

· 基础研究 ·

缬沙坦对心力衰竭家兔肌质网钙 ATP 酶表达及功能的影响

曲辅政^{1*}, 孙书勤¹, 姜泽强¹, 史孟松¹, 孙艺英¹, 王 平¹, 周红霞¹, 王绍华¹,
丛琳强¹, 刘志华², 蒋 彬², 邹 操², 蒋文平²

(¹烟台市牟平人民医院/滨州医学院烟台附属医院心内科, 烟台 264100; ²苏州大学附属第一医院心内科, 苏州 215006)

【摘要】目的 探讨家兔慢性心力衰竭时心肌肌质网钙 ATP 酶 (SERCA2) 表达和功能的改变及血管紧张素 受体拮抗剂缬沙坦长期干预的意义。**方法** 27 只家兔随机分为 3 组, 假手术组、心力衰竭组和缬沙坦组各 9 只。通过超容量负荷联合压力负荷建立家兔心力衰竭模型, 术后 7 周观察左心室结构、血流动力学的变化及 SERCA2 的表达和功能的改变。**结果** 与假手术组比较, 心力衰竭组左心室质量指数[(1.32±0.06) vs (3.61±0.09) g/kg]、左心室舒张末压[(-0.50±1.05) vs (23.00±2.37) mmHg]显著升高 ($P<0.05$), 左心室短轴缩短率[(37.83±3.58)% vs (17.38±3.13)%]及左室射血分数[(72±5)% vs (38±6)%]明显降低 ($P<0.05$); 与心力衰竭组比较, 缬沙坦组左心室质量指数和左心室舒张末压显著降低[(2.07±0.14) g/kg; (2.17±0.72) mmHg; $P<0.05$]; 左心室短轴缩短率及左室射血分数明显升高[(33.8±2.9)%; (65±4)%; $P<0.05$]。心力衰竭组 SERCA2 的表达[(0.69±0.04) vs (1.02±0.02)]和功能[(54.4±7.9)% vs (95.5±2.1)%]显著低于假手术组 ($P<0.05$)。缬沙坦组 SERCA2 的表达和功能显著高于心力衰竭组[(0.91±0.02); (81.7±4.9)%; $P<0.05$]。**结论** 缬沙坦长期干预, 能够改善心力衰竭心脏舒缩功能, 可能与增加 SERCA2 的表达和提高其功能有关。

【关键词】 缬沙坦; 心力衰竭; 充血性; 肌质网; 钙转运 ATP 酶类

【中图分类号】 R541.6

【文献标识码】 A

【文章编号】 10.3724/SP.J.1264.2011.00016

Effects of valsartan on sarcoplasmic reticulum calcium adenodine triphosphatase expression and function in a rabbit model of heart failure

QU Fuzheng^{1*}, SUN Shuqin¹, JIANG Zeqiang¹, SHI Mengsong¹, SUN Yiyi¹, WANG Ping¹, ZHOU Houxia¹,
WANG Shaohua¹, CONG Linqiang¹, LIU Zhihua², JIANG Bin², ZOU Cao², JIANG Wenping²

(¹Department of Cardiology, MuPing People's Hospital in Yantai City/Yantai Affiliated Hospital of Binzhou Medical University, Yantai 264100, China; ²Department of Cardiology, First Hospital, Suzhou University, Suzhou 215006, China)

【Abstract】Objective To investigate the effects of valsartan on sarcoplasmic reticulum calcium adenodine triphosphatase expression and function in a rabbit model of heart failure. **Methods** Twenty-seven rabbits were divided into sham-operated, heart failure and valsartan groups, with 9 in each group. The rabbit model of heart failure was prepared by volume overload plus pressure overload. After 7 weeks, left ventricular function, hemodynamic parameters, and expression and function of SERCA2 were observed. **Results** Compared with sham-operated rabbits, left ventricular mass index (LVMI) and left ventricular end diastolic pressure (LVEDP) were significantly increased in heart failure rabbits [(1.32±0.06) vs (3.61±0.09) g/kg and (-0.50±1.05) vs (23.00±2.37) mmHg respectively, $P<0.05$], but the left ventricular shortening fraction and left ventricular ejection fraction (LVEF) were significantly decreased in heart failure rabbits [(37.83±3.58)% vs (17.38±3.13)%; (72±5)% vs (38±6)%; $P<0.05$]. Compared with heart failure rabbits, LVMI and LVEDP were significantly decreased in valsartan rabbits [(2.07±0.14) g/kg and (2.17±0.72) mmHg respectively, $P<0.05$], but their left ventricular shortening fraction and LVEF were increased [(33.8±2.9)% and (65±4)% respectively, $P<0.05$]. Expression and function of SERCA2 were remarkably lower in heart failure rabbits than in sham-operated rabbits [(0.69±0.04) vs (1.02±0.02) and (54.4±7.9)% vs (95.5±2.1)% respectively, $P<0.05$], while compared with heart failure rabbits, they were significantly higher in valsartan rabbits [(0.91±0.02) and (81.7±4.9)% respectively, $P<0.05$]. **Conclusion** Valsartan can improve cardiac function, probably owing to its roles in upregulating expression and function of SERCA2 in the prevention of heart failure.

【Key words】 valsartan; heart failure, congestive; sarcoplasmic reticulum; Ca(2+)-transporting ATPase

心力衰竭是临床常见的危重症之一,严重威胁患者的生命。血管紧张素受体拮抗剂(angiotensin receptor blocker, ARB)可选择性作用于AT₁受体,逆转心室和血管壁的重构,促进心脏功能的恢复^[1]。研究表明,心肌肌质网钙泵(sarcoplasmic reticulum calcium adenodine triphosphatase, SERCA2)的异常在心力衰竭的发病机制中发挥重要作用^[2]。国外有研究表明血管紧张素可以引起心力衰竭大鼠的SERCA2表达和功能降低。ARB可以提高心力衰竭大鼠的SERCA2表达和功能,提示心力衰竭时肾素-血管紧张素系统参与引起了SERCA2表达和功能的降低^[3,4]。目前国内少见关于心力衰竭时SERCA2的变化以及缬沙坦进行长期干预,进而改善心功能状况的报道。本实验通过用超容量负荷联合压力负荷制备家兔心力衰竭模型,进而观察缬沙坦对SERCA2表达和功能的影响,从而探讨缬沙坦改善心功能的机制。

1 材料与方法

1.1 动物和材料

家兔 27 只,雌雄不限,体重 2.0~2.2 kg,由苏州大学医学院实验动物中心提供。Schiller TM-7 型有创血压监护仪产自瑞士,Taq DNA 聚合酶及逆转录试剂盒为 Fermentas 公司产品,PCR 引物均由上海生物工程技术服务有限公司合成,低温离心机(Becman)产自德国,PCR 仪(Touchgene Gradient)产自英国,Bio-Rad 电泳转印仪产自美国,KPL Western Blot 试剂盒产自美国,BCA 蛋白浓度测定试剂盒购于上海西唐生物公司,SERCA2 α 一抗购于 Abr 公司, β -actin 一抗购于 Upstate 公司,二抗羊抗兔 IgG 购于上海西唐生物公司,ATP 酶测定试剂盒购于南京建成生物工程研究所,Fura-2 pentapo-tassium salt 购于 Alexis 公司,缬沙坦为北京诺华制药有限公司产品,Lambdadaq-4 钙离子浓度荧光测定仪购于美国,IX71 倒置显微镜购于日本。

1.2 心力衰竭模型的建立

家兔经心脏超声检查,排除器质性病变后,随机分为假手术组($n=9$)、心力衰竭组($n=9$)、缬沙坦组($n=9$)。心力衰竭组、缬沙坦组家兔利用超容量负荷联合压力负荷制备心力衰竭模型^[5],3%戊巴比妥钠30 mg/kg经耳缘静脉麻醉;从右侧颈总动脉插入4F鞘管及4F导管,并经压力换能器连接心电血压监护仪,用4F导管迅速捅穿主动脉瓣膜几次,诱导主动脉瓣膜关闭不全。10d后在左肾动脉上方暴露腹主动脉,根据腹主动脉的粗细选择6F或者5F导管与其平行相贴,4号线结扎后抽出导管,使腹主动脉狭窄50%左右。缬沙坦组家兔在主动脉闭塞后第2d

开始灌胃给予缬沙坦20 mg/(kg·d)。术后7周心脏超声测定左心室短轴缩短率(left ventricular fractional shortening, LVFS)及左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF),利用心导管术测定左心室收缩末期压(left ventricular end-systolic pressure, LVESP)、左心室舒张末期压(left ventricular end diastolic pressure, LVEDP);然后处死家兔,取出心脏,剪下左室心肌组织称重,-70℃保存备用。

1.3 半定量 RT-PCR

根据Genebank的序列,并参考相关文献,分别设计SERCA2及内参照 β -肌动蛋白(β -actin)的引物序列。SERCA2正义引物:3'-TGAATAAACCGC-CTCGG-5',反义引物:3'-CAGCACCATCAGCCACT-5'; β -actin正义引物:3'-CTTCTCCTTGATGTCCCGCACGAT-5',反义引物:3'-GTGCTGTCCCTGTACGCCTCTGG-5'。用Trizol提取心肌的总RNA,逆转录成cDNA,-20℃保存。PCR反应体积为25 μ l,含RT产物1.25 μ l,10 $\times$ buffer 2.5 μ l,上下游引物各0.2 μ mol/L,dNTP 200 μ mol/L,MgCl₂ 2.5 mmol/L,Taq DNA聚合酶1U。反应程序为94℃预变性4 min,然后进入PCR循环,94℃变性30 s,55℃退火30 s,72℃延伸1 min,循环35次再延伸7 min。SERCA2与 β -actin扩增片段长度分别为464 bp,231 bp。RT-PCR产物行琼脂糖凝胶电泳,用Bio-Rad凝胶成像系统quantity one软件分析条带灰度,计算SERCA2与 β -actin扩增条带灰度比。

1.4 蛋白表达的测定

1.4.1 蛋白提取 取左心室心肌组织标本100 mg,剪碎,置于离心管中,加入细胞裂解液及蛋白酶抑制剂,用高速匀浆器打碎,4℃离心4000 r/min,5 min;取上清液置于超速离心管中,4℃离心12 000 r/min,1 h;弃上清,沉淀物为膜蛋白,BCA法测定蛋白浓度,-70℃保存。

1.4.2 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳 取含20 μ g总蛋白的样本,于100℃煮沸5 min,用非连续梯度SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白(SERCA2分子量为110 ku,分离胶浓度为6%,浓缩胶浓度为5%);首先电压35 V、40 min直到样品在浓缩胶底部成一直线,然后电压100 V、80 min至溴酚蓝到达分离胶底部。

1.4.3 蛋白免疫印迹 在冰水中将凝胶上的蛋白电转移到硝酸纤维膜上,电压110 V、75 min;然后硝酸纤维膜置于封闭液中,室温温育1 h;再加入一抗(SERCA2抗体1:1000稀释、 β -actin抗体1:1000稀释)封闭,4℃冰箱过夜。次日用洗液漂洗;再加入1:10 000二抗(二抗为羊抗兔IgG),温育1 h;然后用洗液漂

洗。最后将显色剂LumiGLO A液和B液1:1混合,直接加到硝酸纤维膜上;1 min后将显色液用吸水纸吸干,放入暗盒,加盖一层透明薄膜,曝光2 min。

1.4.4 蛋白表达半定量分析 将胶片扫描至计算机内,应用UVIDoc成像仪进行蛋白条带灰度分析;SERCA2与 β -actin灰度比值表示蛋白表达半定量水平。

1.5 SERCA2 活性分析

1.5.1 心肌肌质网提取步骤 参照 Jones 等^[6]的方法制备肌质网。(1)取液氮中黄豆至花生米大小的心肌组织,剪碎后置入离心管中,加入5倍体积的缓冲液A(30 mmol/L Tris-马来酸缓冲液,0.3 mol/L 蔗糖,0.1 mmol/L PMSF,2 mmol/L DTT,3 mmol/L $MgCl_2$,0.1 mmol/L EDTA,pH=7.2),用匀浆器将它们匀浆,然后用2层和4层纱布分别过滤1次;(2)4℃,3800 g离心20 min;(3)取上清液,移入新离心管中,4℃,14 000 g离心20 min;(4)取上清液,移入新离心管中,4℃,45 000 g离心60 min;(5)弃上清液,收集沉淀,用缓冲液B(30 mmol/L Tris-马来酸缓冲液,0.3 mol/L 蔗糖,0.1 mmol/L PMSF,2 mmol/L DTT,0.5 mol/L KCl,pH=7.0)1 ml 悬浮,用匀浆器打匀,4℃,45 000 g离心60 min;(6)收集沉淀,用缓冲液C(30 mmol/L Tris-马来酸缓冲液,0.3 mol/L 蔗糖,0.1 mmol/L PMSF,2 mmol/L DTT,pH=7.0)1 ml 悬浮,用匀浆器充分混匀以形成肌质网囊泡,蛋白含量的测定采用BCA法。

1.5.2 肌质网 Ca^{2+} -ATP酶活性测定 机制为每小时每毫克蛋白分解ATP产生1 μ mol无机磷的量为一个ATP酶活力单位。严格按照试剂盒说明书操作。

1.6 肌质网摄钙能力的测定

取反应液(Tris-HCl 20 mmol/L, KCl 100 mmol/L, $MgCl_2$ 5 mmol/L, NaN_3 5 mmol/L, 草酸钾 5 mmol/L, $CaCl_2$ 0.1 mmol/L, pH6.8) 2 ml 与肌质网囊泡蛋白15 mg/L、Fura-2 2 μ mol/L,室温下避光在玻璃培养皿放置5 min。把玻璃培养皿放在倒置显微镜下,打开Lambdag-4钙离子浓度荧光测定仪,激发波长设为340 nm和380 nm,发射波长设为510 nm,然后分别以340 nm和380 nm的波长激发,510 nm发射,在避光条件下记录荧光强度的变化以及R(340 nm 荧光强度/380 nm 荧光强度比值)的变化。荧光强度平稳后加入ATP-2Na 4 mmol/L 触发反应,测定R比值。肌质网摄钙能力的计算: $[Ca^{2+}] = K_d \times (R_t - R_{min}) / (R_{max} - R_t) \times S_{f2}/S_{b2}$ K_d 为 Fura-2 对 Ca^{2+} 的离解常数, R_t 为 Fura-2 在 t 时间的荧光强度比值, R_{min} 为 Fura-2 在没有 Ca^{2+} 的游离时的荧光强度比值, R_{max} 为 Fura-2 在饱和 Ca^{2+} 的荧光强度比值, S_{f2}/S_{b2} 为 380 nm 处游离时 Fura-2 与饱和 Fura-2 荧光强度比值。

1.7 统计学分析

应用 SAS6.12 统计软件包进行数据处理,所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间均数比较采用 ANOVA 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 组家兔血流动力学和心功能比较

家兔饲养过程中,心力衰竭组有3只不明原因死亡,缙沙坦组有2只死亡,发生在3周左右;假手术组无死亡,取其中6只进行比较。心力衰竭组解剖时可见皮下、胸腔、腹腔大量积水,而假手术组、缙沙坦组无以上表现;心力衰竭组左心室质量(left ventricular mass, LVM)、左心室质量指数(left ventricular mass index, LVMI)较假手术组、缙沙坦组均明显增高。与假手术组相比,心力衰竭组LVDP、LVESP显著升高,LVFS及LVEF明显降低;缙沙坦组的LVDP、LVESP显著低于心力衰竭组,LVFS及LVEF明显高于心力衰竭组(表1)。

表1 实验兔术后7周血流动力学和心功能比较 ($n=6, \bar{x} \pm s$)

参数	假手术组	心力衰竭组	缙沙坦组
LVM(g)	2.48 ± 0.15	$7.15 \pm 0.59^*$	$4.82 \pm 0.21^\#$
LVMI (g/kg)	1.32 ± 0.06	$3.61 \pm 0.09^*$	$2.07 \pm 0.14^\#$
心率(/min)	245 ± 10	$271 \pm 3^*$	$253 \pm 4^\#$
LVDP(mmHg)	-0.5 ± 1.1	$23.0 \pm 2.4^*$	$2.2 \pm 0.7^\#$
LVESP(mmHg)	112.7 ± 3.8	$139.5 \pm 3.8^*$	$122.2 \pm 0.8^\#$
LVFS(%)	37.8 ± 3.6	$17.4 \pm 3.1^*$	$33.8 \pm 2.9^\#$
LVEF(%)	72 ± 5	$39 \pm 6^*$	$65 \pm 4^\#$

注: LVM: 左心室质量; LVMI: 左心室质量指数; LVDP: 左心室舒张末期压; LVESP: 左心室收缩末期压; LVFS: 左心室短轴缩短率; LVEF: 左室射血分数; 1 mmHg=0.133 kPa。与假手术组比较, * $P < 0.05$; 与心力衰竭组比较, $^\#P < 0.05$

2.2 3 组家兔心肌 SERCA2 的 PCR 产物和蛋白表达比较

与假手术组相比,心力衰竭组 SERCA2 mRNA 水平显著下降,而缙沙坦组的 SERCA2 mRNA 水平明显高于心力衰竭组;心力衰竭组心肌 SERCA2 蛋白表达显著低于假手术组,缙沙坦组显著高于心力衰竭组(图1~4)。

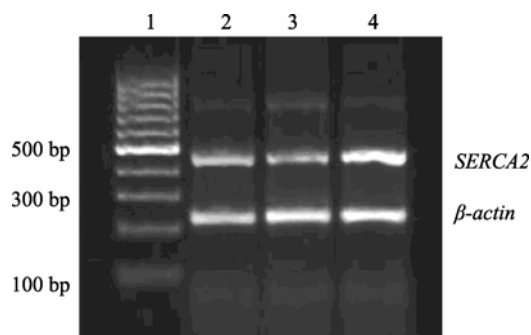


图1 三组家兔7周后心肌SERCA2 mRNA水平比较
1: Marker; 2: 缙沙坦组; 3: 心力衰竭组; 4: 假手术组

2.3 3 组家兔心肌肌质网 SERCA2 活性比较

心力衰竭组 SERCA2 活性明显低于假手术组[(8.32 ± 0.15) vs (15.01 ± 1.00) $\mu\text{mol Pi}/(\text{mg pro} \cdot \text{h})$, $P < 0.05$], 缬沙坦组 SERCA2 活性显著高于心力衰竭组[(12.46 ± 0.38) vs (8.32 ± 0.15) $\mu\text{mol Pi}/(\text{mg pro} \cdot \text{h})$, $P < 0.05$].

2.4 3 组家兔心肌肌质网摄钙能力的比较

心力衰竭组肌质网摄钙能力明显低于假手术组, 缬沙坦组肌质网摄钙能力显著高于心力衰竭组(图 5, 图 6)。

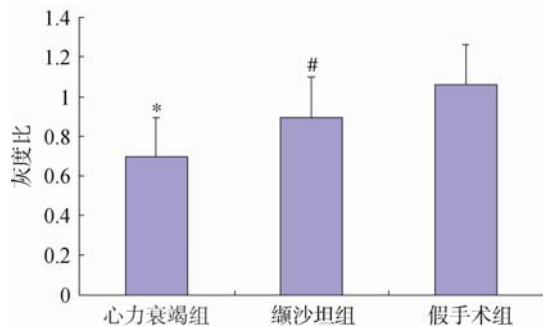


图 2 三组家兔心肌 SERCA2 mRNA 水平比较
与假手术比较, * $P < 0.05$; 与心力衰竭组比较, # $P < 0.05$

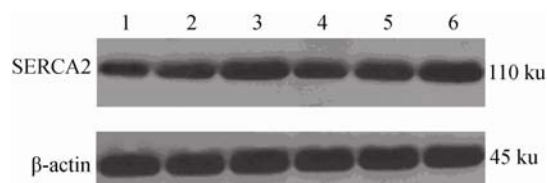


图 3 三组家兔心肌 SERCA2 蛋白免疫印迹结果
1: 心力衰竭组; 2: 缬沙坦组; 3: 假手术组; 4: 心力衰竭组;
5: 缬沙坦组; 6: 假手术组

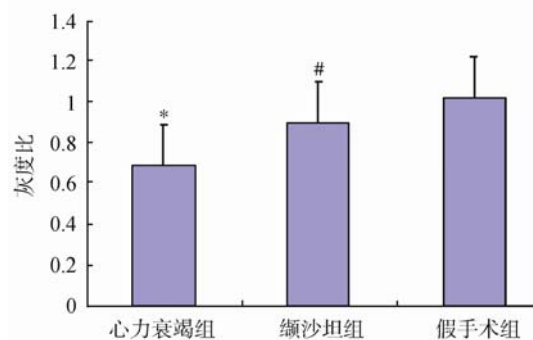


图 4 三组家兔心肌 SERCA2 蛋白表达比较
与假手术比较, * $P < 0.05$; 与心力衰竭组比较, # $P < 0.05$

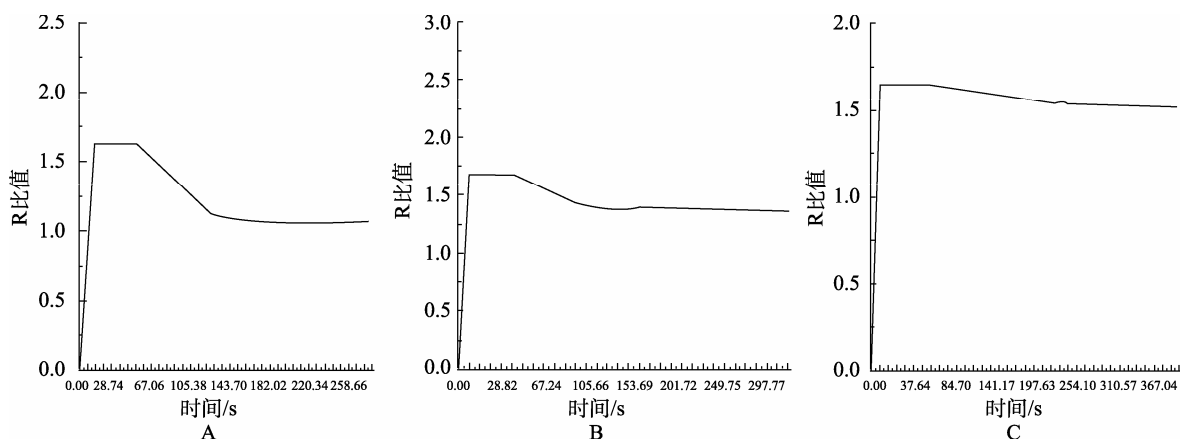


图 5 三组家兔心肌肌质网外反应液 R 值变化曲线
A: 假手术组; B: 缬沙坦组; C: 心力衰竭组

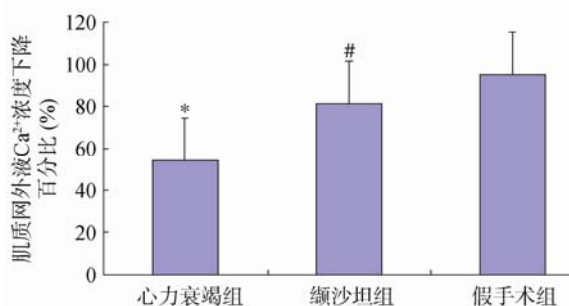


图 6 三组家兔心肌细胞肌质网摄钙能力比较
与假手术组比较, * $P < 0.05$; 与心力衰竭组比较, # $P < 0.05$

3 讨论

越来越多的证据表明, 钙循环异常在心力衰竭

的发展中起着重要作用^[7]。钙循环主要包括肌质网钙释放、钙回摄及钙储存三个过程。钙回摄是由 SERCA2 完成, 其将胞质内 Ca^{2+} 回摄至肌质网内储存, 同时钠钙交换体 (NCX) 将胞质内 Ca^{2+} 一部分转运至胞外, 维持细胞内钙稳态。大多研究显示心力衰竭时 SERCA2 的表达和活性是降低的^[8]。SERCA2 表达及活性降低将直接导致肌质网回摄钙减少, 并进而导致肌质网贮钙减少; 钙回摄下降, 导致心肌舒张时, 肌质网不能迅速从胞质中摄回钙, 不能维持胞质内的低钙状态, 收缩后的心肌不能充分舒张, 进而影响心室的充盈。

本研究显示, 7 周后心力衰竭组家兔均表现为不同程度的进食和活动减少, 呼吸频率增快; LVM,

LVMI, LVEDP 明显增加; LVFS 及 LVEF 明显降低; 解剖时可见皮下、胸腔、腹腔大量积水。以上结果表明, 心力衰竭组家兔在超容量负荷及压力负荷的影响下, 结构上表现为心室重构, 功能上表现为收缩功能降低, 最终发展为左心力衰竭。与假手术组相比, 心力衰竭组 SERCA2 的表达和活性显著降低, 肌质网的摄钙能力下降, 与以往报道一致^[9]。

本实验表明缬沙坦长期干预心力衰竭, 可明显增加 SERCA2 的表达和活性, 提高肌质网的摄钙能力, 显著改善血流动力学, 缓解心室肥厚。国外有研究提示心力衰竭时肾素-血管紧张素系统参与引起了 SERCA2 表达和功能的降低^[3,4]。缬沙坦作为一种 ARB 类药物, 主要通过 AT₁ 受体结合, 竞争性抑制血管紧张素 II 的生物学效应而发挥作用。具体机制可能包括以下因素: (1) 缬沙坦作为血管扩张剂降低了心脏的前后负荷, 降低了室壁的张力, 改善了促使心室重构的血流动力学异常; (2) 抑制了心肌细胞凋亡、肥大和胶原的增生; (3) 抑制了交感神经的过度激活; (4) 增强了血管紧张素 II 受体的良性心血管效应; (5) 抑制了炎症因子等; (6) 抑制肾素-血管紧张素系统, 增加了 SERCA2 的表达和功能; (7) 抑制了心力衰竭时肌质网钙调控相关蛋白的改变, 恢复钙介导的兴奋-收缩偶联等^[10-12]。

总之, 本实验结果说明, 心力衰竭家兔 SERCA2 的表达和活性降低, 使肌质网的摄钙能力下降, 从而影响了心肌舒缩功能, 这为心力衰竭治疗提供了新的方向。缬沙坦长期干预心力衰竭, 改善心脏舒缩功能, 可能与其增加 SERCA2 的表达和活性, 提高肌质网的摄钙能力有关。

【参考文献】

- [1] Guo X, Chapman D, Dhalla NS. Partial prevention of changes in SR gene expression in congestive heart failure due to myocardial infarction by enalapril or losartan[J]. *Mol Cell Biochem*, 2003, 254(1-2): 163-172.
- [2] Periasamy M, Bhupathy P, Babu GJ. Regulation of sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase pump expression and its relevance to cardiac muscle physiology and pathology[J]. *Cardiovasc Res*, 2008, 77(2): 265-273.
- [3] Ju H, Scammel-La Fleur T, Dixon IM. Altered mRNA abundance of calcium transport genes in cardiac myocytes induced by angiotensin II[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 1996, 28(5): 1119-1128.
- [4] Shao Q, Ren B, Saini HK, *et al*. Sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ transport and gene expression in congestive heart failure are modified by imidapril treatment[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2005, 288(4): H1674-H1682.
- [5] 邹操, 刘志华, 赵彩明, 等. 超容量负荷联合压力负荷制备家兔心力衰竭模型的可行性探讨[J]. *实验动物与比较医学*, 2005, 25(4): 211-214.
- [6] Jones LR, Simmerman HK, Wilson WW, *et al*. Purification and characterization of phospholamban from canine cardiac sarcoplasmic reticulum [J]. *J Biol Chem*, 1985, 260(12): 7721-7730.
- [7] Dibb KM, Graham HK, Venetucci LA, *et al*. Analysis of cellular calcium fluxes in cardiac muscle to understand calcium homeostasis in the heart[J]. *Cell Calcium*, 2007, 42(4-5): 503-512.
- [8] Xu YJ, Chapman D, Dixon IM, *et al*. Differential gene expression in infarct scar and viable myocardium from rat heart following coronary ligation[J]. *J Cell Mol Med*, 2004, 8(1): 85-92.
- [9] Zhao XY, Hu SJ, Li J, *et al*. rAAV-asPLB transfer attenuates abnormal sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase activity and cardiac dysfunction in rats with myocardial infarction[J]. *Eur J Heart Fail*, 2008, 10(1): 47-54.
- [10] Oishi Y, Ozino R, Yoshizumi M, *et al*. AT₂ receptor mediates the cardioprotective effects of AT₁ receptor antagonist in post-myocardial infarction remodeling[J]. *Life Sci*, 2006, 80(1): 82-88.
- [11] Cohn JN, Tognoni G. A randomized trial of the angiotensin-receptor blocker valsartan in chronic heart failure[J]. *N Engl J Med*, 2001, 345(23): 1667-1675.
- [12] Pfeffer MA, Swedberg K, Granger CB, *et al*. Effects of candesartan on mortality and morbidity in patients with chronic heart failure: the CHARM-Overall programme[J]. *Lancet*, 2003, 362(9386): 759-766.

(编辑: 王雪萍)