

大鼠心肌梗死模型构建和评价方法的改良

杨涛涛,肖颖,奚赛飞,马毅超,方明笋,寿旗扬,潘永明,陈民利

(浙江中医药大学动物实验研究中心/比较医学研究中心,杭州 310053)

【摘要】 目的 优化和改良大鼠心肌梗死模型的构建和评价方法,提高模型的可靠性和稳定性。**方法** 取雄性 SD 大鼠结扎左冠状动脉前降支建立心肌梗死模型,在模型的构建过程中从麻醉、插气管、保温、手术操作、术后护理等环节进行优化和改进,并观察不同的麻醉方法和术后时间对心肌梗死程度的影响,用不同的染色方式进行心肌梗死模型的评价。**结果** 对比大鼠心肌梗死模型构建过程中各组大鼠麻醉时间、术后恢复以及心肌梗死面积的结果,戊巴比妥钠是更合适的麻醉药;结扎手术后时间对模型心肌梗死范围无明显影响($P > 0.05$),但心肌缺血危险区面积随术后时间的延长明显减少($P < 0.01$);TTC 与依文思蓝双重染色相对 TTC 染色能明显观察到心肌缺血危险区和梗死区范围。**结论** 优化和改进后的大鼠心肌梗死模型,提高了动物福利,制备和评价方法更加客观准确。

【关键词】 大鼠;心肌梗死模型;方法;改良

【中图分类号】 R33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2014) 02-0046-06

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2014.002.011

Improvement of the methods of establishing and evaluating rat models of myocardial infarction

YANG Tao-tao, XIAO Ying, XI Sai-fei, MA Yi-chao, FANG Ming-sun, SHOU Qi-yang, PAN Yong-ming, CHEN Min-li
(Laboratory Animal Research Center, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

【Abstract】 Objective To optimize the method of establishing and evaluating rat models of myocardial infarction, and improve the reliability and stability of the model. **Methods** The left descending coronary artery in male SD rats was ligated to establish myocardial infarction model. Some important steps such as anesthesia, tracheal intubation, heat insulation, operation technique and postoperative care were improved during the modeling, and the effect of different anesthesia and different postoperative days on myocardial infarction size was observed. Different staining methods were used to evaluate the infarction size in the rat myocardial infarction model. **Results** By comparing the anesthesia time, postoperative recovery and infarction size of each group during the process of myocardial infarction modeling, the sodium pentobarbital was shown to be more appropriate anesthetic. Different days after ligation had no significant effect on the modeling of myocardial infarction ($P > 0.05$); but the myocardial ischemia area was significantly decreased with longer postoperative duration ($P < 0.01$). 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride (TTC) and Evans blue double staining clearly visualized myocardial ischemia area and infarction area compared with TTC staining. **Conclusions** The optimized rat models of myocardial infarction in this study improve the animal welfare, and the establishing and evaluating method is more objective and accurate.

【Key words】 Rat; Myocardial Infarction; Model; Method; Improvement

[基金项目]浙江省卫生高层次创新人才培养工程项目(编号:ZWR2008-43)。

[作者简介]杨涛涛(1989-),男,在读硕士研究生,研究方向:中药药理与比较医学,E-mail: tigood@163.com。

[通讯作者]陈民利(1963-),女,教授、硕士,研究方向:实验动物与比较医学,E-mail: cmli991@aliyun.com。

心肌梗死是一种严重的心血管系统疾病,已成为中老年人群死亡的主要病因之一。心肌梗死动物模型是研究梗死性心脏病病理机制和相关治疗药物疗效评价的一个重要手段,而心肌梗死面积(myocardial infarct size, MIS)的大小是评价梗死程度的关键指标之一^[1]。采用手术结扎冠状动脉降支造成大鼠急性心肌梗死是目前公认的心肌梗死经典动物模型^[2],但由于模型制作过程中受如麻醉、插气管、保温、手术方法和术后护理等各个环节影响以及梗死心肌自身的病理生理特点^[3],存在模型制作和术后动物死亡率高,心肌梗死面积个体差异大等问题。本研究在以往的工作基础上,对结扎大鼠左冠状动脉前降支建立急性心肌梗死模型的制作过程(包括麻醉、插气管、手术操作、术后护理以及心肌染色等环节)进行优化和改进,并观察不同的麻醉方法和术后时间对心肌梗死程度的影响,用不同的染色方式进行心肌染色,探讨其合理的评价方法。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 80 只,体重 220 g ~ 250 g,中国科学院上海实验动物中心/上海斯莱克实验动物有限公司[生产许可证:SCXK(沪)2012-0002];饲养在浙江中医药大学动物实验研究中心屏障系统[SYXK(浙)2012-0002],环境温度:(20 ± 2)℃,相对湿度:50% ~ 60%,光照:(150 ~ 200) LX,12 h/12 h 明暗交替,噪音 < 50 dB;并在实验过程中按实验动物使用的 3R 原则给予人道主义关怀。

1.2 主要试剂

戊巴比妥钠:25 g/瓶,含量 ≥ 99.0%,批号:WS20120112,德国进口分装,上海西唐科技有限公司;水合氯醛:分析纯 250g/瓶,批号:20120315,上海化学试剂采购供应五联化工厂;异氟烷(isoflurane):100 mL/瓶,产品批号:120203,鲁南贝特制药有限公司;氯化三苯基四氮唑(2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride, TTC):10 g/瓶,批号:20120905,中国华东师范大学化工厂;伊文思蓝(Evans blue):10 g/瓶,批号:W20110325,国药集团化学试剂有限公司;琼脂糖 G-10(regular agarose G-10),100 g/瓶,批号:111935,法国 Biowest 公司;青霉素钠:80 万 U/瓶,批号:120422,广州白云山天心制药股份有限公司;氯化钾:分析纯 AR,500 g/瓶,批号:F20090409,国药集团化学试剂有限公司。

1.3 主要仪器设备

Summit 小动物麻醉呼吸机,美国 Summit 公司;

AL204-电子分析天平,瑞士 Mettler 公司;Gaymar 恒温手术台,美国 Hallowell 公司;Model 994 超低温冰箱,Thermo Scientific 公司;DK-600 型电热恒温水槽,上海精密实验设备有限公司;HP-LaserJet M1213nf MFP 扫描仪,美国惠普公司。手术器械包(手术剪、头和直头止血钳、弯形镊子、显微持针器、开胸器、手术线、干棉花、酒精棉、纱布、头皮针、注射器、三通管、棉线),6-0 无菌医用非吸收性缝合线无损伤缝合针,杭州富阳医用缝合针线厂。

1.4 方法

1.4.1 手术方法:雄性 SD 大鼠麻醉、手术区剃毛后,固定在 45° ~ 60° 斜台,将上切牙固定在鼠板边缘,光源照亮咽喉部有利于显露声门,行无创经口直视气管插管,口腔镜有雾气检查插管成功;待大鼠呼吸平稳后转移至恒温手术台(36 ~ 38)℃,仰卧位固定在鼠板上,手术区擦聚维酮碘消毒,连接呼吸机,呼吸比 2:1,潮气量 30 mL/kg,呼吸频率 60 ~ 65 次/min,大头针穿刺左右前肢皮下,连接心电图机测肢体 II 导联心电图。大鼠呼吸平稳后,沿左胸骨 2 mm 处切开皮肤约(2 ~ 2.5)cm,第三、四肋骨间隙钝性分离肋间肌,开胸器撑开肋间隙扩大手术视野。小心地撕开心包膜暴露心脏,消毒棉轻轻固定好,于左心耳下缘 2 mm ~ 3 mm 处用 6-0 无创缝合针结扎左冠状动脉前降支,进针深度约 2 mm,结扎跨度(2 ~ 3)mm,做两次外科手术结扎打结。结扎后肉眼可见结扎局部和左心室前壁呈灰白至紫绀,或 II 导联心电图 S-T 段抬高并持续 15 min 以上则为心肌梗死结扎成功标志。结扎后逐层缝合胸腔,并预留留置针以防止发生气胸,抽胸腔负压(抽取时注意避免留置针针头吸住腔壁),排除胸腔内空气,恢复自主呼吸。待大鼠呼吸稳定后,放入恢复笼内饲养(房间温度 24℃ ~ 26℃),腹腔注射 5 mL 生理盐水补液后,观察并及时清除气管痰液;待大鼠苏醒后肌内注射 0.5 mL(8 × 10⁴) U 青霉素钠以防感染,次日转移至术后饲养室进行正常饲养。

1.4.2 大鼠分组:雄性 SD 大鼠 80 只适应饲养后随机分为 8 组:不同麻醉药物试验 30 只,即:戊巴比妥钠、水合氯醛、异氟烷每组各 10 只;两种染色方法试验 20 只,即 TTC 染色、TTC 与依文思蓝双重染色各 10 只;术后造模时间试验 30 只,即造模后 1 d、3 d 和 7 d 组各 10 只。

1.4.3 麻醉方法:(1)药物麻醉:实验前大鼠禁食 2 h 以上,根据实验室常用麻醉剂量腹腔注射麻醉大鼠;戊巴比妥钠(45 mg/kg)和水合氯醛(300 mg/

kg)。记录大鼠麻醉诱导时间和持续时间。伪手术组大鼠也采用戊巴比妥钠麻醉(麻醉诱导时间是指从注射开始到动物进入麻醉状态,麻醉持续时间是指进入麻醉状态至术后苏醒;以有无翻正反射作为大鼠麻醉与否的评定标准)。(2)气体麻醉:实验前大鼠禁食 2 h 以上,放进呼吸机麻醉盒内通入 1.5% 异氟烷混合氧呼吸麻醉,手术全程以 1% 异氟烷混合氧持续麻醉。记录大鼠麻醉诱导时间和停止 1% 异氟烷混合氧通入后的麻醉持续时间。

1.4.4 染色方法:(1)TTC 染色:大鼠用 3% 戊巴比妥钠(45 mg/kg)腹腔麻醉后,迅速取下心脏用生理盐水冲洗除去血污,用滤纸吸干后称取全心重(whole heart, WH),剔除右心室、心房心肌组织,滤纸吸干,称取左心室重量(left ventricle, LV)。然后放入 -20℃ 冰箱中冷冻 20 min,切片,垂直于心脏长轴将心室部分每隔 2 mm 横断切成 5 片,置入 1% TTC 溶液中,37℃ 避光孵育 15 min,染色过程不时摇动使染色液与心肌片充分接触(TTC 溶液用 pH 7.4 ~ 7.8 的磷酸缓冲液配制),染色完成后立即冲洗去多余的染料。TTC 染为红色的为心肌非梗死区(non-infarct size, NIS),灰白色为梗死区(infarct size, IS)。扫描拍照,用 Image J 软件统计分析心肌梗死面积。梗死区面积为梗死区(IS)占左心室重量(LV)或全心重量(WH)之比。(2)TTC 与伊文思蓝双重染色:大鼠用 3% 戊巴比妥钠(45 mg/kg)麻醉后气管插管接呼吸机,打开胸腔小心地往右心室注入 5% 伊文思蓝(Evans blue)染液 2 mL,观察 2 min,待大鼠巩膜染蓝后,立即向右心室注入 10% KCl 溶液使心脏停止跳动,迅速取下心脏,用滤纸吸干后称取全心重,然后立即置入 2% 琼脂糖 PBS 缓冲液中,约 2 min 后取出,剔除右心室、心房心肌组织,滤纸吸干,称取左心室重量(LV)。然后放入 -20℃ 冰箱中冷冻 20 min,切片,垂直于心脏长轴将

心室部分每隔 2 mm 横断切成 5 片,置入 1% TTC 溶液中,37℃ 避光孵育 15 min。染色过程不时摇动使染色液与心肌片充分接触(TTC 溶液用 pH 7.4 ~ 7.8 的磷酸缓冲液配制),染色完成后立即冲洗去多余的染料。伊文思蓝染为蓝色为正常区(normal area, NA),TTC 染为红色的是缺血仍存活组织,成为危险区(area-at-risk, AAR),灰白色为梗死区(infarct size, IS)。扫描拍照,用 Image J 软件统计分析心肌缺血区和梗死区面积。缺血区面积为危险区(AAR)占左心室重量(LV)或全心重量(WH)之比,梗死面积为梗死区(IS)占左心室重量(LV)或全心重量(WH)之比。

1.4.5 造模后时间:SD 大鼠用 3% 戊巴比妥钠(45 mg/kg)麻醉后,行心肌梗死造模手术,次日将术后存活的大鼠随机分为 1 d(即次日)、3 d 和 7 d 组;即分别在造模后 1 d、3 d 和 7 d 按方法取样操作,TTC 与伊文思蓝双重染色法心肌染色,扫描心肌片并统计分析。

1.5 统计学方法

Image J 软件统计分析心肌组织各区域的面积,采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析,计量数据采用平均值 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,检验方法采用 One-way ANOVA 分析和 T 检验。

2 结果

2.1 麻醉效果

由表 1 可见,不同的麻醉药的诱导时间和持续时间各有差异,异氟烷组为大鼠连续吸入麻醉,麻醉诱导时间较长,停止吸入后麻醉的持续时间较短;水合氯醛组与戊巴比妥钠组为一次性腹腔注射麻醉;水合氯醛组大鼠麻醉诱导时间较短,而持续时间较长。模型建立的手术操作和术后护理至次日,异氟烷组大鼠全部存活,水合氯醛组术后至次日死亡 3 只,戊巴比妥钠组大鼠死亡 1 只。

表 1 不同麻醉的效果($\bar{x} \pm s$)
Tab. 1 The effect of different anesthesia ($\bar{x} \pm s$)

组别 Groups	剂量 Dose	方法 Method	数量 Number	诱导时间(s) Induction time	持续时间(min) Duration time	次日存活 Next day survival
戊巴比妥钠组 Sodium pentobarbital	45 mg/Kg	腹腔注射 Intraperitoneal injection	10	183 ± 26	143 ± 37	9
水合氯醛组 Chloral hydrate	300 mg/Kg	腹腔注射 Intraperitoneal injection	10	101 ± 18	240 ± 53	7
异氟烷组 Isoflurane	1.5%	吸入 Inhalation	10	254 ± 35	26 ± 8	10

注:异氟烷组大鼠放在麻醉盒内通 1.5% 异氟烷混合氧吸入麻醉,且手术全程以 1% 异氟烷混合氧持续麻醉。

Note: The rats of isoflurane group were placed inside the anesthesia box with 1.5% isoflurane and oxygen mixed inhalation, and 1% isoflurane and oxygen was used during the whole operation.

2.2 不同麻醉方法对梗死面积的影响

心肌扫描图与 Image J 软件统计分析结果, 各组可见明显的心肌梗死区; 水合氯醛组与戊巴比妥钠组大鼠心肌梗死范围都明显高于异氟烷组 ($P < 0.01$), 水合氯醛组高于戊巴比妥钠组。见图 1、图 2。图 1 见彩插 4。

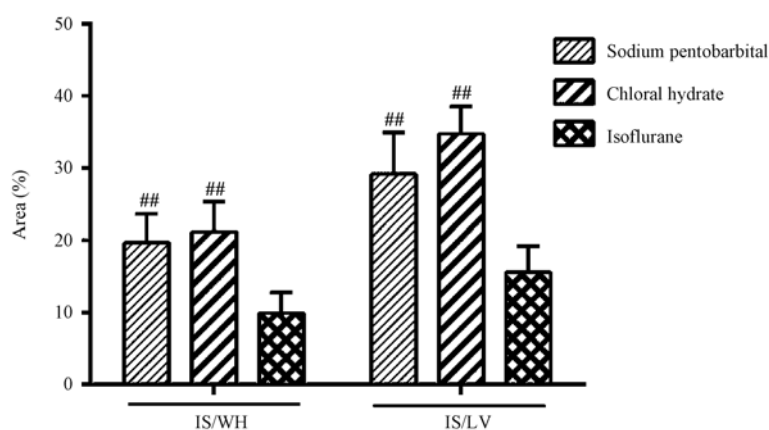
2.3 不同染色方法的心肌染色效果

由心肌扫描图可见, TTC 染色组心肌片能观察到 2 种颜色区域: 红色区域 (心肌非梗死区) 和灰白色区域 (心肌梗死区), 而 TTC 与伊文思蓝双重染色组能清晰观察到 3 种颜色区域: 蓝色区域 (正常心肌区)、灰白色区域 (梗死区) 和红色区域 (缺血仍存

活组织, 危险区), 各区域颜色对比观察明显。见图 3、图 4。图 3 见彩插 4。

2.4 造模后不同时间对梗死面积的影响

造模后, 次日存活的大鼠没有出现死亡的情况, 精神状态尚可, 饮食排泄正常。造模后 1 d、3 d、7 d 组, 各组大鼠心肌梗死区面积差异不大, 随着术后时间的延长有增加趋势, 但无明显差异 ($P > 0.05$), 而大鼠心肌缺血危险区面积则随着术后时间的延长明显减少: 与造模后 1 d 组相比, 3 d 组大鼠缺血危险区/左心室减少 ($P < 0.05$), 造模后 7 d 组大鼠缺血危险区/全心和危险区/左心室均明显降低 ($P < 0.01$), 见图 5、图 6。图 5 见彩插 4。

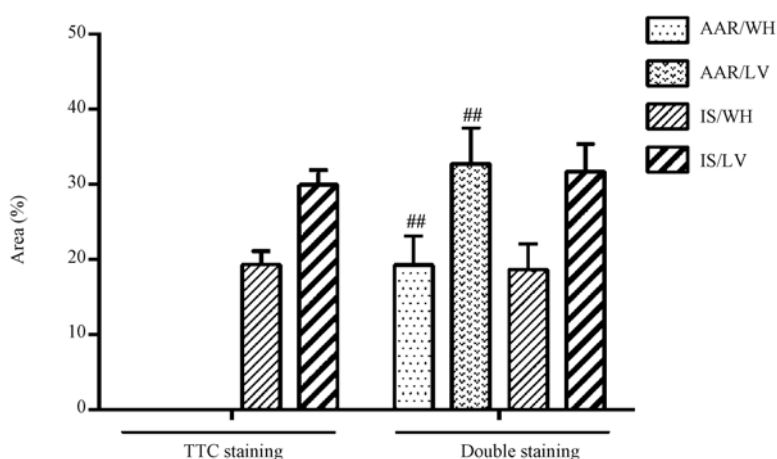


注: 与异氟烷组比较, $^*P < 0.05$, $^{##}P < 0.01$ 。

图 2 不同麻醉药对大鼠心肌梗死范围影响

Note: Compared with the isoflurane group, $^*P < 0.05$, $^{##}P < 0.01$.

Fig. 2 Effect of different anesthesia methods on rat myocardial infarct size

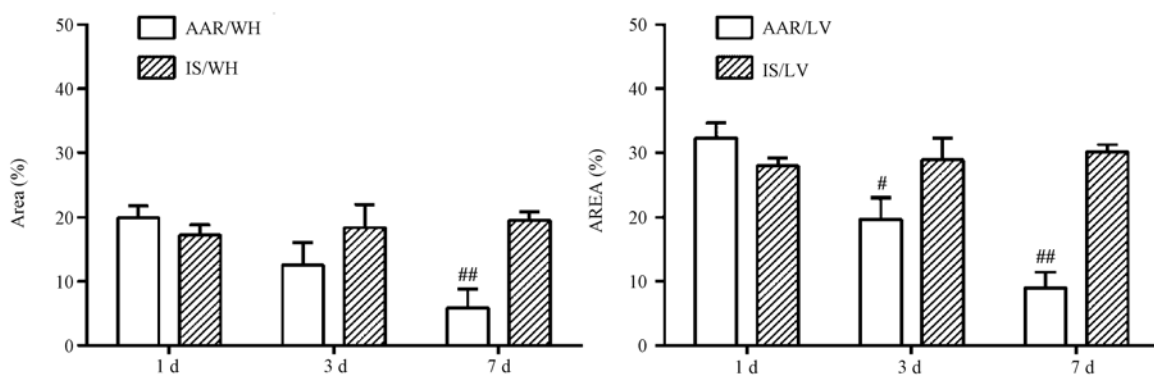


注: 与 TTC 染色组比较, $^*P < 0.05$, $^{##}P < 0.01$ 。

图 4 不同染色方法对大鼠心肌缺血和梗死范围影响

Note: Compared with the TTC staining group, $^*P < 0.05$, $^{##}P < 0.01$.

Fig. 4 Effect of different staining on the rat myocardial AAR and IS



注:与造模后 1 d 组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

图 6 造模后不同时间对大鼠心肌缺血和梗死范围影响

Note: Compared with the 1 d postoperation group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$.

Fig. 6 Effect of different days post-operation on rat myocardial area-at-risk and infarct size

3 讨论

成功制备心肌梗死动物模型是研究心肌梗死类疾病病理机制和治疗药物的重要环节^[4],麻醉、插气管、保温和造模手术过程以及术后护理等各个环节精细程度,都直接影响心肌梗死模型制备过程中动物的死亡及心肌缺血/梗死程度^[3]。本文主要对冠脉结扎法制备心肌梗死大鼠模型过程中各环节进行了优化和改进,采用经口直视气管插管,避免切开颈部皮肤插气管引进的创伤和感染,插气管操作要一次成功,避免多次操作伤害气管组织,即便重复插气管操作成功,也会刺激气道组织分泌痰液等造成大鼠呼吸不畅导致死亡;手术过程的恒温保温台,以及术后给大鼠苏醒前的保温措施,避免了温度对手术建模和恢复过程的影响;切开皮肤分离肋间肌暴露心脏过程尽量使用钝性分离,以减少组织出血和对肺部的损伤;开胸器撑开肋骨以扩大手术视野,结扎操作一定要在胸腔内完成,切勿拉出大鼠心脏进行操作,以免心脏移位、动脉扭曲造成血液循环障碍;术后护理采取的补水、注射抗生素和祛痰等步骤,能补充代谢所需的体液、预防感染并及时清除呼吸道分泌物提高造模大鼠的成活率和恢复状态;大鼠苏醒后转移到保温笼,暗室中单只饲养,防止大鼠相互抓咬,减少应激,降低术中或术后恢复过程中动物死亡^[5]。

戊巴比妥钠、水合氯醛和异氟烷是目前动物实验研究中常用的麻醉药,杨简、王波、钱丽萍等分别用戊巴比妥钠、水合氯醛和异氟烷在大鼠心肌缺血/梗死实验研究中取得较好效果^[6-8]。但许多关于大鼠心肌梗死模型的文献资料对缺血/梗死范围

报道差异较大,本实验对该三种麻醉药进行对比试验,发现以 1% 异氟烷混合氧持续麻醉,手术过程平稳,术后苏醒和恢复较快,但心肌的梗死范围较小,这可能与文献报道的异氟烷对大鼠缺血性心肌有保护作用有关^[9-10];而 300 mg/kg 水合氯醛腹腔注射麻醉,麻醉持续时间长,手术过程顺利,但术后恢复较慢,且心肌梗死比较严重,在术后大鼠苏醒过程中有一定的死亡率,这可能与水合氯醛麻醉持续时间较长加上模型自身的病理特点导致大鼠基础代谢差造成机体能量供应不足有关^[11];与水合氯醛麻醉比较,戊巴比妥钠 45 mg/Kg 腹腔注射麻醉持续时间较短,完全满足了造模手术的全部过程操作,且术后恢复相对较快,术中和术后恢复过程动物死亡低。因此,在大鼠心肌梗死模型制备中,戊巴比妥钠是三种麻醉药中更合适的麻醉药。

氯化三苯基四氮唑(TTC)是一种脂溶性光敏感复合物,常用作染色剂检测哺乳动物组织的缺血梗塞,它与组织中脱氢酶反应产生红色的脂溶性甲,但梗死组织中脱氢酶活性下降不能与其反应,故不被染色呈苍白色^[7]。伊文思蓝作为常用的偶氮染料制剂,因其分子量大小与血浆白蛋白相近而与血浆白蛋白有很高的亲和力,因此非梗死区会被染成蓝色,而梗死区不被染色^[12]。我们参阅资料^[13-15]并试验发现 TTC 与伊文思蓝双重染色能明显观察到正常心肌区域、缺血危险区和梗死区;正常心肌组织被依文思蓝染为蓝色,缺血危险区被 TTC 染为红色,而梗死区不着色呈灰白色,三种颜色更方便观察和统计分析;且本实验采用 2% 琼脂糖凝胶固化伊文思蓝,避免在 TTC 染色中脱色而造成缺血面积过大的误差。采用双重染色法观察大鼠

造模后 1 d、3 d 和 7 d 心肌组织,结果发现手术后时间对心肌梗死范围无明显影响,但对心肌缺血危险区的影响较大;手术后 3~7 d,随着时间的延长心肌缺血危险区面积逐渐减少。这可为后续关于缺血/梗死类心脏疾病的病理生理以及相关药物开发研究的起始时间提供依据和指导。

综上所述,本实验主要对大鼠心肌梗死模型制备过程中麻醉、插气管、保温、手术操作、麻醉药物、染色方法以及造模后不同时间进行对比研究表明,戊巴比妥钠是三种麻醉药中更合适的麻醉药,TTC 和伊文思蓝染色双重染色对心肌各区域范围评估更为准确,且在造模后(3~7)d 是开展相关研究的适宜阶段。本实验结果对大鼠心肌梗死模型制备及其评价方法的规范化以及后续研究工作提供了较好的借鉴和实践依据。

参考文献:

- [1] 尹倪,陈胜喜,罗万俊,等. 冠状动脉前降支结扎法制作大鼠急性心肌梗死模型[J]. 中国医师杂志, 2006, 8(9):1193-1195.
- [2] 雷娟,伍卫,薛声能,等. 大鼠急性心肌梗死动物模型的建立和评估[J]. 中国实用医药, 2009, 4(2):1-4.
- [3] 徐铭. 大鼠心肌梗死模型制作的影响因素[J]. 上海畜牧兽医通讯, 2012, 2:48-49.
- [4] 王燕,陈光辉,尹作民,等. 大鼠心肌梗死动物模型的制备[J]. 中国比较医学杂志, 2010, 20(6):54-57.
- [5] 梅志强,王琼,邓莉. 动物福利在研究生实验动物学教学中的应用初探[J]. 中国比较医学杂志, 2012, 22(3):76-78.
- [6] 杨简,杨俊,丁家望,等. 大鼠心肌缺血-再灌注损伤模型的改良及实验观察[J]. 中国老年学杂志, 2008, 28(10):961-963.
- [7] 王波,李庆志,阎德民,等. 不同 2,3,5-氯化三苯基四氮唑染色方式对心肌梗死面积检测的对比[J]. 中国胸心血管外科临床杂志, 2011, 18(2):179-180.
- [8] 钱丽萍,朱姗姗,曾因明. 异氟烷预处理对大鼠离体心脏缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 中华麻醉学杂志, 2006, 26(1):49-52.
- [9] Luo NF, Liu J. The protective effects of emulsified isoflurane on myocardial ischemia and reperfusion injury in rats[J]. Can J Anesth, 2009, 56(2):115-125.
- [10] 姜琳,王琛,覃琴,等. 异氟烷预处理对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 复旦学报(医学版), 2008, 35(4):539-540.
- [11] 张阔,田枫,康爱君,等. 戊巴比妥钠、水合氯醛、氨基甲酸乙酯麻醉对雄性 SD 大鼠血液学指标的影响[J]. 中国比较医学杂志, 2007, 17(8):496-498.
- [12] 万汝根,王茂峰,赵升,等. 伊文思蓝染色技术快速鉴定新型隐球菌[J]. 中国卫生检验杂志, 2010(9):2197-2199.
- [13] Tao L, Gao E, Jiao X, et al. Adiponectin cardioprotection after myocardial ischemia/reperfusion involves the reduction of oxidative/nitrative stress[J]. Circulation, 2007, 115(11):1408-1416.
- [14] Ran X, Wang H, Chen Y, et al. Aquaporin-1 expression and angiogenesis in rabbit chronic myocardial ischemia is decreased by acetazolamide[J]. Heart Vessels, 2010, 25(3):237-247.
- [15] Dong S, Cheng Y, Yang J, et al. MicroRNA expression signature and the role of microRNA-21 in the early phase of acute myocardial infarction[J]. J Biol Chem, 2009, 284(43):29514-29525.

[修回日期]2013-11-29

(上接第 45 页)

- [5] 曹玉华,严翔,刘一,等. 棕头蜘蛛猴 Atfu-B 基因 $\alpha 2$ 结构域缺失剪切异构体的表达及其细胞内定位[J]. 中国比较医学杂志, 2013, 23(10):63-66.
- [6] Harris H. Estrogen receptor-beta: recent lessons from in vivo studies[J]. Mol Endocrinol, 2007, 21(1):1-13.
- [7] Förster C, Mäkelä S, Wärrä A, et al. Involvement of estrogen receptor β in terminal differentiation of mammary gland epithelium[J]. Proc Nat Acad Sci U S A, 2002, 99(24):15578-15583.
- [8] Weihua Z, Malela S, Andersson LC, et al. A Role for estrogen receptor beta in the regulation of growth of the ventral prostate[J]. Proc Nati Acad Sci U S A, 2001, 98(11):6330-6335.
- [9] Morani ABR, Imamov O, Hultenby K, et al. Lung dysfunction causes systemic hypoxia in estrogen-receptor beta knockout mice[J]. Proc Nati Acad Sci U S A, 2006, 103(18):7165-7169.
- [10] Wang L, Andersson S, Warner M, et al. Morphological abnormalities in the brains of estrogen receptor beta knockout mice[J]. Proc Nati Acad Sci U S A, 2001, 98(5):2792-2796.

[修回日期]2013-11-25