

心血管疾病

DOI:10.13406/j.cnki.cyx.001619

介入法建立大鼠冠状动脉微栓塞模型

张振国¹,李雪峰¹,朱淑珍²,朱 岩²,张淑琴³,赵俊男¹,周 净¹,王 莹¹

(1. 兰州大学基础医学院;2. 甘肃省人民医院心内科;3. 甘肃卫生职业学院人体解剖教研室,兰州 730000)

【摘要】目的:探讨自体血栓颗粒经右颈总动脉介入法建立大鼠冠状动脉微栓塞模型。**方法:**36 只雄性 SD 大鼠随机分为:模型 24 h 组($n=10$)、模型 30 d 组($n=10$)、假手术组($n=10$)、空白组($n=6$)。模型 24 h 组、模型 30 d 组用介入法将 0.5 mL 大鼠自身血栓颗粒注入其主动脉根部,制成冠状动脉微栓塞模型。模型 24 h 组和模型 30 d 组分别在造模术 24 h 后、30 d 后采血并处死大鼠,假手术组和空白组在 30 d 后处死大鼠。摘取心脏,取左心室前壁、心尖部切片,经 HE 染色、马休黄猩红蓝染色、苏木素碱性复红苦味酸染色计数栓塞的冠状微动脉阳性数量、缺血心肌的面积。**结果:**HE 染色显示模型 24 h 组[(47.23 ± 6.20)%]、模型 30 d 组[(62.88 ± 15.68)%]被栓塞的阳性微动脉数量明显高于假手术组[(6.75 ± 5.23)%], $P<0.008$;马休黄猩红蓝染色显示模型 24 h 组[(46.20 ± 10.41)%]、模型 30 d 组[(55.30 ± 16.34)%]被栓塞的阳性微动脉数量明显高于假手术组[(8.13 ± 8.80)%], $P<0.008$;苏木素碱性复红苦味酸染色显示模型 24 h 组[(2.46 ± 1.41)%]、模型 30 d 组[(6.52 ± 2.22)%]染色阳性缺血面积明显高于假手术组[(0.05 ± 0.02)%], $P<0.017$ 。**结论:**介入法将大鼠自身血栓颗粒注入其冠状动脉内可以建立稳定、可靠、经济的冠状动脉微栓塞模型。

【关键词】介入法;大鼠;冠脉微栓塞;动物模型**【中图分类号】**R541.4**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2016-11-27

Establishment of a model of coronary microembolization in rats by intervention

Zhang Zhenguo¹, Li Xuefeng¹, Zhu Shuzhen², Zhu Yan², Zhang Shuqin³, Zhao Junnan¹, Zhou Jing¹, Wang Ying¹

(1. Lanzhou University, School of Basic Medical Sciences; 2. Gansu Provincial Hospital, Department of Cardiology; 3. Gansu Health Vocational College, Department of Human Anatomy)

【Abstract】Objective: To study the feasibility of establishing the coronary microembolization in rats with injecting autologous micro thrombus particles by intervention via right common carotid artery. **Methods:** The 36 rats were randomly divided into 4 groups: 24 hours coronary microembolization of model group ($n=10$), 30 days coronary microembolization of model group ($n=10$), sham group ($n=10$) and normal group ($n=6$). The rats in the coronary microembolization model group received 0.5 mL suspension of micro thrombus particles into the root of aorta by intervention through the right common carotid artery. The sham group rats were injected the same volume of normal saline. The rats of 24 hours model group and 30 days model group were sacrificed on

作者介绍:张振国, Email: 1303922010@qq.com,

研究方向:冠状动脉微栓塞防治。

通信作者:李雪峰, Email: lixuefeng@lzu.edu.cn。**基金资助:**中央高校基本科研费资助项目(编号: lzujbky-2011-85);

甘肃省中医药管理局科研课题资助项目(编号: GZK-2016-15、GZK-2011-17)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20180408.1534.080.html>
(2018-04-08)

- [15] Rigolli M, Whalley GA. Heart failure with preserved ejection fraction[J]. J Geriatr Cardiol, 2013, 10(4): 369-376.
- [16] Sharma K, Kass DA. Heart failure with preserved ejection fraction: mechanisms, clinical features, and therapies[J]. Circ Res, 2014, 115(1): 79-96.
- [17] Zhang L, Nan C, Chen Y, et al. Calcium desensitizer catechin reverses diastolic dysfunction in mice with restrictive cardiomyopathy[J]. Arch Biochem Biophys, 2015, 573: 69-76.
- [18] Bauer AJ, Martin KA. Coordinating regulation of gene expression in cardiovascular disease: interactions between chromatin modifiers and transcription factors[J]. Front Cardiovasc Med, 2017, 4: 19.

- [19] Stefanovic S, Christoffels VM. GATA-dependent transcriptional and epigenetic control of cardiac lineage specification and differentiation[J]. Cell Mol Life Sci, 2015, 72(20): 3871-3881.
- [20] Di Lisi R, Millino C, Calabria E, et al. Combinatorial cis-acting elements control tissue-specific activation of the cardiac troponin I gene in vitro and in vivo[J]. J Biol Chem, 1998, 273(39): 25371-25380.
- [21] Li Y, Yuan YY, Meeran SM, et al. Synergistic epigenetic reactivation of estrogen receptor- α (ER α) by combined green tea polyphenol and histone deacetylase inhibitor in ER α -negative breast cancer cells[J]. Mol Cancer, 2010, 9: 274.

(责任编辑:冉明会)

scheduled dates, respectively. The left ventricular anterior and heart apex were cut into the serial sections at the thickness of 5 μm . HE staining and martius-sarlet-blue staining were used to observe the ingredients of the vascular embolus and the number of positive arteries embolization. Hematoxylin-basic-fuchsin-picric staining was used to study the area of myocardial ischemia. **Results:** The numbers of positive arteries embolization of the 24 h model group[(47.23 $\pm$ 6.20)%], the 30 days model group[(62.88 $\pm$ 15.68)%] were significantly higher than that of the sham group[(6.75 $\pm$ 5.23)%] in the HE staining($P < 0.008$). There was no significant difference between the sham group and normal group. The amounts of positive arteries embolization of the 24 hours model group [(46.20 $\pm$ 10.41)%] and the 30 days model group[(55.30 $\pm$ 16.34)%] were significantly higher than that of the sham group[(8.13 $\pm$ 8.80)%] in the martius-sarlet-blue staining($P < 0.008$). The area of myocardial ischemia in the 24 h model group[(2.46 $\pm$ 1.41)%] and the 30 days model group[(6.52 $\pm$ 2.22)%] were significantly higher than that of the sham group[(0.05 $\pm$ 0.02)%] in the hematoxylin-basic-fuchsin-picric staining($P < 0.017$). **Conclusion:** The coronary micro-embolization model of the rat can be built successfully and economically with intervention.

[Key words] intervention operation; rats; coronary microembolization; animal model

冠状动脉微栓塞(coronary microembolization, CME)是经皮冠状动脉介入治疗(percutaneous coronary intervention, PCI)和急性心肌梗死溶栓过程中常见并发病理改变,常可导致“无血流”或“慢血流”的发生^[1-2]。而无血流又能造成局灶心肌缺血、缺氧甚至梗死,是心力衰竭、恶性心律失常、心脏猝死的主要原因之一,因此 CME 严重影响患者的预后^[3-6]。CME 主要是粥样硬化斑块的破裂碎片、血栓性碎屑等堵塞与其直径相等微血管,伴随炎症因子参与造成的^[7-8]。目前文献中报道通过介入法将微栓塞球注入冠状动脉建立猪、犬、羊等大型动物冠状动脉微栓塞模型,所用微栓塞球不能反映微栓塞真实病理特点、制作费用高^[9]。因此理想的冠脉微栓塞动物模型是研究 CME 发生分子机制和防治方法重要平台。本研究通过介入法向大鼠主动脉根部注入其自身血栓颗粒建立大鼠冠状动脉微栓塞模型。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

成年雄性 SD 大鼠 36 只,体质量(520 $\pm$ 63) g。购自 xx 中医药大学动物实验中心,实验动物质量合格证:SYXK(甘)2015-0005;实验动物生产许可证:SCXK(甘)2015-0002。将大鼠随机分 4 组。模型 24 h 组(CME 24 h)10 只和模型 30 d 组(CME 30 d)10 只,假手术组 10 只,空白组 6 只。实验过程严格遵守兰州大学动物实验的各项伦理条例。

1.2 主要实验材料

BMW 导丝(用剪刀剪去导丝近中段,保留导丝头端 40 cm),快速交换球囊扩张(percutaneous transluminal coronary

angioplasty, PTCA)导管;SeQuent II 2.0 $\times$ 15 mm 球囊, RM 30atm/440Psi-20 mL 球囊扩张压力泵。

1.3 栓塞剂的制备

自体微血栓混悬液:建模 36 h 前,每只大鼠分别经尾静脉采血 1 mL, 60 $^{\circ}\text{C}$ 烤温箱烘干 24 h 凝成血块,玻璃研磨器研磨 5 min(先后用直径 38 μm 和 90 μm 滤网过滤,留用直径为 38~90 μm 血栓颗粒,呈粉末状),1 mL 生理盐水溶解 15 mg 血栓颗粒的比例配制混悬液,使用混悬振荡器使之成为均匀混悬液。同时使用针头直径 0.5 mm(26 号)的注射器抽吸 0.5 mL 备用^[10-11]。

1.4 实验步骤

术前 8 h,大鼠禁食,不禁水。2%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉(0.4 mL/100 g),仰卧位固定于手术台上。常规颈部备皮消毒,颈部正中切口 2 cm,钝性分离暴露右颈动脉鞘(注意保护甲状腺),玻璃分针钝性分离右颈总动脉及伴行神经。被暴露右颈总动脉段远心端 4 号线结扎,近心端 4 号线打活结,近心端阻断血流,在靠近远心端结扎处用眼科剪剪出“V”形口(占血管直径 1/3),镊子夹持球囊扩张导管(使用前肝素盐水浸泡),送入右颈动脉内 4 cm 到主动脉根部(解剖下测量从颈动脉分叉 0.5 cm 处到升主动脉根部平均距离 4 cm),退出导丝有明显血液回流说明导管成功到达主动脉根部,打起气囊阻断主动脉血流约 10 s,同时经球囊扩张导管导丝腔外出口快速注入 0.5 mL 血栓混悬液,撤压退出球囊扩张导管,结扎右颈动脉近心端,逐层缝合。假手术组大鼠经球囊扩张导管导丝腔外出口注入生理盐水,空白对照组不做处理(图 1)。术后观察 1 h,手术后大鼠独笼饲养,每只每天腹腔注射青霉素 40 万 U,共 3 d,预防感染^[12-13]。

1.5 病理学组织检测

模型组术后 24 h 和术后 30 d,采集心脏用肝素 0.9%氯化钠溶液冲洗,肉眼观察心脏表面的微梗死灶及缺血区大小、分布。分别切取每只大鼠左心室前壁和心尖部心肌(因左冠

前降支血流量大,微动脉被血栓颗粒栓塞概率大。因此取材左室心尖部及前壁心肌,心脏其他部位可见到微动脉栓塞),重点是缺血范围内的心肌石蜡包埋,连续切片制成 5 μm 石蜡切片。进行 HE 染色(hematoxylin-eosin staining, HE)、马休黄猩红蓝染色(martius-sarlet-blue staining, MSB)和苏木素碱性复红苦味酸染色(hematoxylin-basic-fuchsin-picric staining, HBFP)。MSB 染色用于病理状态下血管内外的纤维素染色,其染色结果纤维素呈红色,陈旧纤维呈紫色,细胞核呈蓝色,红细胞呈黄色,与 HE 染色阳性的栓塞血管比较,进一步鉴别血管栓子形成的成分,排除假阳性栓塞的血管。HBFP 用于早期缺血心肌的诊断,染色结果缺血心肌细胞呈红色,正常心肌呈黄色或黄棕色,细胞核呈蓝色^[4]。3 位实验观察者在彼此不知道对方统计结果和实验分组的前提下分别使用计算机显微图像分析系统(IMAGE-pro 6.0 Olympus)观察、记录直径 100 μm 的微动脉栓塞数量,排除由单纯红细胞堆积的假阳性栓塞血管。取 3 位实验者统计结果的平均值进行比较:①HE 染色栓塞阳性血管个数(百分比);②MSB 染色微血管内血栓组成成分和栓塞血管的阳性个数(百分比);③HBFP 染色早期缺血的心肌面积(百分比)。

1.6 统计学处理

数据采用 SPSS 22.0 统计软件分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 Kruskal-Wallis 检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。两两比较经采用 Bonferroni 法校正检验水准。

2 结果

2.1 CME 造模结果

CME 24 h 组造模手术中死亡 2 例,存活 8 只。CME 30 d 组存活 8 只,1 例大鼠出现偏瘫死亡,1 例死亡后尸解发现肠管发黑、胀气,考虑肠梗阻。假手术组死亡 1 例,存活 9 只。

2.2 HE 染色冠脉远端微动脉内有血栓形成阳性血管数量的比较

4 组整体比较 Kruskal-Wallis 检验结果,差异具有统计学意义($\chi^2=24.907, P=0.000$)。由表 1 所示 CME 24 h 组、CME 30 d 组大鼠冠脉远端微动脉栓塞后可致其所支配的心肌缺血形成微小心肌梗死灶、栓塞的阳性微动脉数量明显高于假手术组,差异均具有统计学意义。CME 24 h 组、CME 30 d 组

与空白组比较,阳性血管计数差异均具有统计学意义。假手术组与空白组比较,栓塞的微动脉数量没有明显变化,差异无统计学意义。图 1 所示模型组大鼠冠脉远端微动脉中,有栓子阳性栓塞血管周围有炎症细胞积聚,假手术组、空白组冠脉远端微动脉中未见栓子。由此可见,模型组用自体血栓颗粒可引起大鼠冠脉远端微动脉的栓塞。

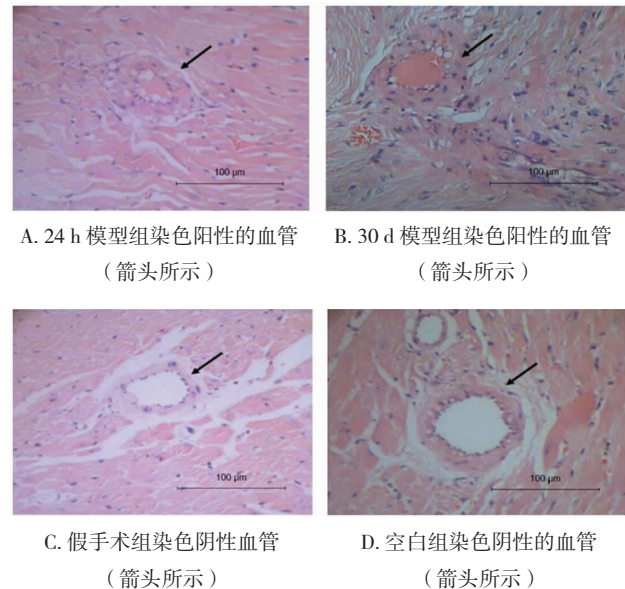


图 1 HE 染色(400 $\times$)

Fig.1 HE staining(400 $\times$)

2.3 MSB 染色冠脉远端微动脉血栓形成阳性血管数量的比较

4 组整体比较 Kruskal-Wallis 检验结果,差异具有统计学意义($\chi^2=23.261, P=0.000$)。由表 2 所示 CME 24 h 组、CME 30 d 组的微动脉血管内纤维蛋白染色阳性的血管数量明显高于假手术组,差异均具有统计学意义。CME 24 h 组、CME 30 d 组与空白组比较,差异均具有统计学意义。假手术组与空白组比较血管内纤维蛋白染色阳性的数量没有明显的变化,差异无统计学意义。图 2 所示模型组大鼠冠脉内有明显的栓子,假手术组、空白组冠脉血管内没有任何栓子,MSB 染色法中血管内红细胞被染成黄色,进而可以排除由红细胞堆积形成的假阳性栓塞。上述结果说明通过介入法注入大鼠自身的血栓颗粒可引起明显的微动脉栓塞。

表 1 HE 染色阳性栓塞血管数量的比较

Tab.1 Comparison of the number of positive embolization in HE staining among four groups

组别	例数	微梗死灶	阳性血管数量(%)	Z 值	P 值
24 h 模型组	8	心尖部和左室前壁	47.23 $\pm$ 6.20	-3.464 ^a	0.001
30 d 模型组	8	心尖部和左室前壁	62.88 $\pm$ 15.68	-3.102 ^b	0.002
假手术组	9	无	10.68 $\pm$ 6.29	-3.464 ^c	0.001
空白组	6	无	6.75 $\pm$ 5.23	-3.102 ^d	0.002

注:两两比较经 Bonferroni 校正, $P=0.0083$ 。a:24 h 模型组与假手术组比较;b:30 d 模型组与空白组比较;c:30 d 模型组与假手术组比较;d:24 h 模型组与空白组比较。其他两两比较差异均无统计学意义, $P>0.0083$

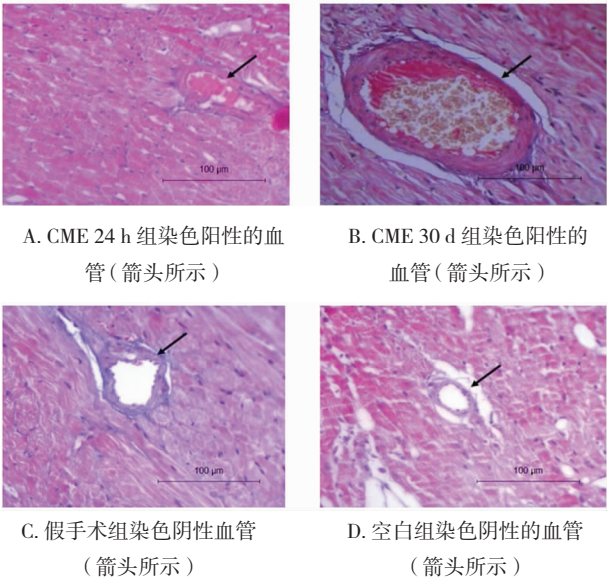


图 2 MSB 染色(400×)
Fig.2 MSB staining(400×)

2.4 HBFP 染色比较缺血心肌的面积

计算染色阳性缺血心肌面积与视野区心肌总面积的比值。肉眼大体观察 CME 30 d 组心脏缺血面积大于 CME 24 h 组,主要是因为持续的心肌缺血造成心肌梗死灶面积扩大,相应的缺血区域扩大。空白组大鼠缺血心肌面积统计数据均为 0。3 组整体比较 Kruskal-Wallis 检验结果,差异具有统计学意义 ($\chi^2=20.234, P=0.000$)。表 3 显示 CME 30 d 组与假手术组比较、CME 24 h 组与假手术组比较、CME 24 h 组与 CME 30 d 组缺血面积比较,差异均有统计学意义。结果显示模型组心肌染色阳性面积明显大于假手术组,说明大鼠微动

脉内的微血栓阻断所在血管的血流,影响其所支配区域心肌血液供应,造成心肌缺血。图 3 显示模型组大鼠心肌缺血面积被染成红色,假手术组、空白组未见大面积染成红色的心肌。

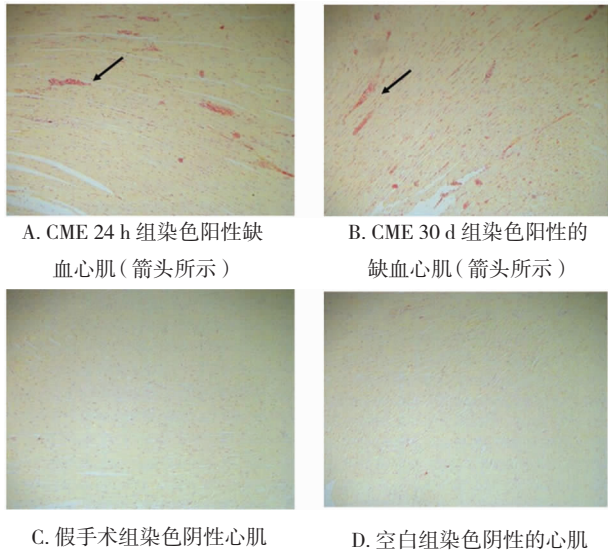


图 3 HBFP 染色(100×)
Fig.3 HBFP staining(100×)

3 讨 论

理想的冠脉微栓塞动物模型是研究冠脉微栓塞分子机制和防治方法的重要平台。文献报道最多的经典制作冠脉微栓塞动物模型方法有:一是通过开胸暴露大鼠升主动脉后,将栓塞剂注射到阻断升

表 2 MSB 染色阳性微栓塞血管的比较

Tab.2 Comparison of the number of positive embolization in MSB staining among four groups

组 别	例数	微梗死灶	阳性血管数量 (%)	Z 值	P 值
24 h 模型组	8	心尖部和左室前壁	46.20 ± 10.41	-3.486 ^a	0.000
30 d 模型组	8	心尖部和左室前壁	55.30 ± 16.34	-3.112 ^b	0.002
假手术组	9	无	8.13 ± 8.80	-3.486 ^c	0.000
空白组	6	无	5.78 ± 6.37	-3.112 ^d	0.002

注:两两比较经 Bonferroni 校正,检验水准为 0.008 3。a:24 h 模型组与假手术组比较;b:30 d 模型组与空白组比较;c:30 d 模型组与假手术组比较;d:24 h 模型组与空白组比较。其他两两比较差异均无统计学意义, $P>0.008 3$

表 3 HBFP 染色心肌缺血面积的比较

Tab.3 Comparison of the ischemic area in HBFP staining among four groups

组 别	例数	微梗死灶	缺血面积 (%)	Z 值	P 值
24 h 模型组	8	心尖部和左室前壁	2.46 ± 1.41	-3.464 ^a	0.001
30 d 模型组	8	心尖部和左室前壁	6.52 ± 2.22	-2.941 ^b	0.003
假手术组	9	无	0.05 ± 0.02	-3.464 ^c	0.001
空白组	6	无	0		

注:两两比较经 Bonferroni 校正,检验水准为 0.016 7。a:24 h 模型组与假手术组比较;b:24 h 模型组与 30 d 模型组比较;c:30 d 模型组与假手术组比较

主动脉近端,非选择性地进入冠脉;二是介入途径将栓塞剂选择性地注入小型猪冠脉,均达到阻塞冠脉远端微动脉目的,导致该阻塞微动脉供血区的心肌缺血。其中通过介入途径建立大动物如猪、狗、羊等的冠脉微栓塞动物模型优点明显^[15-16]。本研究应用介入导管法,阻断主动脉血流,将大鼠自身血栓颗粒注入主动脉根部,保证了注入血栓在心脏舒张期进入冠脉系统,形成冠脉微栓塞。HE 染色显示 CME 24 h 组、CME 30 d 组被栓塞的阳性微动脉数量明显高于假手术组;MSB 染色显示 CME 24 h 组、CME 30 d 组被栓塞的阳性微动脉数量明显高于假手术组,说明模型组大鼠自体血栓颗粒进入冠脉远端微动脉形成微栓塞。而 HBFP 染色显示 CME 24 h 组、CME 30 d 组心肌染色阳性的面积明显高于假手术组,说明大鼠微动脉内的微血栓阻断所在血管的血流,影响其所支配区域心肌血液供应,造成心肌缺血。

本研究发明大鼠冠状动脉微栓塞造模方法主要是模拟体内冠脉内斑块破裂引起冠脉机械性栓塞优势在于:①应用介入导管法成功建立了大鼠冠状动脉微栓塞的模型。与 Gu 等^[11]开胸建立大鼠冠状动脉微栓塞模型的方法比较:创伤小,避免了开胸导致的心包内压力变化及对呼吸系统的影响,减少了创伤因素引起的炎症因子变化。同时避免了开胸引发的全身应激反应,手术时间短,模型大鼠存活率很高。该类动物模型可长期随访观察,较好地模拟了临床患者冠脉微栓塞的病理生理变化过程。②血栓微粒能成功诱发大鼠冠脉微栓塞,由于血栓来源自身,且富含血小板、纤维蛋白、红细胞等。该模型更符合冠脉微栓塞时的病理生理学改变。③实验动物选用 SD 大鼠,大大降低了实验成本,且提高模型动物的存活率。本实验存在的不足之处:模型动物采用大鼠,无法进行选择性的冠状动脉微栓塞。

综上所述,通过介入法经右颈总动脉向大鼠主动脉根部注入自身血栓颗粒的建模方法,能够有效建立冠状动脉微栓塞动物模型。为进一步研究冠状动脉微栓塞的病理生理变化机制、探索诊治方法提供了良好的实验动物模型。

伦理批准:本实验研究通过兰州大学伦理委员会批准。

利益冲突:作者郑重声明本实验研究没有任何利益纠纷。

参 考 文 献

- [1] Zhou SS, Tian F, Chen YD, et al. Combination therapy reduces the incidence of no-reflow after primary percutaneous coronary intervention in patients with ST-segment elevation acute myocardial infarction[J]. J Geriatr Cardiol, 2015, 12(2):135-142.
- [2] 苏 强, 李 浪, 周 游, 等. 程序性细胞死亡因子 4 与猪冠状动脉微栓塞致心功能损伤的关系及机制研究[J]. 中国循环杂志, 2015, 30(2):176-181.
- [3] Su Q, Li L, Liu T, et al. Effects of atorvastatin on PDCD4/NF- κ B/TNF- α signaling pathway during coronary microembolization of miniature pigs[J]. Exp Mol Pathol, 2015, 99(3):564-569.
- [4] Liu T, Zhou Y, Wang JY, et al. Coronary microembolization induces cardiomyocyte apoptosis in swine by activating the LOX-1-dependent mitochondrial pathway and caspase-8-dependent pathway[J]. J Cardiovasc Pharmacol Ther, 2016, 21(2):209-218.
- [5] Abdi S, Rafizadeh O, Peighambari M, et al. Evaluation of the clinical and procedural predictive factors of no-reflow phenomenon following primary percutaneous coronary intervention[J]. Res Cardiovasc Med, 2015, 4(2):e25414.
- [6] Zhou H, He XY, Zhuang SW, et al. Clinical and procedural predictors of no-reflow in patients with acute myocardial infarction after primary percutaneous coronary intervention[J]. World J Emerg Med, 2014, 5(2):96-102.
- [7] 蓝景生, 张 震, 罗 薇, 等. 经皮冠状动脉介入术后慢复流老年患者白细胞介素-33/ST2 信号通路表达及临床意义[J]. 中国老年医学杂志, 2016, 36(2):312-314.
- [8] 马国添, 曾志羽, 吴 海, 等. 改良冠状动脉介入术建立猪冠状动脉微栓塞模型[J]. 天津医药, 2014, 42(6):551-553.
- [9] 闫 磊, 童嘉毅. 冠状动脉微循环障碍概述及研究进展[J]. 现代医学, 2013, 41(8):589-591.
- [10] 傅发源, 陈良龙. 一种新的大鼠冠状动脉微栓塞模型[J]. 中国心血管病研究杂志, 2004, 2(4):296-299.
- [11] Gu Y, Bai Y, Wu J, et al. Establishment and characterization of an experimental model of coronary thrombotic microembolism in rats[J]. Am J Pathol, 2010, 177(3):1122-1130.
- [12] Hu L, Bai Y, Gu Y, et al. Establishment of an experimental angiographic slow coronary flow model by microsphere embolism in swines[J]. Int J Cardiol, 2014, 176(3):1123-1125.
- [13] Ma J, Qian J, Chang S, et al. Left ventricular remodeling with preserved function after coronary microembolization: the effect of methylprednisolone[J]. Eur J Med Res, 2014, 19:7.
- [14] 王伯坛, 李玉松, 黄永昇, 等. 病理学技术[M]. 北京:人民卫生出版社, 2000:148-149.
- [15] 苏立硕, 王贤良, 毛静远. 冠脉微循环障碍动物模型建立的方法及评价[J]. 中国医学科学院学报, 2014, 36(5):542-545.
- [16] 张庆勇, 韩蓓蓓, 王志华, 等. 介入法冠状动脉微血管栓塞所致微血管功能障碍动物模型的建立[J]. 复旦学报(医学版), 2010, 37(4):450-454.

(责任编辑:方 济)