

• 论 著 •

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.18.001

网络首发 <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210421.1744.014.html>(2021-04-22)

伊伐布雷定对心肌肥厚大鼠超极化激活环核苷酸门控非选择性阳离子通道和交感神经的影响^{*}

周 瑞,黄 河,刘应才[△]

(西南医科大学附属医院心血管内科,四川泸州 646000)

[摘要] **目的** 探讨伊伐布雷定对心肌肥厚大鼠超极化激活环核苷酸门控非选择性阳离子通道(HCN)和交感神经的影响。**方法** 18 只雄性 SD 大鼠分为假手术组(Sham 组)、模型组和伊伐布雷定组(IVA 组),每组 6 只。模型组和 IVA 组行腹主动脉缩窄术,术后 12 周 IVA 组予以 10 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ 的伊伐布雷定灌胃,Sham 组和模型组予以等体积生理盐水灌胃。17 周后处死大鼠,测定全心质量指数、左心室质量指数,苏木素-伊红(HE)染色评估心肌肥厚水平,免疫组织化学检测心肌 HCN 和酪氨酸羟化酶(TH),Western blot 和 PCR 检测 HCN 蛋白和 mRNA 水平,ELISA 法检测心肌组织去甲肾上腺素(NA)和肾上腺素(EPI)水平。**结果** 与 Sham 组比较,模型组、IVA 组全心质量指数、左心室质量指数增加,差异有统计学意义($P<0.05$)。Sham 组心肌细胞规则紧密;模型组心肌细胞变长,细胞核体积增加,排列稀疏、不规则;IVA 组心肌细胞排列基本整齐。Sham 组心肌细胞少量表达 HCN2、HCN4,模型组 HCN2 和 HCN4 表达水平较 Sham 组明显增加,IVA 组较模型组减少($P<0.05$)。与 Sham 组比较,模型组 TH 分布及 NA、EPI 表达明显增加,而 IVA 组 TH 分布及 NA、EPI 较模型组表达减少($P<0.05$)。**结论** 伊伐布雷定能抑制心肌肥厚大鼠 HCN 及交感神经的表达。

[关键词] 伊伐布雷定;心肌肥厚;腹主动脉缩窄;HCN;去甲肾上腺素;肾上腺素

[中图法分类号] R541.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2021)18-3061-05

Effect of ivabradine on hyperpolarization activated cyclic nucleotide gated nonselective cation channel and sympathetic nerve in rats with myocardial hypertrophy^{*}

ZHOU Rui,HUANG He,LIU Yingcai[△]

(Department of Cardiology,the Affiliated Hospital of Southwest Medical University,Luzhou,Sichuan 646000,China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effects of ivabradine on hyperpolarization activated cyclic nucleotide gated nonselective cation channel (HCN) and sympathetic nerve in ventricular hypertrophy rats after abdominal aortic coarctation. **Methods** Eighteen male Sprague Dawley rats were divided into the sham group, the model group and the ivabradine (IVA) group, with 6 cases in each group. Abdominal aorta constriction was performed in the model group and the IVA group. At 12 weeks after operation, the IVA group was given 10 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ of ivabradine hydrochloride by gavage, while sham group and model group were given equal volume of normal saline Gavage. After 17 weeks, the rats were killed. Whole heart mass index and left ventricular mass index were measured. HE staining was used to evaluate the level of myocardial hypertrophy. Immunohistochemistry was used to detect the distribution of HCN and tyrosine hydroxylase (TH). Western blot and PCR were used to detect the protein and mRNA levels of HCN. Norepinephrine (NA) and epinephrine (EPI) contents in myocardial tissue were detected by ELISA. **Results** Compared with the Sham group, whole heart mass index and left ventricular mass index of the model group and IVA group increased, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The cardiomyocytes of the Sham group were tightly arranged; the cardiomyocytes of the model group became longer, the nucleus volume increased, and the arrangement was sparse and irregular; the cardiomyocytes of the IVA group were arranged basically neatly. The cardiomyocytes of the Sham group expressed a small amount of HCN2 and HCN4. The expression levels of HCN2

^{*} 基金项目:四川省泸州市科技计划项目(2016LZXNYD-J02)。 作者简介:周瑞(1994—),在读硕士研究生,主要从事心血管疾病研究。

[△] 通信作者,E-mail:13882735770@163.com。

and HCN4 in the model group were significantly higher than those in the Sham group, while the IVA group was relatively lower than that in the model group ($P < 0.05$). Compared with the Sham group, TH distribution and NA, EPI expression in the model group significantly increased, while TH distribution and NA, EPI expression in the IVA group was lower than that in the model group ($P < 0.05$). **Conclusion** Ivabradine can inhibit the expression of HCN and sympathetic nerve in rats with myocardial hypertrophy.

[Key words] ivabradine; myocardial hypertrophy; coarctation of abdominal aorta; HCN; norepinephrine; epinephrine

超极化激活环核苷酸门控非选择性阳离子通道(hyperpolarization activated cyclic nucleotide gated channel, HCN)是编码起搏电流的通道基因,其中包括 HCN1~4 共 4 种亚型。目前哺乳动物心脏上 4 种亚型均有被检测到,其分布具有物种依赖的区域特异性,在正常大鼠心室肌中少量表达 HCN2、HCN4^[1-2]。一些基础实验表明,HCN 表达的变化与心脏疾病的发生有关,例如 HCN2-Tg 小鼠的 HCN2 心脏过表达加重了低钾血症的促心律失常事件^[3],HCN4 变异与房颤有关^[4],HCN 的变异还可导致心肌疾病的发生等^[5-6]。心肌肥厚是各种心血管疾病的代偿结果,常常发生室性心律失常,增加心源性猝死风险,从病理角度上,心室肥厚、心肌纤维化与心律失常发生有关^[7]。在分子生物学上,相关研究显示,心肌肥厚时心室肌 HCN2、HCN4 的表达上调,因此,本课题组猜测 HCN 表达上调延迟了心室动作电位的复极时间,即 QT 间期延长导致心室肌兴奋性增强,从而产生心律失常^[8-9]。伊伐布雷定是心脏窦房结起搏电流通道的选择性抑制剂和特异性阻滞剂,与 β 受体阻滞剂比较,伊伐布雷定的耐受性更好,不会影响心脏的传导、收缩和复极作用,所以也不会对血压造成明显影响,另外,伊伐布雷定在降低心率的同时并不影响交感神经对心率的控制^[10-11]。目前,对心肌肥厚时心肌细胞 HCN 的变化及伊伐布雷定对交感神经的影响的数据尚不足,故本研究通过构建大鼠心肌肥厚模型,旨在探讨伊伐布雷定对心肌肥厚大鼠 HCN 及交感神经的影响,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

(1)实验动物:雄性 SD 大鼠 18 只,无特殊病原体(SPF)级,体重 250~300 g,购自西南医科大学动物实验中心。(2)试剂:盐酸伊伐布雷定(上海阿拉丁生化科技股份有限公司),戊巴比妥钠(德国 Sigma 公司),注射用青霉素钠(山东鲁抗医药股份有限公司),ELISA 试剂盒(上海侨杜生物有限公司),荧光定量 PCR 反应试剂盒(武汉科鹿生物科技有限责任公司)。(3)仪器:病理切片机(上海徕卡仪器有限公司),酶标仪(印度 Diatek 公司),荧光定量 PCR 仪(美国 Life technologies 公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物模型建立

将 18 只雄性 SD 大鼠分为假手术组(Sham 组)、模型组和伊伐布雷定组(IVA 组),每组各 6 只。模型组和 IVA 组术前常规禁食、禁饮 12 h。将 3%戊巴比妥钠在大鼠下腹部行腹腔注射(0.15 mL/100 g),固定头部和四肢。在剑突下 1~2 cm 处大小 2 cm×3 cm~2 cm×4 cm 的区域进行剃毛、聚维酮碘消毒。沿腹白线剪开腹部,暴露腹腔,将小肠轻柔移到腹腔右侧,充分暴露出左肾静脉和下腔静脉,沿左肾静脉和下腔静脉交叉点上方分离腹主动脉。结扎位置选在双肾动脉分叉处以上约 0.5 cm 处,在此位置平行放置钝化的 8 号针头,两者用 4 号手术线扎紧,缓慢退出针头,剪去线头,关闭腹腔,最后再次消毒皮肤。将青霉素用生理盐水配好后,按照剂量为 5×10^4 U/只向大鼠腹腔注射,疗程 3 d 以避免感染。同时提高环境温度,术后 24 h 只饮水,第 2 天开始正常饮食。Sham 组只挂线标记不结扎,其余操作同另外两组。

1.2.2 药物干预

术后 12 周,IVA 组予以盐酸伊伐布雷定($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)灌胃,该剂量参照目前相关研究^[12],其余两组予以等体积生理盐水灌胃,共 5 周。

1.2.3 心肌质量指数

实验第 17 周末,所有大鼠处死前称量体重(body weight, BW),麻醉后迅速打开胸腔,抽取左心室血液约 3 mL,室温静置 30 min,3 000 r/min 离心 15 min,将血清标本移入 1.5 mL EP 管中,放入-80℃冰箱保存备用。将心脏分离后立即置入冰磷酸盐缓冲液(PBS)漂洗,轻轻挤压排出腔内残留血液,然后将非心肌组织剪除,用滤纸吸干后称重即得全心质量(heart weight, HW)。剪取室间隔和左心室游离壁,用滤纸吸干后,称重即得左心室质量(left ventricular weight, LVW)。最后计算全心质量指数=HW/BW,左心室质量指数=LVW/BW。

1.2.4 苏木素-伊红(HE)染色

3 组大鼠心肌质量指数测定完毕后,剪取心尖部向上约 0.5 cm 处左心室心肌组织,固定于 4%多聚甲醛,经脱水、包埋、切片、HE 染色后在显微镜下观察心肌组织病理变化。

1.2.5 免疫组织化学法测 HCN2 和 HCN4 分布情况

取大鼠室间隔心肌组织经石蜡包埋切片后,用免疫组织化学染色检测 HCN2 和 HCN4 的表达分布。

1.2.6 Western blot 检测 HCN2 和 HCN4 蛋白表达水平

取大鼠室间隔心肌组织,用预冷的 PBS 漂洗 2~3 次,匀浆,离心后取上清液,使用 BCA 蛋白质浓度测定试剂盒测定样品蛋白浓度。配制分离胶、浓缩胶,上样后转至聚偏氟乙烯(PVDF)膜并加入封闭液室温封闭 1 h。除去封闭液,加入稀释好的一抗 4 ℃ 过夜,回收一抗,用 TBST 洗 3 次,每次 5 min。加入稀释好的二抗,室温孵育 30 min,用 TBST 在室温下摇床上洗 4 次,每次 5 min。滴加新鲜配制的电化学发光(ECL)混合溶液(A : B=1 : 1)到膜的蛋白面侧,暗室中曝光。用 AlphaEaseFC 软件处理系统分析目标带的吸光度值。

1.2.7 实时荧光定量 PCR 法检测 HCN2 和 HCN4 mRNA 表达

取大鼠左心室室间隔组织约 20 mg,用 TRIpure 提取总 RNA。采用 EntiLink™ 1st Strand cDNA Synthesis 试剂盒合成第一链 cDNA,反应条件 37 ℃ 60 min,85 ℃ 5 min。在 Life technologies 公司的 StepOne™ Real-Time PCR 仪上完成实时荧光定量 PCR,每个样品均作 3 个复孔,使用 EnTurbo™ SYBR Green PCR SuperMix 试剂盒进行(ELK Biotechnology,EQ001),反应条件为 95 ℃ 预变性 3 min,94 ℃ 变性 10 s,退火 30 s,72 ℃ 延伸 30 s,40 个循环。

1.2.8 免疫组织化学法检测交感神经的分布

酪氨酸羟化酶(tyrosine hydroxylase,TH)在交感神经纤维中呈阳性,故本实验通过免疫组织化学法检测 TH 的表达来分析检测心室肌中交感神经的分布。取大鼠左心室游离壁组织固定于 4%多聚甲醛,石蜡包埋,切片,脱蜡,用 PBS 洗 3 次。切片置于乙二胺四乙酸(EDTA)缓冲液中微波修复,PBS 清洗 3 次,置于 3%过氧化氢溶液中,室温下避光孵育 10 min。PBS 洗 3 次,甩干后 5% BSA 封闭 20 min。去除 BSA 液,每张切片加入约 50 μL 稀释的一抗,4 ℃ 过夜。PBS 洗 3 次,去除 PBS,每张切片加 50~100 μL 相应种属的二抗,37 ℃ 孵育 50 min。PBS 洗 3 次,去除 PBS,每张切片加 50~100 μL 新鲜配制 DAB

溶液,显色完全后,蒸馏水或自来水冲洗,苏木素复染,1%盐酸乙醇分化(约 1 s),自来水冲洗,氨水返蓝,流水冲洗。切片经过由低到高浓度梯度的乙醇,各 10 min,脱水干燥,二甲苯透明,中性树胶封固。镜检。

1.2.9 ELISA 检测心肌组织去甲肾上腺素(noradrenalin,NA)和肾上腺素(epinephrine,EPI)水平

实验前将实验标本从冰箱取出,室温溶解;提前 30 min 从冰箱中取出 ELISA 试剂盒,平衡至室温。按照 ELISA 试剂盒说明书操作步骤分别检测心肌组织 NA 和 EPI 水平。

1.3 统计学处理

采用 SPSS17.0 软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组内两两比较采用 LSD-*t* 检验,多组间比较采用方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组心肌质量指数比较

与 Sham 组比较,模型组、IVA 组全心质量指数、左心室质量指数增加,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

表 1 各组心肌质量指数比较($n=6,\bar{x} \pm s,\text{mg/g}$)		
分组	全心质量指数	左心室质量指数
Sham 组	0.26 ± 0.02	0.19 ± 0.02
模型组	0.30 ± 0.03^a	0.22 ± 0.04^a
IVA 组	0.32 ± 0.02^a	0.22 ± 0.02^a

^a: $P < 0.05$,与 Sham 组比较。

2.2 各组心肌 HE 染色情况

Sham 组心肌细胞规则紧密;模型组心肌细胞变长,细胞核体积增加,排列稀疏、不规则;IVA 组心肌细胞排列基本整齐,见图 1。

2.3 各组 HCN2、HCN4 蛋白及 mRNA 表达情况

Sham 组心肌细胞少量表达 HCN2、HCN4;与 Sham 组比较,模型组 HCN2 和 HCN4 表达明显增加($P < 0.05$);与模型组比较,IVA 组 HCN2 和 HCN4 表达减少($P < 0.05$),见图 2~4、表 2。

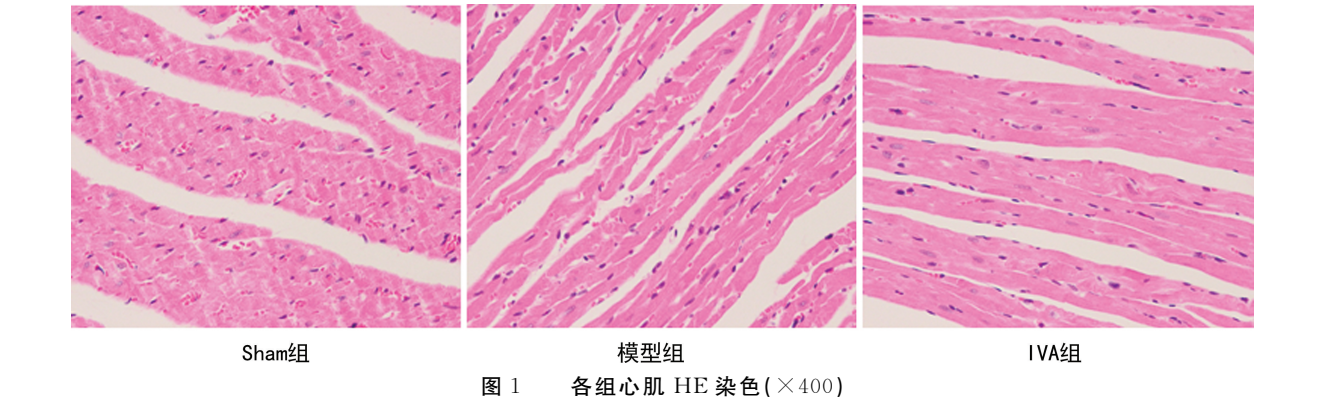


图 1 各组心肌 HE 染色($\times 400$)

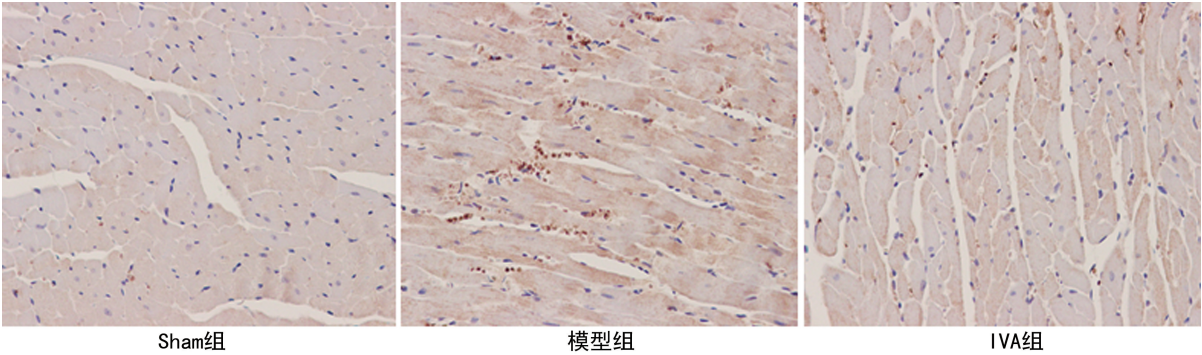


图 2 HCN2 的免疫组织化学染色(×400)

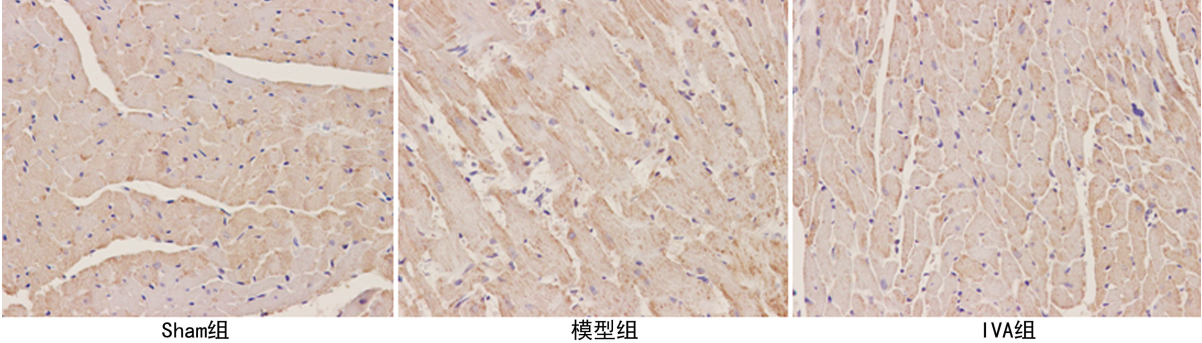


图 3 HCN4 的免疫组织化学染色(×400)

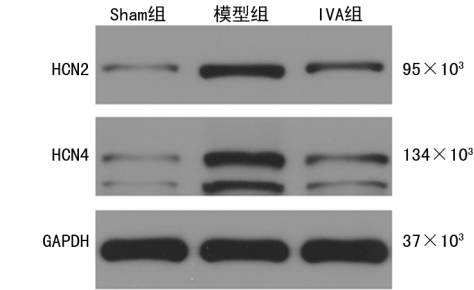


图 4 Western blot 检测 HCN2、HCN4 蛋白的表达情况

2.4 各组 TH 分布及 NA、EPI 表达情况

与 Sham 组比较,模型组 TH 分布及 NA、EPI 表达明显增加($P<0.05$);与模型组比较,IVA 组 TH 分布及 NA、EPI 表达减少($P<0.05$),见图 5、表 3。

表 2 各组 HCN2、HCN4 蛋白和 mRNA 的相对表达水平($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	蛋白		mRNA	
	HCN2	HCN4	HCN2	HCN4
Sham 组	0.17±0.08	0.13±0.04	1.13±0.22	0.09±0.33
模型组	0.60±0.07 ^a	0.65±0.06 ^a	4.45±0.60 ^a	4.46±0.60 ^a
IVA 组	0.37±0.03 ^b	0.32±0.07 ^b	2.48±0.19 ^b	2.50±0.31 ^b

^a: $P<0.05$,与 Sham 组比较;^b: $P<0.05$,与模型组比较。

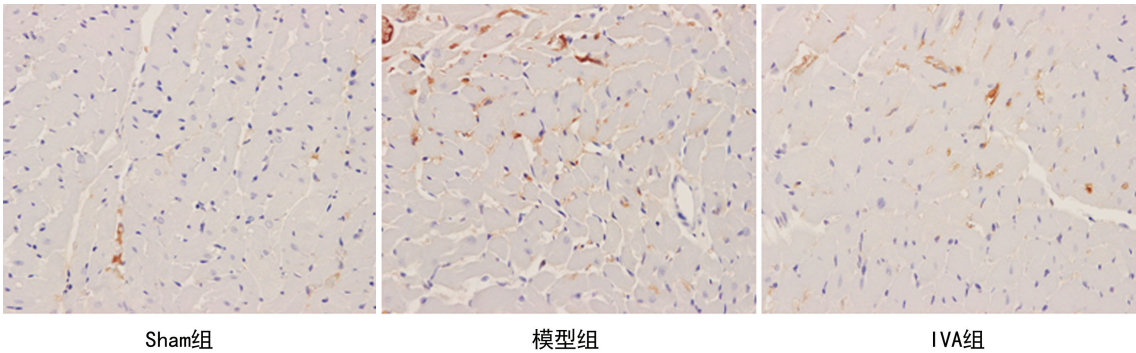


图 5 TH 的免疫组织化学染色(×400)

表 3 各组 NA 和 EPI 的表达水平比较($n=6, \bar{x} \pm s, \text{ng/mL}$)

组别	蛋白		mRNA	
	NA	EPI	NA	EPI
Sham 组	4.17±1.09	1.30±0.39	16.98±3.44	7.69±1.05
模型组	12.55±2.29 ^a	5.42±0.66 ^a	37.02±5.75 ^a	13.80±1.67 ^a
IVA 组	4.93±1.71 ^b	2.62±0.61 ^b	23.75±5.72 ^b	9.58±1.99 ^b

^a: $P<0.05$,与 Sham 组比较;^b: $P<0.05$,与模型组比较。

3 讨 论

正常情况下,HCN 在心脏起搏和传导系统外表达很弱,与起搏组织比较,小鼠心室心肌中总 HCN 转录物的数量要低几倍,但这种心室低表达的通道在心脏疾病期间会发生改变,例如心肌肥厚大鼠心肌细胞的电流密度和发生率增加,且这种增加与心肌肥厚的

严重程度直接相关,因此,非起搏组织中“起搏电流”的上调可能改变心室肌的电稳定性,最终可能增加危及生命的心律失常的风险^[8]。心肌肥厚是各种心脏疾病的病理改变,早期具有代偿意义,后期出现失代偿进而发展为心力衰竭,在此过程中常伴有交感神经的激活,并进一步促进心室重构及心律失常的发生。伊伐布雷定是 HCN 的特异性抑制剂,目前临床上只将伊伐布雷定用于慢性心力衰竭、冠心病稳定型心绞痛和一些快速性心律失常的心率控制中^[13-14],对其降低心率以外的心脏保护作用仍在研究中。

本研究通过缩窄大鼠腹主动脉方法成功构建心肌肥厚模型,通过 Western blot、实时荧光定量 PCR 和 ELISA 技术检测伊伐布雷定对心肌肥厚大鼠心室肌 HCN 及交感神经的影响,证明了大鼠心肌肥厚时,心室肌细胞 HCN2 和 HCN4 表达上调,TH 的分布增加、心肌组织的 NA 和 EPI 水平也增加,予以伊伐布雷定干预后,HCN2 和 HCN4 表达明显下调,TH 的分布减少、心肌组织的 NA 和 EPI 水平减少,说明伊伐布雷定可以抑制心肌肥厚大鼠心室肌 HCN 及交感神经的表达。由于伊伐布雷定作用时间较短,并未改善心肌肥厚,但其减少 NA、EPI 的表达可能会抑制交感神经对心脏的直接毒性作用。另外,心肌肥厚时 HCN 表达增加,且在交感活动增强时进一步促进心肌细胞舒张期自动除极,加重引起室性心律失常的发生,故减少 HCN 及交感神经的表达,有望降低心律失常发生率。区别于 β 受体阻滞剂对交感神经的作用机制,伊伐布雷定对交感神经的影响可能与其多效性有关,相关研究证明,伊伐布雷定可以减少缺血再灌注损伤时线粒体活性氧的产生,增加三磷酸腺苷的合成,从而减少心肌梗死面积,与比索洛尔比较更能改善冠状动脉血流储备,且还能抑制炎症反应,改善 ApoE 基因敲除小鼠的内皮功能,减少心肌纤维化,起到保护血管、抗动脉粥样硬化、抗纤维化作用^[15-16]。伊伐布雷定还有积极的正性肌力作用^[17],可改善缺血再灌注模型猪的心脏功能^[18]。而这与伊伐布雷定降低心率作用无相关性。

伊伐布雷定可以抑制心肌肥厚大鼠 HCN 蛋白、mRNA 水平和交感神经的表达,这为伊伐布雷定应用于临床心律失常及改善预后提供了理论依据,但伊伐布雷定作用于交感神经的直接作用仍不清楚,还需进一步研究。

参考文献

- [1] 田荣成,刘子由. HCN 通道的研究进展[J]. 赣南医学院学报,2018,38(11):1150-1155.
- [2] RIVOLTA I,BINDA A,MAZI A,et al. Cardiac and neuronal HCN channelopathies[J]. Pflugers Arch,2020,472(7):931-951.
- [3] OSHITA K,KOZASA Y,NAKAGAWA Y,et al. Overexpression of the HCN2 channel increases the arrhythmogenicity induced by hypokalemia[J]. J Physiol Sci,2019,69(4):653-660.
- [4] WEIGL I,GESCHWILLI P,REISS M,et al. The C-terminal HCN4 variant P883R alters channel properties and acts as genetic modifier of atrial fibrillation and structural heart disease[J]. Biochem Biophys Res Commun,2019,519(1):141-147.
- [5] KAYVANPOUR E,SEDAGHAT-HAMEDANI F,GI W T,et al. Clinical and genetic insights into non-compaction:a meta-analysis and systematic review on 7598 individuals[J]. Clin Res Cardiol,2019,108(11):1297-1308.
- [6] RICHARD P,ADER F,ROUX M,et al. Targeted panel sequencing in adult patients with left ventricular non-compaction reveals a large genetic heterogeneity[J]. Clin Genet,2019,95(3):356-367.
- [7] VARVAROUSIS D,KALLISTRATOS M,POULIMENOS L,et al. Cardiac arrhythmias in arterial hypertension[J]. J Clin Hypertens (Greenwich),2020,22(8):1371-1378.
- [8] HERRMANN S,HOFMANN F,STIEBER J,et al. HCN channels in the heart:lessons from mouse mutants[J]. Br J Pharmacol,2012,166(2):501-509.
- [9] HERRMANN S,SCHNORR S,LUDWIG A. HCN channels-modulators of cardiac and neuronal excitability[J]. Int J Mol Sci,2015,16(1):1429-1447.
- [10] 鲁端. 心脏 If 离子通道与伊伐布雷定的新认识[J]. 心电与循环,2018,37(5):303-309.
- [11] KAWADA T,SHIMIZU S,UEMURA K,et al. Ivabradine preserves dynamic sympathetic control of heart rate despite inducing significant bradycardia in rats[J]. J Physiol Sci,2019,69(2):211-222.
- [12] KAKEHI K,IWANAGA Y,WATANABE H,et al. Modulation of sympathetic activity and innervation with chronic ivabradine and β -blocker therapies:analysis of hypertensive rats with heart failure[J]. J Cardiovasc Pharmacol Ther,2019,24(4):387-396. (下转第 3072 页)

- [12] ZHAO M H, LI C, SHEN F J, et al. Naringenin ameliorates LPS-induced acute lung injury through its anti-oxidative and anti-inflammatory activity and by inhibition of the PI3K/AKT pathway[J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(3): 2228-2234.
- [13] ZHANG Y, LIU B, CHEN X, et al. Naringenin ameliorates behavioral dysfunction and neurological deficits in a d-galactose-induced aging mouse model through activation of PI3K/Akt/Nrf2 pathway[J]. *Rejuvenation Res*, 2017, 20(6): 462-472.
- [14] KOUNDOUROS N, POULOGIANNIS G. Phosphoinositide 3-kinase/Akt signaling and redox metabolism in cancer[J]. *Front Oncol*, 2018, 8: 160.
- [15] ALCARAZ M J, FERRÁNDIZ M L. Relevance of Nrf2 and heme oxygenase-1 in articular diseases [J]. *Free Radic Biol Med*, 2020, 157: 83-93.
- [16] XIAO Q F, PIAO R L, WANG H Y, et al. Orientin-mediated Nrf2/HO-1 signal alleviates H₂O₂-induced oxidative damage via induction of JNK and PI3K/AKT activation[J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 118: 747-755.
- [17] YANG P, ZHOU Y P, XIA Q, et al. Astragaloside IV regulates the PI3K/Akt/HO-1 signaling pathway and inhibits H9c2 cardiomyocyte injury induced by hypoxia-reoxygenation[J]. *Biol Pharm Bull*, 2019, 42(5): 721-727.
- [18] SONG Y X, WANG X F, FAN Z X, et al. Hyperbaric oxygen preconditioning attenuates myocardium ischemia-reperfusion injury through upregulation of heme oxygenase1 expression: PI3K/Akt/Nrf2 pathway involved[J]. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2015, 20(4): 428-438.
- [19] CADENAS S. ROS and redox signaling in myocardial ischemia-reperfusion injury and cardioprotection[J]. *Free Radic Biol Med*, 2018, 117: 76-89.
- [20] LI B, NASSER M I, MASOOD M, et al. Efficiency of traditional Chinese medicine targeting the Nrf2/HO-1 signaling pathway[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 126: 110074.
- [21] EL-MIHI K A, KENAWY H I, EL-KAREF A, et al. Naringin attenuates thioacetamide-induced liverfibrosis in rats through modulation of the PI3K/Akt pathway[J]. *Life Sci*, 2017, 187: 50-57.
- [22] HE J, ZHOU D, YAN B. Eriocitrin alleviates oxidative stress and inflammatory response in cerebral ischemia reperfusion rats by regulating phosphorylation levels of Nrf2/NQO-1/HO-1/NF- κ B p65 proteins [J]. *Ann Transl Med*, 2020, 8(12): 757.

(收稿日期: 2020-12-18 修回日期: 2021-05-11)

(上接第 3065 页)

- [13] 李景东, 甘婷. I_f 电流抑制剂伊伐布雷定在心血管疾病中的临床应用进展[J]. *临床心血管病杂志*, 2020, 36(3): 212-214.
- [14] 伊伐布雷定临床应用中国专家共识[J]. *中华心力衰竭和心肌病杂志*, 2020, 4(2): 84-91.
- [15] SIMKO F, BAKA T. Ivabradine and blood pressure reduction: underlying pleiotropic mechanisms and clinical implications [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2021, 8: 607998.
- [16] DALLAPELLEGRINA L, SCIATTI E, VIZZARDI E. Ivabradine and endothelium: an update[J]. *Ther Adv Cardiovasc Dis*, 2020, 14: 1753944720934937.
- [17] XIE M, HUANG H L, ZHANG W H, et al. Increased sarcoplasmic/endoplasmic reticulum calcium ATPase 2a activity underlies the mechanism of the positive inotropic effect of ivabradine[J]. *Exp Physiol*, 2020, 105(3): 477-488.
- [18] RAMIREZ-CARRACEDO R, TESORO L, HERNANDEZ I, et al. Ivabradine-stimulated microvesicle release induces cardiac protection against acute myocardial infarction[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(18): 6566.

(收稿日期: 2020-12-28 修回日期: 2021-05-08)