蛋白提取试剂盒,24 h 内提取全蛋白,BCA 蛋白浓度测定后调整上样量为 40 μ g,点样在 10%的 SDS-聚丙烯酰胺凝胶上进行电泳后电转至 0.22 μ m 的 PVDF 膜上,用封闭液稀释 I 抗(1:500)后 4 $^{\circ}$ C 过夜,洗膜后再孵育 II 抗(1:2000 稀释),室温下孵育 2 h 后

再洗膜后用化学发光成像,将条带输入 Quantity one 软件获得其吸光度,以目的蛋白/ β -actin(吸光度值)来反映蛋白的相对表达量。

1.3.7 染色质免疫共沉淀(Chromatin immunoprecipitation, ChIP)实验 按照 ChIP 试剂盒操作进行染色质免疫共沉淀操作。

1.3.8 ChIP-qPCR 检测 HDAC9 与 PDE4b 启动子结合水平 选取 PDE4b 基因外显子 5'端前 1000 bp 序列,针对该序列设计特异性引物。引物用 Primer Premier 5.0 软件设计,由宝生物公司合成。PDE4b 的上游引物序列为 5'-ATGGTACGACGCTTCACTT CGCA-3',下游引物序列为 5'-TGCGAAGTGAAGC GTCGTACCTA-3',产物大小为 139 bp。所得数据用 Bio-RadCFX96 荧光定量 PCR 仪自带基于 Pfaffl 原理的相对定量数据分析软件分析。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 23.0 统计软件包进行统计学分析。所有数据用均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较应用单因素方差分析。

2 结果

2.1 小鼠心室/体质量比 分别称取小鼠心室重量

及体重后,计算心室/体质量比(mg/g)。TAC 组术后 4 周小鼠心室/体质量比(5.50 ± 0.23)明显高于 SHAM 组(4.48 ± 0.18),两组比较差异具有统计学意义($P<0.01$)。见图 1。

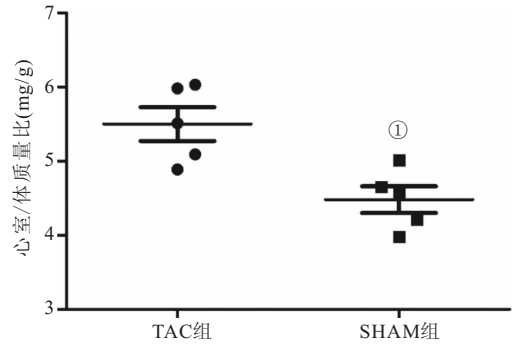


图 1 TAC 组与 SHAM 组小鼠心室/体质量比($n=5$)

Figure 1 HW/BW ratio in TAC and SHAM group

注:与 TAC 组比较,① $P<0.01$

2.2 心脏组织结构 利用 H&E 染色后对比 TAC 术及 SHAM 术后 4 周心脏大体形态。左室后壁、室间隔明显增厚(图 2A、2B)。200 倍视野下,心肌细胞明显肥大,见图 2C、2D。

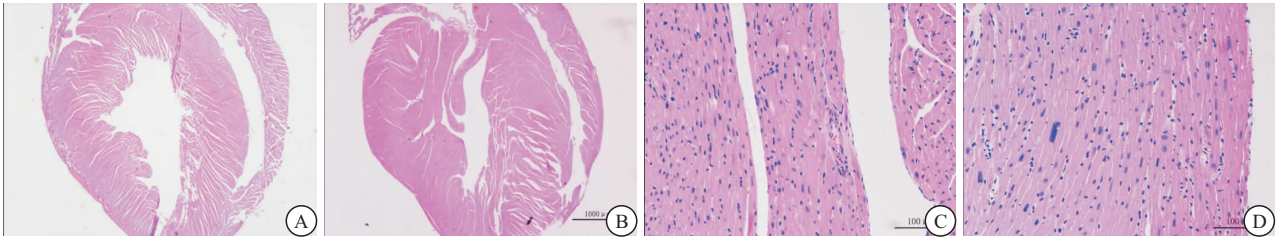


图 2 TAC 及 SHAM 术后小鼠心肌细胞出现肥大

Figure 2 Cardiac hypertrophy after TAC and SHAM

注:A. SHAM 组心脏组织 H&E 染色;B. TAC 组术后心脏组织 H&E 染色;C. 200 \times 光镜下 SHAM 组心肌细胞;D. 200 \times 光镜下 TAC 组心肌细胞。A、B 标尺=1000 μ m;C、D 标尺=100 μ m

2.3 HDACs 酶活性检测 HDACs 酶总活性在 TAC 组(5.03 ± 0.58)中明显高于 SHAM 组(3.24 ± 0.32)($P<0.05$),见图 3。

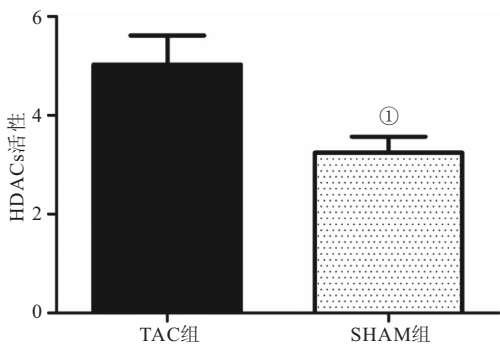


图 3 TAC 及 SHAM 组心脏组织中 HDACs 总体活性($n=5$)

Figure 3 HDACs activities in hearts of TAC and SHAM group

注:与 TAC 组比较,① $P<0.05$

2.4 MYH7、PDE4b、HDAC4、HDAC5 及 HDAC9 mRNA 表达水平 q-PCR 检测显示,与 SHAM 组比较,TAC 组术后 4 周心肌肥厚标志物 MYH7 表达明显升高(0.91 ± 0.04 vs 1.44 ± 0.07)($P<0.05$,图 4A);PDE4b 表达明显下降(0.75 ± 0.09 vs 0.27 ± 0.06)($P<0.01$,图 4B);HDAC9 明显升高(0.85 ± 0.08 vs 1.35 ± 0.07)($P<0.05$,图 4C);HDAC4 (1.29 ± 0.12 vs 1.29 ± 0.17)及 HDAC5(1.92 ± 0.33 vs 2.02 ± 0.36) mRNA 水平两组间差异无统计学意义($P>0.05$),见图 4D、4E。

2.5 HDAC9 和 PDE4b 蛋白表达水平 Western blot 检测显示,与 SHAM 组比较,TAC 组心脏中 HDAC9 蛋白显著升高(0.77 ± 0.10 vs 1.25 ± 0.05)($P<0.05$,图 5A);PDE4b 蛋白明显降低(0.67 ± 0.11 vs TAC 0.34 ± 0.05)($P<0.05$),见图 5B。

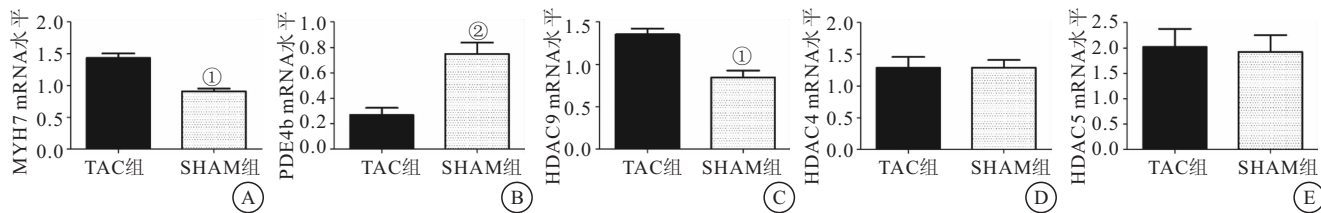


图4 TAC组及SHAM组心脏组织中各基因表达(n=5)

Figure 4 mRNA levels in hearts of TAC and SHAM group

注:A. MYH7 mRNA 表达;B. PDE4b mRNA 表达;C. HDAC9 mRNA 表达;D. HDAC4 mRNA 表达;E. HDAC5 mRNA 表达。与 TAC 组比较, ①P<0.05; ②P<0.01

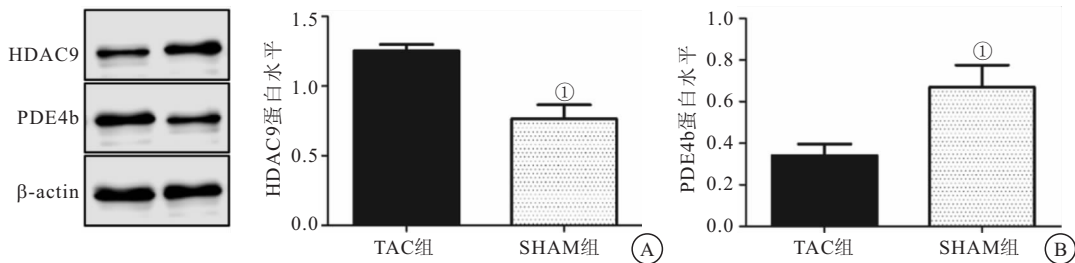


图5 TAC及SHAM组心脏组织中HDAC9及PDE4b蛋白表达量(n=5)

Figure 5 Protein levels of HDAC9 and PDE4b in hearts of TAC and SHAM group

注:A. HDAC9 蛋白表达水平;B. PDE4b 蛋白表达水平。与 TAC 组比较, ①P<0.05

2.6 HDAC9 与 PDE4b 启动子结合水平 与 SHAM 组比较, HDAC9 与 PDE4b 启动子结合区域水平在 TAC 组中显著升高(1.67 ± 0.1 vs 2.47 ± 0.20, P<0.05), 见图 6。

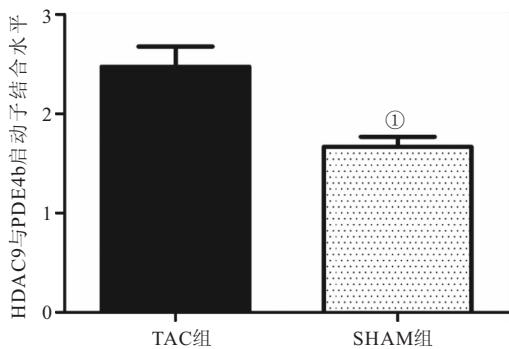


图6 HDAC9 与 PDE4b 启动子结合水平(n=5)

Figure 6 Binding levels of HDAC9 with promoter region of PDE4b

注:与 TAC 组比较, ①P<0.05

3 讨论

心肌肥厚是心室肌重构的重要表现,其涉及众多信号通路紊乱及分子蛋白表达异常^[15],为心力衰竭的重要病理过程之一。其显著特点为心室,尤其是左室后壁及室间隔增厚,心肌细胞肥大。TAC是构建心肌肥厚及心力衰竭模式动物的常用技术方法,本研究结果与经典 TAC 小鼠术后数据相似,术后 4 周心脏出现明显肥厚^[16],心室/体质量指数也出现明显升高,同时心肌肥厚的重要标志物 MYH7 也出现表达上

调^[17],提示模型构建成功。

PDE 在心脏生理及病理中均发挥重要作用,由于其不同亚型的底物有所不同,因此对 PDE 的研究应尽可能细化。西地那非,即为 PDE5 抑制剂,其已经被 FDA 批准用于部分心血管疾病的治疗^[18]。然而 PDE4b 作为心脏中 PDE 的另一个重要亚型,其在病理状态下表达与 PDE5 有着显著区别,有研究发现 PDE4b 在心肌肥厚及心衰小鼠心肌细胞中均出现表达下调^[19],最近研究在心力衰竭的人体心脏组织中也发现了其表达下降^[20]。然而其在心肌肥厚及心衰中低表达的机制尚不清楚。本研究也发现在肥厚的小鼠心肌组织中, PDE4b 表达明显下降。接下来,本研究将切入点放在了组蛋白乙酰化修饰上面。

作为影响基因转录表达重要表观遗传调控手段,组蛋白乙酰化调控已经为学者所熟知^[21]。同时近些年不断有研究发现 HDAC 酶在心肌肥厚、心力衰竭发生、发展中的重要作用^[22-23]。因此,本研究首先检测了 HDACs 酶在肥厚心肌组织中的总体活性,本研究发现 HDACs 酶总体活性明显升高。利用 q-PCR 本研究进一步发现,在肥厚心肌组织中 HDAC9 显著上调。提示其参与心肌肥厚发生。本研究继续利用染色质免疫共沉淀技术,探讨 HDAC9 上调是否参与 PDE4b 表达的下调。数据提示,心肌肥厚中 HDAC9 可直接结合于 PDE4b 启动子区域,进而下调其表达,然而并没有进一步利用荧光素酶报告系统设计细胞

实验,探讨 HDAC9 与 PDE4b 启动子结合的具体区域,以及是否具有特异性,此为研究的局限性之一。

本研究解释了心肌肥厚中 PDE4b 下调的可能分子机制。组蛋白乙酰化修饰是一个可逆的过程,目前 HDAC 抑制剂也是心血管疾病研究的热点之一。因此,本研究结果将为心肌肥厚的干预提供潜在干预靶点。然而在这一病理过程中,是否伴随其他如 PDE4a、PDE4d 等亚型的变化,以及利用 HDAC 酶抑制剂是否能实现以 PDE4b 为靶点的挽救实验,仍值得我们后续关注。

4 结论

在心脏后负荷应激增加诱导的心肌肥厚中,组蛋白去乙酰化酶 HDAC9 可能通过调控 PDE4b 启动子组蛋白乙酰化水平,可能参与调控其转录表达,进而参与心肌肥厚病理进展。

【参考文献】

[1] 石树文,田雯,陈聪,等. HDAC2 调控 MiR199a-3p 对大鼠心衰模型心肌细胞凋亡的影响[J]. 西部医学, 2020, 32(5): 661-665.

[2] 谭琦,周小明,邹瑾. 丹皮酚对心肌纤维化模型大鼠的干预效果及作用机制[J]. 西部医学, 2020, 32(3): 334-338.

[3] DE LUCIA C, EGUCHI A, KOCH W J. New Insights in Cardiac β -Adrenergic Signaling During Heart Failure and Aging[J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9:904.

[4] XU J, HAN Q, SHI H, *et al.* Role of PKA in the process of neonatal cardiomyocyte hypertrophy induced by urotensin II [J]. *Int J Mol Med*, 2017, 40(2):499-504.

[5] BOCKUS L B, HUMPHRIES K M. cAMP-dependent Protein Kinase (PKA) Signaling Is Impaired in the Diabetic Heart[J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(49):29250-29258.

[6] EPSTEIN P M. Different phosphodiesterases (PDEs) regulate distinct phosphoproteomes during cAMP signaling[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114(30):7741-7743.

[7] LEROY J, FISCHMEISTER R. Inhibit a Phosphodiesterase to Treat Heart Failure[J]? *Circulation*, 2018, 138(18):2003-2006.

[8] MOLINA C E, LEROY J, RICHTER W, *et al.* Cyclic adenosine monophosphate phosphodiesterase type 4 protects against atrial arrhythmias[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2012, 59(24):2182-2190.

[9] MIKA D, BOBIN P, LINDNER M, *et al.* Synergic PDE3 and PDE4 control intracellular cAMP and cardiac excitation-contraction coupling in a porcine model[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2019, 133:57-66.

[10] CHEN L F, LIN Y T, GALLEGOS D A, *et al.* Enhancer Histone Acetylation Modulates Transcriptional Bursting Dynamics of Neuronal Activity-Inducible Genes[J]. *Cell Rep*, 2019, 26(5):1174-1188.

[11] BEHERA V, STONESTROM A J, HAMAGAMI N, *et al.* Interrogating Histone Acetylation and BRD4 as Mitotic Bookmarks of Transcription[J]. *Cell Rep*, 2019, 27(2):400-415.

[12] BARNES C E, ENGLISH D M, COWLEY S M. Acetylation & Co: an expanding repertoire of histone acylations regulates chromatin and transcription[J]. *Essays Biochem*, 2019, 63(1):97-107.

[13] BROOKES R L, CRICHTON S, WOLFE C D A, *et al.* Sodium Valproate, a Histone Deacetylase Inhibitor, Is Associated With Reduced Stroke Risk After Previous Ischemic Stroke or Transient Ischemic Attack[J]. *Stroke*, 2018, 49(1):54-61.

[14] 马恒辉,周晓军. HE 染色常见问题与对策[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2008, 24(4):478-481.

[15] SCHÜTTLER D, CLAUSS S, WECKBACH L T, *et al.* Molecular Mechanisms of Cardiac Remodeling and Regeneration in Physical Exercise[J]. *Cells*, 2019, 8(10):1128.

[16] HUANG J, WU J, WANG S, *et al.* Ultrasound biomicroscopy validation of a murine model of cardiac hypertrophic preconditioning: comparison with a hemodynamic assessment[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2017, 313(1):H138-H148.

[17] GIL-ORTUÑO C, SEBASTIÁN-MARCOS P, SABATER-MOLINA M, *et al.* Genetics of feline hypertrophic cardiomyopathy [J]. *Clin Genet*, 2020, 98(3):203-214.

[18] JIA H, GUO Z, YAO Y. PDE5 inhibitor protects the mitochondrial function of hypoxic myocardial cells[J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17(1):199-204.

[19] ABI-GERGES A, RICHTER W, LEFEBVRE F, *et al.* Decreased expression and activity of cAMP phosphodiesterases in cardiac hypertrophy and its impact on beta-adrenergic cAMP signals[J]. *Circ Res*, 2009, 105(8):784-792.

[20] KARAM S, MARGARIA JP, BOURCIER A, *et al.* Cardiac Overexpression of PDE4B Blunts β -Adrenergic Response and Maladaptive Remodeling in Heart Failure [J]. *Circulation*, 2020, 142(2):161-174.

[21] LEI H, HU J, SUN K, *et al.* The role and molecular mechanism of epigenetics in cardiac hypertrophy[J]. *Heart Fail Rev*, 2020, doi: 10.1007/s10741-020-09959-3.

[22] FERNÁNDEZ-RUIZ I. HDACs as a therapeutic target in HF-pEF[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2020, 17(3):132.

[23] 杨永健. 心力衰竭治疗进展述评[J]. *西部医学*, 2016, 28(3): 297-299, 303.

(收稿日期:2021-05-17;修回日期:2021-12-10;编辑:刘灵敏)