

· 论著 ·

miR-19b 对 H₂O₂ 诱导的大鼠心肌细胞 H9c2 氧化应激损伤的保护作用及机制研究

阮怀玉 廖小婷 曾彬

(武汉大学人民医院心内科 武汉大学心血管病研究所 心血管病湖北省重点实验室,湖北 武汉 430060)

【摘要】目的 研究 microRNA(miR)-19b 是否在 H₂O₂ 诱导的心肌细胞的氧化应激损伤中具有保护作用。**方法** 将大鼠 H9c2 心肌细胞株分为 6 组,空白对照组(L1),H₂O₂组(L2),H₂O₂+miR-19b mimic 阴性对照(NC)组(L3),H₂O₂+miR-19b mimic 组(L4),H₂O₂+miR-19b inhibitor 组(L5),H₂O₂+miR-19b inhibitor NC 组(L6)。NC 组细胞转染随机合成的 miRNA 片段作为阴性对照。采用 CCK8 和流式细胞术检测细胞活性和凋亡情况,逆转录聚合酶链式反应(RT-PCR)法检测 miR-19b 的表达量,并利用试剂盒检测超氧化物歧化酶(SOD)、乳酸脱氢酶(LDH)、丙二醛(MDA)和还原型谷胱甘肽(GSH)水平,Western blot 法检测核因子相关因子 2(Nrf2)、血红素氧合酶-1(HO-1)表达水平。**结果** 与 L1 组比较,L2 组和 L3 组中 miR-19b 表达量、H9c2 细胞活性和细胞内 SOD、GSH 水平均显著降低($P<0.01$),细胞凋亡率和细胞内 LDH、MDA 水平、Nrf2 和 HO-1 表达水平均显著增加($P<0.01$)。与 L2 组及 L3 组比较,L4 组中 miR-19b 表达量、H9c2 细胞活性和细胞内 SOD、GSH 水平、Nrf2 和 HO-1 表达水平均显著增加($P<0.01$),细胞凋亡率和细胞内 LDH、MDA 水平均显著降低($P<0.01$),L5 组中 miR-19b 表达量和 H9c2 细胞活性和细胞内 SOD、GSH 水平、Nrf2 和 HO-1 表达水平均显著降低($P<0.01$),细胞凋亡率和细胞内 LDH、MDA 水平均显著增加($P<0.01$),L6 组 miR-19b 表达量、H9c2 细胞活性、细胞凋亡率、细胞内 SOD、GSH、LDH、MDA 水平以及 Nrf2 和 HO-1 表达水平均未见统计学差异($P>0.05$)。**结论** miR-19b 高表达可显著抑制 H9c2 细胞的氧化应激损伤,发挥心肌细胞保护作用。

【关键词】 miR-19b;H9c2 心肌细胞;氧化应激损伤;凋亡;Nrf2/HO-1 信号通路

【DOI】10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2021.02.020

Protective Effects and Mechanisms of miR-19b on Oxidative Stress Injury Induced by Hydrogen Peroxide in H9c2 Myocardial Cells

RUAN Huaiyu, LIAO Xiaoting, ZENG Bin

(Department of Cardiology, Renmin Hospital of Wuhan University, Cardiovascular Disease Institute of Wuhan University, Hubei Key Laboratory of Cardiovascular Diseases, Wuhan 430060, Hubei, China)

【Abstract】Objective To investigate whether microRNA-19b(miR-19b) has a protective effect on H₂O₂-induced oxidative stress injury in rat myocardial cells. **Methods** Rat H9c2 myocardial cells were divided into 6 groups as follows: blank control(L1), H₂O₂(L2), H₂O₂+miR-19b mimic negative control(NC)(L3), H₂O₂+miR-19b mimic(L4), H₂O₂+miR-19b inhibitor(L5) and H₂O₂+miR-19b inhibitor NC(L6). Cells transfected with random miRNA fragments serve as NC. Cell activity and apoptosis were analyzed by CCK8 and flow cytometry. The expression of miR-19b was detected by RT-PCR. Superoxide dismutase(SOD), lactic dehydrogenase(LDH), malondialdehyde(MDA), glutathione(GSH) levels were tested by related kits and the expression of Nrf2 and HO-1 were detected by Western blot. **Results** Compared with L1 group, the expression of miR-19b, cell viability, SOD and GSH levels were significantly decreased($P<0.01$) and cell apoptotic rate, LDH and MDA levels, Nrf2 and HO-1 proteins increased($P<0.01$) in L2 and L3 group. Compared with L2 and L3 group, the expression of miR-19b, cell viability, SOD and GSH levels, Nrf2 and HO-1 proteins were markedly elevated($P<0.01$) and cell apoptotic rate, LDH and MDA levels dropped($P<0.01$) in L4 group. Meanwhile, the expression of miR-19b, cell viability, SOD and GSH levels, Nrf2 and HO-1 proteins were markedly declined($P<0.01$) and cell apoptotic rate, LDH and MDA levels elevated($P<0.01$) in L5 group, yet all of which showed no significant differences in L6 group($P>0.05$). **Conclusion** MiR-19b could inhibits oxidative stress damage in H9c2 cells and play a protective role on myocardial cells.

基金项目:国家自然科学基金青年基金(30900609);国家自然科学基金(81570333, 81270271);中央高校基本科研业务费专项资金(2042020kfl014)

通信作者:曾彬, E-mail: zengbinwhu@163.com

【Key words】 miR-19b; H9c2 myocardial cell; Oxidative stress injury; Apoptosis; Nrf2/HO-1 signal pathway

近年来,氧化应激在心血管疾病发展过程中的重要作用越来越受到关注,研究^[1]表明氧化应激可引起心肌缺血、心肌缺血再灌注损伤以及心肌重构等一系列病理过程的发生,最终导致心肌细胞坏死和凋亡。心肌细胞是高度分化的细胞,不可再生,因此干预氧化应激和减少心肌细胞凋亡成为心血管疾病治疗的研究热点。最新研究发现,miRNA 是心血管疾病重要的调控因子^[2],并且也已证明多种 miRNA 参与心血管疾病的发生和发展,如 miR-26^[3]、miR-21^[3-4]和 miR-221^[5-6]等。近年来研究发现 miR-19b 在心力衰竭中低表达^[7],并可通过抑制心肌细胞凋亡和靶向 BCL2L1/BIM 来逆转缺血性心力衰竭^[8],也与心肌梗死的发生密切相关^[9],但其对心肌细胞氧化应激的作用还少见报道。因此,本研究将探讨 miR-19b 在 H₂O₂ 诱导的大鼠心肌细胞 H9c2 损伤中的保护作用及具体机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料

大鼠心肌细胞 H9c2 由湖北省心血管病重点实验室提供,高糖 DMEM 培养基和胎牛血清购自 Gibco 公司,CCK8 溶液和胰蛋白酶等购自 Sigma 公司,Lipofectamine 2000 和 Trizo 试剂盒等购自 Invitrogen 公司,AnnexinV-FITC 细胞凋亡试剂盒购自天津三箭技术有限公司,超氧化物歧化酶(SOD)、乳酸脱氢酶(LDH)、丙二醛(MDA)和还原型谷胱甘肽(GSH)等检测试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.2 H9c2 细胞的培养

(1)从-80℃冰箱中取出细胞迅速放入 37℃水浴快速解冻,加入 5 mL 培养基重悬细胞并离心 5 min。(2)弃去上清液,加入 5 mL 培养基重悬细胞接种于培养皿内,用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液在 37℃、5% CO₂ 条件下培养。(3)当细胞融合到 90% 时进行传代,后取处于对数生长期的细胞用胰蛋白酶处理后待用。

1.3 细胞分组与转染

实验分为 6 组:(1)空白对照组(L1 组):正常培养的 H9c2 细胞;(2)H₂O₂ 组(L2 组):H₂O₂ (浓度 400 μmol/L)处理 2 h 建立氧化损伤模型;(3)H₂O₂ + miR-19b mimic 阴性对照(NC)组(L3 组):转染 miR-19b mimic NC;(4)H₂O₂ + miR-19b mimic 组(L4 组):转染 miR-19b mimic;(5)H₂O₂ + miR-19b inhibitor 组(L5 组):转染 miR-19b inhibitor;(6)H₂O₂ + miR-19b inhibitor NC 组(L6 组):转染 miR-19b inhibitor NC。以上各组转染后用 H₂O₂ 处理 2 h。

1.4 CCK8 实验

(1)将 100 μL 的细胞悬液配置在 96 孔板中并将其放在培养箱预培养 24 h;(2)将 6 组待测物质各 10 μL 分别加在培养板内;(3)继续将培养板在培养箱培养 24 h;(4)向每孔分别加入 10 μL CCK8 溶液;(5)用酶标仪测定 450 nm 处吸光度。细胞活力(%) = [A(实验孔吸光度) - A(空白孔吸光度)] / [A(对照孔吸光度) - A(空白孔吸光度)] × 100。

1.5 RT-PCR 法检测 miR-19b 表达量

各组细胞转染 48 h 后,总 RNA 用 Trizol 试剂提取并进行逆转录。用 PCR 试剂盒对 miR-19b 和 U6 进行荧光定量 PCR 扩增,以 U6 为内参对各组 miR-19b 的表达进行校正。反应体系总共 20 μL,其中 cDNA 2 μL,上下游引物各 1 μL,qPCR 试剂为 10 μL,其余为 ddH₂O。反应条件为:在 95℃ 温度下,进行 5 min 的预变性,然后再 95℃ 变性 15 s,60℃ 退火 30 s,进行 40 个循环。计算 miR-19b 的相对表达量:ΔCt = Ct_{目的基因} - Ct_{内参基因},由公式 2^{-ΔΔCt} 计算的数值代表了 miR-19b 的相对表达量。实验共进行 3 次。

1.6 流式细胞术检测细胞凋亡

取处于对数生长期的各组细胞接种于 6 孔板中,转染 24 h 后,各组细胞分别离心、消化、收集,然后用磷酸盐缓冲溶液洗涤 2 次并离心弃去上清液。将 200 μL 结合缓冲液加入收集到的细胞沉淀中并将其吹打成单细胞悬液,加入 5 μL 膜联蛋白 V-异硫氰酸荧光素和碘化丙啶试剂,轻柔摇晃使其混匀后在阴凉无光的条件下放置 20 min 后将其放入流式细胞仪检测。

1.7 试剂盒检测各组心肌细胞的 SOD、LDH、MDA 和 GSH 的表达水平

各个指标检测按照试剂盒说明书进行操作。

1.8 Western blot 法检测核因子相关因子 2 和血红素氧合酶-1 蛋白表达

将裂解液加入 6 组细胞中并进行蛋白提纯,后进行蛋白定量、电泳、转膜,加 5% 脱脂牛奶在室温条件下封闭 1 h,然后用兔抗核因子相关因子 2(Nrf2) (稀释度 1:500)以及兔抗鼠血红素氧合酶 1(HO-1) (稀释度 1:1000)抗体 4℃ 孵育过夜。次日用辣根过氧化物酶标记的羊抗兔二抗(稀释度 1:10000)室温孵育 1 h,化学发光法显影。采用凝胶成像系统进行分析,以目的蛋白条带灰度值与 β-actin 条带灰度值的比值反映 Nrf2 和 HO-1 的表达水平。

1.9 统计学分析

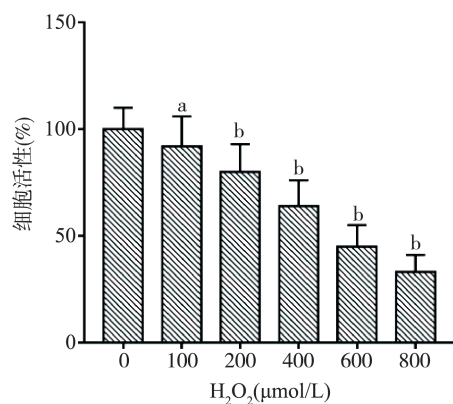
应用 SPSS 23.0 软件进行统计学分析,计量资料

以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,比较采用单因素方差分析及 LSD 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 H_2O_2 对 H9c2 心肌细胞活性的影响

结果显示,随着 H_2O_2 浓度的增加,对 H9c2 心肌细胞的损害越大,H9c2 心肌细胞活性越低,细胞凋亡越多。结果如图 1 所示。



注:与 0 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 比较,a: $P<0.05$,b: $P<0.01$ 。

图 1 H_2O_2 对 H9c2 心肌细胞活性的影响

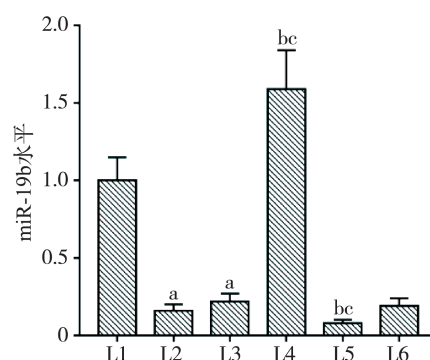
采用 0、100、200、400、600 和 800 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 分别处理 H9c2 心肌细胞 2 h,结果显示,随着 H_2O_2 浓度的增加,H9c2 心肌细胞活性下降,差异有显著性($P<0.01$)。当 H_2O_2 的浓度为 400 $\mu\text{mol/L}$ 时,细胞活性为 64%,既能显著抑制 H9c2 细胞活力,又不会使大量细胞凋亡,因此采用 400 $\mu\text{mol/L}$ 的 H_2O_2 制作 H9c2 心肌细胞凋亡模型。

2.2 转染后各组细胞内 miR-19b 的表达水平

与 L1 组(1.00 ± 0.15)比较,L2 组(0.16 ± 0.04)和 L3 组(0.22 ± 0.05)细胞中 miR-19b 表达量显著降低,差异有统计学意义($P<0.01$);与 L2 组及 L3 组比较,L4 组(1.59 ± 0.25)细胞中 miR-19b 表达量显著升高,L5 组(0.08 ± 0.02)细胞中 miR-19b 表达量降低,差异均有统计学意义($P<0.01$),L6 组(0.19 ± 0.05)细胞中 miR-19b 表达量未见统计学差异($P>0.05$)。可说明 miR-19b 转染成功,见图 2。

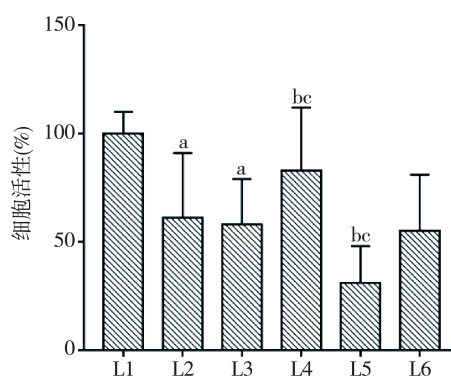
2.3 miR-19b 对 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞活性的影响

与 L1 组($100\% \pm 10\%$)比较,L2 组($61\% \pm 30\%$)和 L3 组($58\% \pm 21\%$)中细胞活性显著降低,差异具有统计学意义($P<0.01$);与 L2 组及 L3 组比较,L4 组($83\% \pm 29\%$)中细胞活性显著升高,L5 组($31\% \pm 17\%$)中细胞活性显著降低,差异均有统计学意义($P<0.01$),L6 组($55\% \pm 26\%$)中细胞活性未见统计学差异($P>0.05$)。可说明 miR-19b 可提高由 H_2O_2 诱导的 H9c2 心肌细胞活性,见图 3。



注:a:与 L1 组相比, $P<0.01$;b:与 L2 组相比, $P<0.01$;c:与 L3 组相比, $P<0.01$ 。

图 2 转染后各组细胞内 miR-19b 的表达水平



注:a:与 L1 组相比, $P<0.01$;b:与 L2 组相比, $P<0.01$;c:与 L3 组相比, $P<0.01$ 。

图 3 miR-19b 对 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞活性的影响

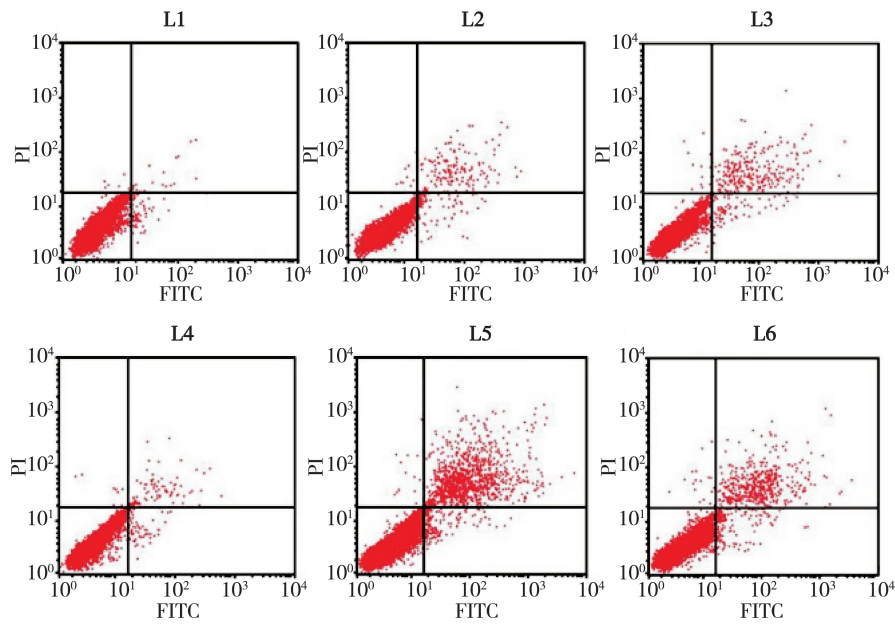
2.4 miR-19b 对 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞凋亡的影响

与 L1 组($5.45\% \pm 0.40\%$)比较,L2 组($35.50\% \pm 2.50\%$)和 L3 组($33.30\% \pm 2.15\%$)中细胞凋亡率显著提高,差异具有统计学意义($P<0.01$);与 L2 组及 L3 组比较,L4 组($7.57\% \pm 0.68\%$)中细胞凋亡率显著降低,L5 组($50.15\% \pm 5.10\%$)中细胞凋亡率提高,差异均有统计学意义($P<0.01$),L6 组中细胞凋亡率($40.13\% \pm 3.10\%$)未见统计学差异($P>0.05$)。可说明 miR-19b 降低由 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞凋亡率,见图 4。

2.5 miR-19b 对 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞中 SOD、LDH、MDA 和 GSH 水平的影响

与 L1 组相比,L2 组和 L3 组中细胞内 SOD 活力和 GSH 含量显著降低,LDH 活力和 MDA 含量显著升高,差异具有统计学意义($P<0.01$);与 L2 组及 L3 组相比,L4 组中细胞内 SOD 活力和 GSH 含量显著升高,LDH 活力和 MDA 含量显著降低,L5 组中细胞内 SOD 活力和 GSH 含量显著降低,LDH 活力和 MDA 含量显著升高,差异均有统计学意义($P<0.01$),L6 组中细胞内 SOD、LDH 活力和 MDA、GSH 含量未见统计学差异

($P>0.05$)。说明 miR-19b 可升高细胞内 SOD、GSH 的表达量,降低 LDH、MDA 的表达量,见表 1。



注:PI:碘化丙啶;FITC:异硫氰酸荧光素。

图 4 miR-19b 对 H₂O₂ 诱导的 H9c2 细胞凋亡的影响

表 1 各组 H9c2 细胞中检测指标结果比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	SOD	LDH	MDA	GSH
L1	11.75±0.52	5.23±0.75	1.67±0.15	17.31±0.72
L2	7.26±0.32 ^a	9.31±0.96 ^a	2.46±0.22 ^a	10.96±0.60 ^a
L3	7.53±0.29 ^a	9.19±1.09 ^a	2.43±0.23 ^a	11.34±0.90 ^a
L4	8.99±0.51 ^{bc}	6.53±0.59 ^{bc}	1.83±0.17 ^{bc}	14.11±1.42 ^{bc}
L5	4.81±0.22 ^{bc}	12.60±0.83 ^{bc}	3.08±0.26 ^{bc}	6.70±1.45 ^{bc}
L6	7.48±0.31	9.23±1.18	2.27±0.22	10.12±0.79
F 值	109.233	22.599	15.815	24.499
P 值	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

注:^a:与 L1 组相比, $P<0.01$;^b:与 L2 组相比, $P<0.01$;^c:与 L3 组相比, $P<0.01$;n=10。

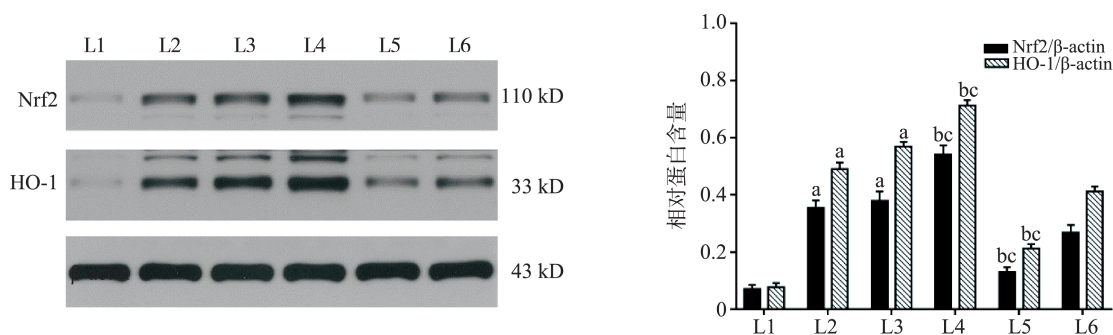
2.6 miR-19b 对 H₂O₂ 诱导的 H9c2 细胞中 Nrf2 和 HO-1 表达水平的影响

与 L1 组相比,L2 组和 L3 组中 Nrf2 和 HO-1 表达水平显著升高,差异具有统计学意义($P<0.01$);与 L2 组及 L3 组相比,L4 组 Nrf2 和 HO-1 表达水平显著升高,L5 组中 Nrf2 和 HO-1 表达水平显著降低,差异均有统计学意义($P<0.01$)。说明 miR-19b 可增强 H₂O₂ 诱导的 H9c2 细胞中 Nrf2 和 HO-1 表达水平,见图 5。

3 讨论

miRNA 是一种微小的非编码 RNA 分子,主要在转录后调节基因表达,参与细胞间的通讯^[6,10],并且在细胞增殖、分化、凋亡,甚至肿瘤发生等多种生物学过程中起到重要作用^[11-12],已逐渐成为生命科学领域的研究热点。近年来,研究发现 miRNA 与心肌梗死、心律失常和心力衰竭等多种心血管疾病的发生和发展密

切相关^[13-15]。目前认为氧化应激是心血管疾病发生的重要因素^[16],进一步的研究也发现某些 miRNA 可通过调节氧化应激损伤水平来减缓甚至抑制心肌细胞凋亡的发生,如符丽珍等^[17]研究发现下调 miR-221 表达来激活 PTEN/Akt 信号通路,进而抑制 H₂O₂ 诱导的 H9c2 细胞凋亡。郑君毅等^[18]研究显示通过降低 miR-1 表达水平可减少 H₂O₂ 诱导氧化应激引起的细胞凋亡。miR-19b 是 miR-17-92 簇的主要成员之一,曾被认为与心脏的病理生理变化有关^[19]。既往研究^[20]也发现 miR-19b 可有效减缓糖尿病肾病、糖尿病视网膜病变等一系列并发症的发生,而这一作用也可能是通过提高机体的抗氧化能力实现的。因此,本研究进一步地探讨 miR-19 在氧化应激相关的心肌细胞凋亡中的保护作用及其机制。



注:a;与 L1 组相比, $P < 0.01$;b;与 L2 组相比, $P < 0.01$;c;与 L3 组相比, $P < 0.01$ 。

图 5 miR-19b 对 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞中 Nrf2 和 HO-1 表达水平的影响

在体内几乎所有细胞在代谢过程中都会产生 H_2O_2 ,且 H_2O_2 在体外性质相对稳定,较易获得,故本实验采用 H_2O_2 为工具建立氧化应激损伤模型来模拟体内氧化损伤的病理过程,但较高浓度的 H_2O_2 可直接导致细胞膜破裂,所以通过采用不同浓度的 H_2O_2 来诱导大鼠 H9c2 心肌细胞,结果发现伴随着 H_2O_2 浓度的升高,大鼠 H9c2 心肌细胞活性呈现出逐渐降低的趋势,故最终选择 $400 \mu\text{mol/L}$ H_2O_2 处理 2 h 建立体外心肌氧化应激损伤模型,并将其作为后续实验诱导剂量。接着利用 RT-PCR 法检测 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞中 miR-19b 的表达量,结果表明 H_2O_2 组中 miR-19b 表达量上升,与 Xu 等^[21] 研究结果一致,RT-PCR 结果进一步表明 miR-19b 转染的成功。研究接着利用流式细胞术及相关试剂盒检测 miR-19b 对 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞活力及凋亡和相关氧化还原酶系的影响。本研究结果表明,与 L1 组比较,L2 组、L3 组以及 L5 组中 H9c2 细胞活性显著降低,细胞凋亡率显著增加,而 L4 组中 H9c2 心肌细胞活性增加,细胞凋亡率显著降低,这提示 miR-19b 对 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞凋亡具有保护作用。与此同时,还发现在 miR-19b 保护心肌细胞抗氧化损伤的同时伴随着细胞内 LDH、MDA 含量减少以及 SOD、GSH 水平的增加,这提示 miR-19b 可能通过调控与干预细胞内的氧化还原系统来减少 H_2O_2 引起的细胞内有害物质的过量堆积,同时增加 SOD、GSH 等抗氧化物质的含量,进而发挥保护心肌细胞的作用。

细胞凋亡是生命活动的基本现象,整个过程通常会涉及一系列基因的激活、表达以及调控等的作用。既往研究^[22] 发现,Nrf2 是机体抗氧化应激的重要核转录因子,属于 Cap-n-collar (CNC) 转录因子家族成员,其激活后可启动下游 HO-1 等多种抗氧化蛋白类基因的表达,从而调控迁徙、细胞生长、细胞凋亡以及转录等多种生理病理活动。当组织细胞处于缺血等多种应激状态时,HO-1 可通过 Nrf2 调控进行应答,其表达量迅速上升,从而表现出明显的抗氧化、抗炎及抗凋亡作用^[23]。因此,近年来 Nrf2/HO-1 信号通路途径在细胞

凋亡与调控和减低心肌细胞凋亡中发挥的重要作用备受关注^[24]。最新研究^[25] 表明,Nrf2/HO-1 信号通路在高糖诱导的心肌细胞氧化应激损伤中发挥着重要的保护作用。同时,还发现 Nrf2/HO-1 途径主要是通过调控抗氧化酶系的表达等机制保护组织器官^[26]。故本研究探讨 miR-19b 是否会对 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞中 Nrf2/HO-1 信号通路产生影响,研究结果表明 miR-19b 能显著上调 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞中 Nrf2 表达,上调 HO-1 表达水平,从而说明上调 miR-19b 表达可能通过激活 Nrf2/HO-1 信号通路,并调控下游蛋白表达,从而抑制 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞凋亡。

综上所述,miR-19b 对 H_2O_2 诱导的心肌细胞的氧化应激损伤可发挥较好的保护作用,可能是通过激活 Nrf2/HO-1 信号通路以及调控细胞氧化还原系统来有效减少心肌细胞凋亡,并且本研究结果或对 miR-19b 治疗心血管疾病及其他氧化应激损伤所致的疾病具有一定指导意义。

参考文献

- [1] Sinning C, Westermann D, Clemmensen P. Oxidative stress in ischemia and reperfusion: current concepts, novel ideas and future perspectives [J]. *Biomark Med*, 2017, 11 (11): 11031-11040.
- [2] Gong YY, Luo JY, Wang L, et al. MicroRNAs regulating reactive oxygen species in cardiovascular diseases [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2018, 29 (11): 1092-1107.
- [3] Rubiś P, Totań-Żurańska J, Wiśniewska-Śmiełek S, et al. Relations between circulating microRNAs (miR-21, miR-26, miR-29, miR-30 and miR-133a), extracellular matrix fibrosis and serum markers of fibrosis in dilated cardiomyopathy [J]. *Int J Cardiol*, 2017, 231 (15): 201-206.
- [4] Wang Y, Liang Y, Zhao W, et al. Circulating miRNA-21 as a diagnostic biomarker in elderly patients with type 2 cardiorenal syndrome [J]. *Sci Rep*, 2020, 10 (1): 4894-4902.
- [5] Huang D, Chen Z, Wang J, et al. MicroRNA-221 is a potential biomarker of myocardial hypertrophy and fibrosis in hypertrophic obstructive cardiomyopathy [J]. *Biosci Rep*, 2020, 40 (1): 1-13.
- [6] Economou EK, Oikonomou E, Siasos G, et al. The role of microRNAs in coronary artery disease: from pathophysiology to diagnosis and treatment [J]. *Atherosclerosis*, 2015, 241 (2): 624-633.
- [7] Beaumont J, López B, Ravassa S, et al. MicroRNA-19b is a potential biomarker

- of increased myocardial collagen cross-linking in patients with aortic stenosis and heart failure[J]. *Sci Rep*, 2017, 101(1):16-24.
- [8] Yang W, Han Y, Yang C, et al. MicroRNA-19b-1 reverses ischaemia-induced heart failure by inhibiting cardiomyocyte apoptosis and targeting Bcl2 111/BIM [J]. *Heart Vessels*, 2019, 34(7):1221-1229.
- [9] Katta S, Karnewar S, Panuganti D, et al. Mitochondria-targeted esculetin inhibits PAI-1 levels by modulating STAT3 activation and miR-19b via SIRT3; role in acute coronary artery syndrome[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(1):214-225.
- [10] Diao H, Liu B, Shi Y, et al. MicroRNA-210 alleviates oxidative stress-associated cardiomyocyte apoptosis by regulating BNIP3 [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2017, 81(9):1712-1720.
- [11] Jiang A, Dong C, Li B, et al. MicroRNA-206 regulates cell proliferation by targeting G6PD in skeletal muscle[J]. *FASEB J*, 2019, 33(12):14083-14094.
- [12] Emmanuel KN, Zacharias F, Valentinis P, et al. The impact of microRNAs in breast cancer angiogenesis and progression[J]. *Microna*, 2019, 8(2):101-109.
- [13] Zhu H, Fan GC. Role of microRNAs in the reperfused myocardium towards post-infarct remodelling[J]. *Cardiovasc Res*, 2012, 94(2):284-292.
- [14] Colpaert RMW, Calore M. MicroRNAs in cardiac diseases [J]. *Cells*, 2019, 8(7):737-758.
- [15] 谢建华, 赵鸿泽, 刘剑雄. MicroRNA 在心肌梗死后左心室重塑和心力衰竭发展中的研究现状[J]. *心血管病学进展*, 2020, 41(3):259-263.
- [16] Peoples JN, Saraf A, Ghazal N, et al. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in heart disease[J]. *Exp Mol Med*, 2019, 51(12):1-13.
- [17] 符丽珍, 黄茂芹, 劳之勇, 等. miR-221 在 H₂O₂ 诱导的大鼠心肌细胞损伤中的作用及机制研究[J]. *中国比较医学杂志*, 2017, 27(5):83-88.
- [18] 郑君毅, 蔡英, 丛洪良, 等. 下调 microRNA-1 对 H₂O₂ 诱导的心肌细胞损伤的保护作用[J]. *天津医药*, 2014, 42(8):737-740.
- [19] Gao S, Liu TW, Wang Z, et al. Downregulation of microRNA-19b contributes to angiotensin II-induced overexpression of connective tissue growth factor in cardiomyocytes[J]. *Cardiology*, 2014, 127(2):114-120.
- [20] Liu J, Chen S, Biswas S, et al. Glucose-induced oxidative stress and accelerated aging in endothelial cells are mediated by the depletion of mitochondrial SIRT3 [J]. *Physiol Rep*, 2020, 8(3):14331-14342.
- [21] Xu J, Tang Y, Bei Y, et al. miR-19b attenuates H₂O₂-induced apoptosis in rat H9C2 cardiomyocytes via targeting PTEN [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(10):10870-10878.
- [22] Dikovskaya D, Dinkova-Kostova AT. Measuring changes in Keap1-Nrf2 protein complex conformation in individual cells by FLIM-FRET [J]. *Curr Protoc Toxicol*, 2020, 85(1):96-129.
- [23] Shen X, Hu B, Xu G, et al. Activation of Nrf2/HO-1 pathway by glycogen synthase kinase-3 β inhibition attenuates renal ischemia/reperfusion injury in diabetic rats [J]. *Kidney Blood Press Res*, 2017, 42(2):369-378.
- [24] McIntosh DJ, Walters TS, Arinze IJ, et al. Arkadia (RING finger protein 111) mediates sumoylation-dependent stabilization of Nrf2 through K48-linked ubiquitination [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 46(1):418-430.
- [25] Tsai CY, Wen SY, Cheng SY, et al. Nrf2 activation as a protective feedback to limit cell death in high glucose-exposed cardiomyocytes [J]. *J Cell Biochem*, 2017, 118(7):1659-1669.
- [26] Zhang Y, Rong S, Feng Y, et al. Simvastatin attenuates renal ischemia/reperfusion injury from oxidative stress via targeting Nrf2/HO-1 pathway [J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(5):4460-4466.

收稿日期:2020-08-09

我刊增加论著栏目的启事

我刊 2019 年起新增论著栏目,论著投稿注意事项如下。

1. 论著文章 5 000 字以内(包括摘要、图表及参考文献);论著采用结构式摘要(含目的、方法、结果和结论),摘要篇幅以 200~400 个汉字为宜,并有完整的英文摘要(含文题、作者、单位、摘要和关键词);关键词以 3~8 个为宜;论著引用参考文献要求达到 20 条以上。

2. 论文如属国家自然科学基金项目或省、部级以上重点攻关课题、其他科研基金资助的项目,请在文稿首页脚注“【基金项目】×××科研资助项目(编号)”,如获专利请注明专利号。本刊对重大研究成果、国家自然科学基金、卫生部科研基金、省科技厅项目,将优先发表。

3. 本刊已全部实行网上投稿,请通过《心血管病学进展》杂志的稿件远程处理系统投稿(登录 <http://xxgbxzz.paperopen.com> 后,点击“作者投稿”,在“作者投稿管理平台”中投稿)。网上投稿成功后还需报送以下材料:(1)稿件处理费 50 元(可通过手机银行转账)。(2)推荐信(可发电子版):来稿需经作者单位审核,并附单位推荐信。推荐信应注明对稿件的审评意见以及无一稿多投、不涉及保密、署名无争议等项,并加盖公章。如涉及保密问题,需附有关部门审查同意发表的证明。(3)若此项研究为基金项目者,需附基金批文复印件(可发电子版)。

本刊编辑部