

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.26.011

## 高原人群铁调素基因单核苷酸多态性研究\*

张勇群<sup>1</sup>,雷 鸣<sup>2</sup>,施 静<sup>1</sup>,邓昭敏<sup>1</sup>,何 华<sup>1</sup>,邹云红<sup>1△</sup>

(1. 西藏自治区人民政府驻成都办事处医院,成都 610041;2. 西藏大学理学院,拉萨 850000)

**[摘要]** **目的** 了解铁调素基因(hamp)基因单核苷酸多态性(SNP)各等位基因及基因型在中国高原人群中的分布频率,比较其在不同种族间分布的差异。**方法** 采用单碱基延伸的 PCR 技术和 DNA 测序法检测高原人群的 hamp 基因 SNP,选取 197 例藏族和 190 例汉族高原人群(西藏)作为研究对象,并结合人类基因组计划公布的 4 个人群[欧洲人群、非洲人群、日本人群及平原人群(北京)和千人基因组计划公布的 5 个人群(东亚、欧洲、非洲、美国和南亚)]的 SNP 分型数据,比较基因型及等位基因频率分布差异。**结果** 在本研究中发现高原人群(西藏)存在 8 个 SNP 位点,均位于 hamp 基因内含子区,与平原人群(北京)在 8 个位点中差异均无统计学意义;与其他人群相比,在 rs8101606 位点上与欧洲人群和非洲人群相比差异有统计学意义,在 rs7251432 上与日本人群和非洲人群相比差异有统计学意义,在 rs2293689 位点上与欧洲人群和日本人群差异有统计学意义,在 rs55863037A/G 等位基因频率上仅与欧洲人群比较差异有统计学意义。**结论** 在高原人群(西藏)中存在 hamp 基因多态性,与其他种族人群比较有明显差异。

**[关键词]** 藏族;铁调素基因;多态性,单核苷酸**[中图分类号]** R34**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2018)26-3401-05

## Study on single nucleotide polymorphism of hamp gene in plateau population\*

ZHANG Yongqun<sup>1</sup>, LEI Ming<sup>2</sup>, SHI Jing<sup>1</sup>, DENG Zhaoming<sup>1</sup>, HE Hua<sup>1</sup>, WU Yunhong<sup>1△</sup>

(1. Hospital of Chengdu Office of Tibetan Autonomous Region People's Government, Chengdu, Sichuan 610041, China; 2. College of Science, Tibet University, Lasa, Tibet 850000, China)

**[Abstract]** **Objective** To understand the distribution frequencies of alleles and genotypes in hamp gene single nucleotide polymorphisms (SNP) in plateau population, and to compare their distribution differences among different ethnic groups. **Methods** The hamp gene SNP in plateau population was detected by adopting the single-base extension PCR and DNA sequencing. One hundred and ninety-seven cases of Zang nationality and 190 cases of Han nationality in the highland population of China (Tibet) were selected as the study subjects. Then the genotype and allele frequency distribution differences were compared by combining with the SNP classification data of the four groups European, African, Japanese and plain population(Beijing) published by the Human Genome Project and the five groups (East Asia, Europe, Africa, America and South Asia) published by the One Thousand - Genome Project. **Results** The study found that 8 SNP loci existed in the highland populations (Tibet), which all were located in the intron area of hamp gene. No statistically significant difference in 8 loci was found between the highland population and the plain population (Beijing). Compared with the other populations, the difference at the rs8101606 locus compared with Europe population and Africa population had statistical significance; the difference at the rs7251432 locus compared with Japan population and Africa population had statistical significance, the difference at the rs2293689 locus compared with Europe population and Japan population had statistical significance, and the difference in the rs55863037A/G allele frequency only compared with Europe population had statistical significance. **Conclusion** The hamp gene polymorphism exists in the highland population of China (Tibet), which shows significant difference compared with other ethnic groups.

**[Key words]** Zang nationality; hamp; polymorphism, single nucleotide铁调素是由肝脏合成并分泌的抗菌多肽,是调节 体内铁稳态的关键物质<sup>[1]</sup>,与多种疾病有关,因而对

\* 基金项目:西藏科技厅 2017 年重点研发与转化计划项目(ZH20170003)。作者简介:张勇群(1976—),副教授,博士,主要从事高原相关疾病研究。△ 通信作者,E-mail:wu\_yunhong@163.com。

铁调素基因开展全面研究具有重要意义<sup>[2-4]</sup>。单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)对探索由单个核苷酸的变异所引起的 DNA 序列多态性,了解疾病病因及病理过程有指导作用<sup>[5]</sup>。有研究曾表明高原人群中的铁蛋白含量高于汉族人群<sup>[6]</sup>,铁代谢失调可能是主要原因,而铁调素基因核苷酸多态性在藏族人群对铁调素基因的表达是否有影响还少见报道。因此,本研究通过对西藏藏族和汉族人群的铁调素基因(hamp)进行研究,为 hamp 内含子区 SNP 与铁代谢相关疾病是否有关联奠定基础。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 自 2016 年 9 月 1 日至 2017 年 8 月 31 日从西藏自治区人民政府驻成都办事处医院常规体检健康者中随机选取 387 例,其中藏族 197 例,汉族 190 例,年龄 18~60 岁。研究对象均长期居住在西藏地区,所有研究对象对本研究知情同意。

### 1.2 方法

**1.2.1 血液收集与 DNA 提取** 用乙二胺四乙酸三钾(EDTA-K<sub>3</sub>)抗凝采血管收集所有对象外周静脉血 2 mL,使用血液基因组 DNA 提取试剂盒提取 DNA(天根生化科技有限公司),-80 °C 保存备用。

**1.2.2 引物的设计与合成** 采用 PCR 分析方法检测 hamp 基因 SNP。引物使用 Primer5 软件设计(表 1),由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

表 1 6 对引物序列及基本信息

引物名称	引物序列	PCR 产物	
		退火温度 (°C)	大小
hamp1	5'-CAA CCC TGT TCC CTG TCG-3'(F)	56.5	382
	5'-AGT GCT CGG GTG TCT CCA-3'(R)		
hamp2	5'-GTT CCC GCT TAT CTC TCC CG-3'(F)	60.0	971
	5'-CTA CTG TGT GGC GAA TGG GT-3'(R)		
hamp3	5'-ATG AAG CAC CGA GTG ACA GG-3'(F)	60.0	692
	5'-GCT TAT GGG GGC TTC CTC TT-3'(R)		
hamp4	5'-GTG GGA CTT GGG GAT AAG GC-3'(F)	60.0	586
	5'-AGA GGT GGG GTC TGG TTG TG-3'(R)		
hamp5	5'-AGA AAA CCA CAA TCT CAC TGG C-5'(F)	59.5	813
	5'-GGA AGG GAA TGT GAG CAG GG-3'(R)		
hamp6	5'-AAG GCC CCT CCT AAG AGT CC-3'(F)	59.2	602
	5'-CAA CCT CCA GGA CAC ACC AG-3'(R)		

**1.2.3 PCR 扩增体系与条件** 采用 30  $\mu$ L 的 PCR 反应扩增体系,其中包含 2 $\times$ mix(TsingKe)15  $\mu$ L、浓度为 100  $\mu$ mol/L 的 F/R 引物各 2  $\mu$ L、浓度为 80  $\mu$ g/mL 的 DNA 模板 2  $\mu$ L 和 ddH<sub>2</sub>O 9  $\mu$ L。反应条件:95 °C 预变性 5 min,94 °C 变性 30 s,特定退火温度退火 30 s,72 °C 延伸 30 s,重复 30 个循环。PCR 产物经纯化后用 AB 3730 $\times$ L Genetic Analyzer 测序仪进行测序,测序结果用 chromas1.62 进行基因型分析。

**1.3 统计学处理** 采用基因直接计算法计算所有 SNP 位点的基因型和等位基因频率,并将本研究的基因多态性分布频率与 SNP 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>)公布的其他人群(欧洲、非洲、日本和中国北京)的 SNP 分型数据进行比较,统计分析软件为 SPSS17.0,计数资料用率表示,比较采用  $\chi^2$  检验和 Fisher's 精确检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 高原人群(西藏)铁调素基因 SNP 位点检测与分析** SNP 检测结果发现,在高原人群中检测出 8 个 SNP 位点,经与 NCBI 数据库比对发现,注册号分别为 rs8101606、rs7251432、rs2293689、rs10416533、rs55863037 和 rs149358257,其中 rs7251432 位点以 AG 基因型最多见,在高原人群中占 52.46%;rs10416533 位点以 TT 基因型最多见,在高原人群中占 66.67%;rs55863037 位点以 GG 基因型最多见,在高原人群中占 56.07%;rs8101606 位点以 AA 基因型最多见,在高原人群中占 98.19%;rs2293689 位点以 CC 基因型最多见,在高原人群中占 89.95%;rs149358257 位点以 GG 基因型最多见,在高原人群中占 99.74%,见表 2。

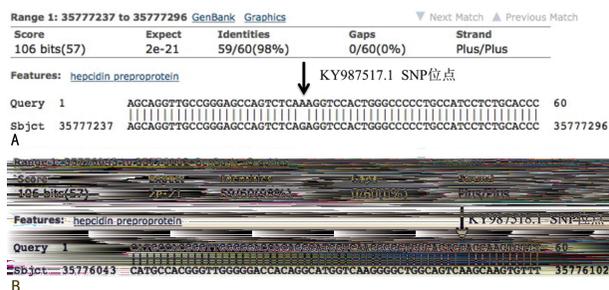
除检测到的上述 6 个 SNP 位点外,本研究发现了 2 个铁调素基因的 SNP 位点,现已提交到 SNP 数据库(注册号 KY987517.1、KY987518.1),见图 1A、B。其中 KY987517.1 位点以 GG 基因型最多见,在高原人群中占 82.43%,以 G 等位基因最常见,在人群中占 91.21%;KY987518.1 位点以 AA 基因型最多见,在高原人群中占 99.74%,以 A 等位基因最常见,在人群占 99.87%(表 2)。

表 2 高原人群(西藏)中发现的 8 个 SNP 位点基因型频数及等位频率[n(%),n=387]

SNP 位点	基因型			SNP 位点	等位基因	
rs7251432	AA	GA	GG	rs7251432	A	G
	111(28.68)	203(52.46)	73(18.86)		425(54.91)	349(45.09)
rs10416533	CC	CT	TT	rs10416533	C	T
	7(1.81)	122(31.52)	258(66.67)		136(17.57)	638(82.43)
rs55863037	AA	GA	GG	rs55863037	A	G
	17(4.39)	153(39.53)	217(56.07)		187(24.16)	587(75.84)

续表 2 高原人群(西藏)中发现的 8 个 SNP 位点基因型频数及等位频率[n(%), n=387]

SNP 位点	基因型		SNP 位点	等位基因	
rs8101606	AC	AA	rs8101606	A	C
	7(1.81)	380(98.19)		767(99.10)	7(0.09)
rs2293689	CC	CT	rs2293689	C	T
	348(89.95)	39(10.05)		735(94.96)	39(5.04)
rs149358257	GG	GA	rs149358257	G	A
	386(99.74)	1(0.26)		773(99.87)	1(0.13)
KY987517.1	GG	GT	KY987517.1	G	T
	319(82.43)	68(17.57)		706(91.21)	68(8.79)
KY987518.1	AA	AT	KY987518.1	A	T
	386(99.74)	1(0.26)		773(99.87)	1(0.13)



A:KY987517.1 SNP 位置;B:KY987518.1 SNP 位置

图 1 高原人群(西藏)中新发现的 2 个 SNP 位点的位置

**2.2 高原人群(西藏)中藏族与汉族之间的铁调素基因多态性分布情况** 除了在新发现的 KY987518.1 位点上没有发现基因型 AT 的汉族外,其余 KY987517.1 基因型以及 rs8101606、rs2293689、rs149358257、rs7251432、rs10416533、rs55863037 的 7 个位点在高原人群(西藏)的藏族和汉族两组间分布差异均无统计学意义 ( $P>0.05$ ),见表 3。

**2.3 高原人群(西藏)与人类基因组计划数据库中 4 个人群的 SNP 比较** 人类基因组计划数据库中的 hamp 的基因多态性 rs8101606、rs7251432 以及 rs2293689 与高原人群(西藏)相比,在这 3 个 SNP 位点上与平原人群(北京)相比均差异无统计学意义,而在 rs8101606 位点上高原人群(西藏)与欧洲人群和非洲人群相比差异有统计学意义,在 rs7251432 上与日本和非洲人群相比差异有统计学意义,在 rs2293689 位点上与欧洲和日本人群差异有统计学意义(表 4),这可能与高原人群(西藏)与欧洲、非洲及日本的种族差异有关。

**2.4 高原人群(西藏)铁调素基因 SNP 与千人基因组计划中 5 个人群的比较** 千人基因组计划数据库中的单核苷酸多态性等位基因 rs10416533、rs55863037 和 rs149358257 频率数据,与高原人群(西藏)对比,结果发现,在 rs10416533C/T 等位基因频率上与东亚、欧洲、非洲和南亚均差异无统计学意

义;在 rs55863037A/G 等位基因频率上仅与欧洲人群差异有统计学意义,与其他 4 个人群均差异无统计学意义;在 rs149358257 位点的 GA 基因型只出现在高原人群(西藏)和东亚人群,而欧洲、非洲、美国、南亚人群均未发现(表 5)。

表 3 高原人群(西藏)中的铁调素 SNP 基因型频率比较[n(%)]

SNP 位点	民族	n	基因型		P	
KY987517.1			GG	GT		
	藏族	197	182(47.03)	35(9.04)	0.086	
汉族	190	137(35.40)	33(8.53)			
KY987518.1			AA	AT		
	藏族	197	196(99.49)	1(0.51)	0.325	
汉族	190	190(100)	0			
rs8101606			AC	AA		
	藏族	197	4(2.03)	193(97.97)	0.739	
汉族	190	3(1.58)	187(98.42)			
rs2293689			CC	CT		
	藏族	197	180(91.37)	17(8.63)	0.335	
汉族	190	168(88.42)	22(11.58)			
rs149358257			GG	GA		
	藏族	197	197(100)	0	0.308	
汉族	190	189(99.47)	1(0.53)			
rs7251432			AA	GA	GG	
	藏族	197	56(28.43)	103(52.28)	38(19.29)	0.841
汉族	190	55(28.95)	100(52.63)	35(18.42)		
rs10416533			CC	CT	TT	
	藏族	197	6(3.05)	67(34.01)	124(62.94)	0.053
汉族	190	1(0.53)	55(28.95)	134(70.53)		
rs55863037			AA	GA	GG	
	藏族	197	12(6.09)	81(41.62)	104(52.79)	0.086
汉族	190	5(2.64)	72(37.89)	113(59.47)		

表 4 高原人群(西藏)与人类基因组计划研究的 4 个人群中铁调素基因的 SNP 基因型频率比较(%)

人群	rs8101606			rs7251432			rs2293689		
	AC	AA	CC	AA	GA	GG	CC	CT	TT
高原人群(西藏)	1.81	98.19	0	28.68	52.46	18.86	89.95	10.05	0
平原人群(北京)	2.44	97.60	0	39.00	48.80	12.20	88.90	8.89	2.20
<i>P</i>		0.706			0.403			0.388	
欧洲	36.30	61.10	2.70	24.10	51.80	24.10	100	0	0
<i>P</i>		<0.01			0.306			<0.01	
日本	5.81	94.20	0	47.70	47.70	4.65	79.60	15.90	4.50
<i>P</i>		0.149			<0.01			0.020	
非洲	23.00	74.30	2.70	73.50	24.80	1.77	85.00	15.00	0
<i>P</i>		<0.01			<0.01			<0.01	

表 5 高原人群(西藏)与千人基因组计划研究的 5 个人群中铁调素基因的 SNP 等位基因频率比较(%)

人群	rs10416533		rs55863037		rs149358257	
	C	T	A	G	G	A
高原人群(西藏)	17.57	82.43	24.16	75.84	99.87	0.13
东亚	16.57	83.43	22.42	77.58	99.40	0.60
<i>P</i>	0.852 4		0.736 8		1.000 0	
欧洲	12.62	87.38	13.02	86.98	100	0
<i>P</i>	0.328 6		0.045 2		0.316 1	
非洲	16.79	83.21	25.34	74.66	100	0
<i>P</i>	0.852 4		0.869 4		0.316 1	
美国	21.18	78.82	24.21	75.79	100	0
<i>P</i>	0.592 4		1.000 0		0.316 1	
南亚	15.64	84.36	14.93	85.07	100	0
<i>P</i>	0.706 6		0.108 2		0.316 1	

### 3 讨 论

铁调素是一种由肝细胞分泌后释放到人血浆的细胞因子诱导的抗菌蛋白,在铁代谢中起关键作用,过多则会促进自由基的产生,引发神经退行性变及多种老年疾病,过少则会造成贫血等多种疾病,给人类的健康造成了极大的影响<sup>[7-8]</sup>。由于本院普遍存在藏族人群铁蛋白水平高于汉族人群,这一现象是否与不同民族之间基因型有关,目前还不清楚<sup>[9]</sup>。为了解不同人群中铁代谢的差异原因,给临床治疗提供理论基础,对基因 SNP 的研究很有必要。因此,本研究开展了高原人群的铁调素基因 SNP 研究,由此来探索高原地区人群与不同人群的基因型与铁代谢之间的相关性。

本研究中发现高原人群,在 rs8101606、rs7251432、rs55863037 与人类基因组计划中公布的人群有统计学差异。本研究还发现在高原人群存在一个 rs149358257A/G 位点,只在东亚人群中发现,推测 rs149358257A/G 位点可能是东亚人群所特有

的<sup>[10]</sup>。因此,本研究推测 hamp 的 SNP 位点的基因型分布可能与种族差异有关。而在本研究中还未发现 hamp 的某一 SNP 位点与铁蛋白含量失偿有关,但有研究表明 hamp 的 SNP 位点中 rs7251432 在胆管闭锁患者和健康人之间无显著差异<sup>[11]</sup>;CHEN 等<sup>[12]</sup>研究发现 hamp 基因 rs7251432 位点基因型和等位基因频率在青藏高原汉族人群丙型肝炎和健康人群之间无显著差异;LILLVIS 等<sup>[13]</sup>研究发现 hamp 基因 rs7251432A/G 位点等位基因频率分布在腹主动脉瘤患者与健康人群之间有差异。在对肝癌基因进行生物信息学分析中发现 hamp 为核心基因<sup>[14]</sup>。由此说明 hamp 基因与疾病是有一定的关联的。但是,高原人群(西藏)的铁蛋白水平的升高是否属于铁代谢失调而引起其他疾病,以及是否会引起其他疾病,在本研究中还未能进行进一步的研究,在后续待收集到足够多的研究对象将进一步研究高原人群铁蛋白水平高的机制。利用医院的优势对藏区人群进行 hamp 的 SNP 位点的研究也是本研究的创新之处。

综上所述,hamp 基因 SNP 位点基因型和等位基因频率分布在不同人群中均存在差异,符合遗传学规律,即亲缘关系越远,其基因型和等位基因频率差异越显著,反之则越相似<sup>[15]</sup>。

目前,越来越多的研究发现,SNP 能影响到基因的功能<sup>[16]</sup>。本研究通过对高原人群 hamp 基因 SNP 分型数据研究发现检测到的 8 个 SNP 位点,都位于 hamp 基因的内含子区,而且,在不同的人群中 SNP 的频率存在差异,为研究不同人群 hamp 基因 SNP 和铁代谢相关疾病的发生发展之间的关系提供理论依据,有利于认识临床上与 hamp 基因相关的铁代谢疾病在不同种族和地域所表现出来的差异,进一步为疾病的诊断提供重要的分子遗传数据。

### 参考文献

[1] LIU J, SUN B B, YIN H J, et al. Hepcidin: a promising

- therapeutic target for Iron disorders: a systematic review [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2016, 95(14): 3150-3163.
- [2] DEN ELZEN W P, DE CRAEN A J, WIEGERINCK E T, et al. Plasma hepcidin levels and anemia in old age. The Leiden 85-Plus Study [J]. *Haematologica*, 2013, 98(3): 448-454.
- [3] DOSTALIKOVA-CIMBUROVA M, KRATKA K, BALUSIKOVA K, et al. Duodenal expression of Iron transport molecules in patients with hereditary hemochromatosis or Iron deficiency [J]. *J Cell Mol Med*, 2012, 16(8): 1816-1826.
- [4] TESFAY L, CLAUSEN K A, KIM J W, et al. Hepcidin regulation in prostate and its disruption in prostate cancer [J]. *Cancer Res*, 2015, 75(11): 2254-2263.
- [5] PLYLER Z E, HILL A E, MCATEE C W, et al. SNP formation bias in the murine genome provides evidence for parallel evolution [J]. *Genome Biol Evol*, 2015, 7(9): 2506-2519.
- [6] 赵光斌, 符本琪, 白萍. 高原人血清铁蛋白、转铁蛋白测定及临床意义 [J]. *四川医学*, 2003(12): 1292-1293.
- [7] RAHA A A, VAISHNAV R A, FRIEDLAND R P, et al. The systemic iron-regulatory proteins hepcidin and ferroportin are reduced in the brain in Alzheimer's disease [J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2013, 1(9): 55-74.
- [8] SUN C C, VAJA V, CHEN SHANZHUO, et al. A hepcidin lowering agent mobilizes Iron for incorporation into red blood cells in an adenine-induced kidney disease model of anemia in rats [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2013, 28(7): 1733-1743.
- [9] 任晓艳. 慢性高原病患者血清中 Hepcidin 的表达研究 [D]. 西宁: 青海大学, 2014.
- [10] HATTORI A, TOMOSUGI N, TATSUMI Y, et al. Identification of a novel mutation in the HAMP gene that causes non-detectable hepcidin molecules in a Japanese male patient with juvenile hemochromatosis [J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2012, 48(3): 179-182.
- [11] CAKIR M, ERDURAN E, TURKMEN E S, et al. Hepcidin levels in children with chronic liver disease [J]. *Saudi J Gastroenterol*, 2015, 21(5): 300-305.
- [12] CHEN Y, JIANG C H, LUO Y J, et al. Interaction of CARD14, SENP1 and VEGFA polymorphisms on susceptibility to high altitude polycythemia in the Han Chinese population at the Qinghai-Tibetan Plateau [J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2016, 57(3): 13-22.
- [13] LILLVIS J H, KYO Y, TROMP G, et al. Analysis of positional candidate genes in the AAA1 susceptibility locus for abdominal aortic aneurysms on chromosome 19 [J]. *BMC Med Genet*, 2011, 12(9): 14-27.
- [14] 胡金玉. 肝癌基因的生物信息学研究 [D]. 天津: 天津大学, 2013.
- [15] BECKER F, VAN EL C G, IBARRETA D, et al. Genetic testing and common disorders in a public health framework: how to assess relevance and possibilities. Background Document to the ESHG recommendations on genetic testing and common disorders [J]. *Eur J Hum Genet*, 2011, 19(Suppl 1): S6-44.
- [16] NIU D K, YANG Y F. Why eukaryotic cells use introns to enhance gene expression: splicing reduces transcription-associated mutagenesis by inhibiting topoisomerase I cutting activity [J]. *Biol Direct*, 2011, 6(5): 24.

(收稿日期: 2018-03-02 修回日期: 2018-05-10)

(上接第 3400 页)

- [5] 廖素群, 郑希付. 认知重评对负性效应的抑制促进条件性恐惧消退 [J]. *心理学报*, 2016, 48(4): 352-354.
- [6] MADDEN J R, MOWRY P, GAO D, et al. Creative arts therapy improves quality of Life for pediatrics brain tumor patients receiving outpatients chemotherapy [J]. *JPediatric Oncol Nurs*, 2010, 27(3): 133-145.
- [7] TAYLOR R S, SAGAR V A, DAVIES E J, et al. Exercise-based reha-bilitation for heart failure [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2014, 4: CD003331.
- [8] SAGAR V A, DAVIES E J, BRISCOE S, et al. Exercise-based reha-bilitation for heart failure: Systematic review and meta-analysis [J]. *Open Heart*, 2015, 2: e000163.
- [9] SMITH A. Effect of telemonitoring on re-admission in patients with heart failure [J]. *Medsurg Nurs*, 2013, 22(1): 39-41.
- [10] YANCY C, JESSUP M, BOZKURT B, et al. ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2013, 62(16): 147-239.
- [11] VEST A R, WU YU-PING, HACHAMOVITCH R, et al. REPLY: concerning the role of gender difference in obesity paradox in patients with heart failure [J]. *JACC Heart Fail*, 2016, 4(3): 235-236.
- [12] BELLO N A, LEWIS E F, DESAI A S, et al. Increased risk of stroke with darbepoetin alfa in anaemic heart failure patients with diabetes and chronic kidney disease [J]. *Eur J Heart Fail*, 2015, 17(11): 1201-1207.
- [13] 陈娟, 赵书娥. 慢性心力衰竭患者自我护理行为的研究进展 [J]. *中华护理杂志*, 2015, 50(3): 360-364.
- [14] 刘海兰. 超声新技术在心脏再同步化治疗术后评价中的应用进展 [J]. *心血管病学进展*, 2013, 34(4): 544-547.

(收稿日期: 2018-03-20 修回日期: 2018-04-28)