

出血性络风内动证小鼠模型的构建

李红梅, 孙孟琼, 王昱*

(北京中医药大学东直门医院, 北京市东城区海运仓 5 号, 100700)

摘要 目的 建立符合临床、具有易行性与广泛适用性的出血性络风内动证动物模型。方法 ApoE (-/-) 基因敲除小鼠高脂饲料喂养并于 12 周龄行右侧颈总动脉套管术, 术后随机分为对照组、应激组、Compound 组、应激 + Compound 组。术后 4 周后对所有小鼠腹腔注射脂多糖 1 mg/kg, 每周 2 次, 共 8 周; 术后 8 周应激组、应激 + Compound 组给予限制性精神刺激, 每天 4h, 共 4 周; 术后 10 周 Compound 组、应激 + Compound 组小鼠腹腔注射 Compound 48/80 0.5 mg/kg, 隔日 1 次, 共 4 次。术后 12 周进行血脂检测和斑块病理形态学检测, 计算斑块面积、血管管腔狭窄率, 比较斑块内脂质、胶原含量、平滑肌细胞和单核/巨噬细胞含量并计算斑块易损指数。结果 各组小鼠血脂水平差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。与对照组比较, Compound 组斑块内出血情况明显升高, 应激 + Compound 组总斑块病理形态情况差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。各组斑块面积、血管管腔狭窄率及斑块中脂质、平滑肌细胞含量比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 而应激 + Compound 组和 Compound 组的单核/巨噬细胞含量则较对照组明显升高 ($P < 0.05$)。应激 + Compound 组斑块内胶原含量较其余各组减少, 而易损指数较其余各组升高 ($P < 0.05$)。结论 采用脂多糖 + 应激 + Compound 48/80 三种因素联合刺激进行出血性络风内动证小鼠模型构建具有较高的斑块易损性和斑块内出血率, 可作为出血性络风内动证动物模型的最佳造模方法。

关键词 出血性络风内动证; 动物模型; 动脉粥样硬化; 斑块内出血; 热毒生风

动脉粥样硬化性心血管疾病 (atherosclerotic cardiovascular disease, ASCVD) 是威胁人类健康的主要疾病, 冠状动脉粥样硬化性心脏病在 ASCVD 中占有很大比例, 发病率逐年上升, 其发病急骤、临床表现变化多端、病情时作时止的特点与中医络邪“善行而数变”的描述十分相似, 病位在心络^[1]。本团队基于多年临床实践经验, 创新性提出动脉粥样硬化络风内动假说, 并进行了一系列临床研究, 取得一定进展^[2-4]。然而目前尚缺乏一个理想的络风内动证动物模型为后续的深入研究提供支持, 本研究选用 ApoE 基因敲除小鼠, 通过注射脂多糖形成热毒内蕴、久蕴生风、内风伏络状态^[5], 进而注射 Compound 48/80 模拟“外毒引动内风”, 限制性精神应激法诱发情志失调、内外合邪而促发络风内动状态, 旨在建立符合临床实际的、标准的、可重复的、可控易行的出血性络风内

动证动物模型, 报告如下。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级雄性 ApoE (-/-) 小鼠 40 只, 8~10 周龄, 体重 22~26 g, 购自北京维通利华实验动物中心, 实验动物许可证号: BJXK 京 2016-0013, 于北京中医药大学东直门医院中医内科重点实验室饲养。

1.2 主要试剂及仪器

Compound 48/80 (Sigma 公司, 批号: C2313); D-hank's 液 (北京索莱宝科技有限公司, 批号: ZKP-E150015-1); 青霉素 (武汉拉那白医药化工有限公司, 批号: CAS-69-53-4); 2% 戊巴比妥钠 (大连亿德瑞生物技术有限公司, 批号: 57-33-0); 高脂饲料 (0.25% 胆固醇 + 15% 脂肪, 江苏美迪森生物医药有限公司, 批号: MD12031); 脂多糖 (批号: L2880, Sigma 公司); 大鼠抗小鼠巨噬细胞单克隆抗体 (批号: ab33451)、抗平滑肌肌动蛋白 α -actin 单克隆抗体 (批号: ab5694),

基金项目: 国家自然科学基金 (81273913); 北京中医药大学重点学科开放课题 (2013-ZDKKF-27)

* 通讯作者: wx650515@163.com, (010) 84015563

均为英国 Abcam 公司产品; 多聚甲醛 (北京华迈科公司, 批号: 158127-500G)。AR2140 型电子分析天平, 奥豪斯仪器上海有限公司; 硅胶套管: 内径 0.3 mm, 长度 3 mm, 山东省医疗器械研究所; CM1900 型切片机, 德国 Leica 公司; BX6.0 电子显微镜、BX6.0 偏振光显微镜, 均为 Olympus 公司产品; SAKURA 型 OCT 包埋机, Tissue-Tek 公司; TGL-16B 型台式离心机, 上海安亭科学仪器厂; 7170 型全自动生化分析仪, 日本日立公司; Image-Pro Plus 6.0 病理图像分析系统, Media Cybernetics 公司; E703-1 型 PBS 自心尖冲洗循环系统, 上海信帆生物科技有限公司。

1.3 实验分组及处理

将 40 只 ApoE (-/-) 小鼠采用随机数字表法分为对照组、应激组、Compound 48/80 组、应激 + Compound 48/80 组, 每组 10 只。四组动物全程高脂饲料喂养并行右侧颈总动脉套管术, 术后 4 周腹腔注射脂多糖。应激组再给予限制性精神刺激; Compound 组腹部注射 Compound 48/80; 应激 + Compound 组腹腔注射 Compound 48/80 的同时进行限制性精神刺激。

1.3.1 颈总动脉缩窄性硅胶套管放置术^[8] ApoE (-/-) 小鼠于 12 周龄进行右侧颈总动脉套管术。以 2% 戊巴比妥钠 45 mg/kg 腹腔注射麻醉后, 将小鼠仰卧位固定于小鼠板上, 以右侧颈部为中心进行消毒铺巾, 纵向剪开颈部皮肤, 钝性分离颈前腺体, 在气管的右侧可见搏动的右颈总动脉, 小心分离颈总动脉至分叉处, 将长度为 2.5 mm、内径 0.3 mm 的硅胶套管 (小鼠颈总动脉血管外径为 0.5 mm) 套置于血管外周, 套管的近心段和远心段采用细丝线结扎固定。将颈动脉复位, 间断缝合颈前皮肤, 归笼。术后连续 3 天腹腔注射青霉素 2 万单位/只预防感染, 继予高脂饮食饲养。

1.3.2 脂多糖刺激^[9] 颈总动脉套管术 4 周后, 所有小鼠腹腔注射脂多糖的 1 mg/kg, 每周 2 次, 持续 8 周。

1.3.3 限制性精神刺激^[10] 将小鼠塞入留有充足通气孔的 50 ml 注射器中, 注射器后方用胶布封口, 放于笼中, 限制活动饮水, 每天刺激 4 h, 持续 4 周。

1.3.4 Compound 48/80 刺激^[11] 颈总动脉套管术 10 周后, 小鼠腹腔注射 Compound 48/80 0.5 mg/kg, 对照组和应激组小鼠腹腔注射相同体积 D-hank's 液, 隔日 1 次, 共 4 次。

1.4 观察指标及方法

1.4.1 一般情况 实验全程对小鼠的精神活动状态、舌色、皮毛、抓取情况进行动态观察。

1.4.2 血脂水平检测 套管术后 12 周, 所有小鼠眼球采血。继而用 PBS 自心尖冲洗循环系统, 再用 4% 多聚甲醛持续在体灌注固定约 20 min, 分离右侧颈总动脉, OCT 包埋后保存于液氮待用。血液 4℃、2500 r/min 离心 15 min 取上清, 放置于 -80℃ 冰箱保存, 采用全自动生化分析仪检测血脂水平, 包括总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、低密度脂蛋白 (LDL)、高密度脂蛋白 (HDL)。

1.4.3 斑块组织病理学检测 在颈动脉套管近心端及主动脉根部制作 5 μm 连续冰冻切片, 并每隔 100 μm 选择一张切片进行苏木素-伊红 (HE) 染色, 观察斑块形态、面积, 纤维帽的完整性, 斑块内血栓和出血等情况, 计算血管管腔狭窄率 = (原始管腔直径 - 残余管腔直径) × 100%。再挑选斑块面积最大和斑块破裂最明显的切片进行斑块成分检测 (包括脂质、单核/巨噬细胞、平滑肌细胞、胶原含量), 使用 Image-ProPlus 6.0 图像分析软件对斑块面积最大的切片做形态学测量和分析, 计算易损指数 = (单核/巨噬细胞含量 + 脂质含量) / (胶原含量 + 平滑肌细胞含量)。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 20.0 统计软件进行数据处理, 计量资料采用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间均数的比较采用单因素方差分析; 计数资料采用 Fisher's 精确检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠一般情况

对照组小鼠精神尚可, 活泼好动, 舌红, 毛发光泽, 逃避明显, 反抗、咬人。应激组小鼠精神倦怠, 活动减少, 舌红, 毛发略有光泽, 逃避、反抗、咬人。Compound 组小鼠精神倦怠, 活动减少, 舌红绛, 毛发欠光泽, 逃避意图明显, 反抗、咬人。应激 + Compound 组小鼠精神萎靡倦怠, 蜷缩, 活动减少, 舌红绛泛紫, 毛竖无光泽, 背部有类似疖肿改变, 有逃避意图, 反抗、咬人。实验过程中应激 + Compound 组有 2 只小鼠死亡, 解剖未见明显异常, 分析可能与实验操作有关。

2.2 各组小鼠血脂水平比较

表 1 示, 各组小鼠 TC、TG、HDL、LDL 水平差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1 各组小鼠血脂水平比较 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	TC	TG	HDL	LDL
对照组	10	35.94 ± 9.974	2.49 ± 0.868	0.74 ± 0.260	7.45 ± 1.904
应激组	10	28.53 ± 3.272	1.73 ± 0.561	0.73 ± 0.084	5.12 ± 2.107
Coumpound 组	10	35.27 ± 10.752	1.86 ± 0.532	0.76 ± 0.267	6.61 ± 2.004
应激 + Compound 组	8	30.27 ± 7.432	1.73 ± 0.995	0.59 ± 0.240	6.03 ± 1.187

注: TC, 总胆固醇; TG, 甘油三酯; LDL, 低密度脂蛋白; HDL, 高密度脂蛋白

2.3 各组小鼠斑块病理形态学结果比较

表 2 示, 与对照组比较, Coumpound 组斑块内出血情况明显增多 ($P = 0.043$)。应激 + Compound 组总计斑块病理形态情况与对照组比较差异有统计学意义 ($P = 0.023$), 其余各组间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 2 各组小鼠斑块病理形态比较 [例]

组别	鼠数	纤维帽断裂	斑块内血栓	斑块内出血	埋藏纤维帽	总计
对照组	10	3	0	0	0	3
应激组	10	2	0	1	1	4
Coumpound 组	10	1	0	4	1	6
应激 + Compound 组	8	3	1	2	1	7

2.4 各组小鼠斑块面积与血管管腔狭窄率比较

表 3 示, 各组小鼠斑块面积、血管管腔狭窄率比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 3 各组小鼠斑块面积与血管管腔狭窄率比较

组别	鼠数	斑块面积 (μm^2)	血管管腔狭窄率 (%)
对照组	10	33902.80 ± 33411.041	38 ± 43.7
应激组	10	29824.77 ± 37802.467	35 ± 37.8
Coumpound 组	10	43643.31 ± 51115.179	51 ± 34.0
应激 + Compound 组	8	67061.23 ± 43362.019	43 ± 17.3

2.5 各组小鼠斑块成分及易损指数比较

表 4 示, 与对照组比较, 应激 + Compound 组和 Coumpound 组单核/巨噬细胞含量升高, 应激组、Compound 组及应激 + Compound 组胶原含量明显下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); Compound 组及应激组胶原含量亦明显高于应激 + Compound 组 ($P < 0.05$)。应激 + Compound 组易损指数明显高于其余各组, 差异均有统计学意义

表 4 各组小鼠斑块成分及易损指数比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	脂质 (%)	单核/巨噬细胞 (%)	平滑肌细胞 (%)	胶原含量 (%)	易损指数
对照组	10	0.40 ± 0.064	0.13 ± 0.085	0.13 ± 0.085	0.22 ± 0.060	1.4171 ± 1.051
应激组	10	0.42 ± 0.071	0.17 ± 0.084	0.15 ± 0.060	0.14 ± 0.036 ^{*△}	1.9905 ± 0.764 [△]
Coumpound 组	10	0.40 ± 0.065	0.24 ± 0.101 [*]	0.19 ± 0.083	0.14 ± 0.031 ^{*△}	2.1151 ± 0.627 [△]
应激 + Compound 组	8	0.46 ± 0.108	0.26 ± 0.080 [*]	0.16 ± 0.121	0.05 ± 0.017 [*]	3.2686 ± 1.831 [*]

注: 与对照组比较, * $P < 0.05$; 与应激 + Compound 组比较, $\Delta P < 0.05$

($P < 0.05$)。各组斑块内脂质、平滑肌细胞含量组间比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3 讨论

构建出血性络风内动证模型是在动脉粥样硬化易损斑块动物模型基础上完成的, 以往动脉粥样硬化斑块模型是采用高脂饲料喂养的 ApoE (-/-) 小鼠, 通过颈总动脉套管术引起血流动力学改变, 进而促使动脉粥样硬化斑块形成, 也有学者通过脂多糖干预尝试构建动脉粥样硬化易损斑块动物模型以及伴有高血栓率的易损斑块动物模型^[1]。我们在此基础上, 结合中医学络病理论, 结合内伤、外邪、情志等致病因素, 通过内毒、外毒、精神情志共同刺激, 构建斑块内出血的络风内动证动物模型。

有研究表明, 急性精神应激状态下交感-肾上腺髓质系统被激活, 导致儿茶酚胺大量释放, 可使血流动力学反应瞬间增强, 心肌收缩力增加、心率增快、血压升高、脉压增大、血流速度增快, 还可引起下丘脑-肾上腺皮质系统激活, 导致促肾上腺皮质激素和糖皮质激素分泌增多, 造成血脂异常及血管损伤^[2-3]。精神刺激在中医学中属于情志因素致病范畴, 我们采取限制性精神刺激叠加造模, 可最大化模拟人类情志失调触发疾病过程。动脉粥样硬化是一种慢性炎症过程, 肥大细胞作为炎症细胞参与了各种免疫应答反应, 机体通过肥大细胞胞吐作用启动炎症反应, 参与动脉粥样硬化早期病变^[4]。促肥大细胞脱颗粒剂 Compound 48/80 可释放多种趋化因子, 主要作用于单核细胞, 使外周血单核细胞迁入血管内膜, 转化为巨噬细胞, 构成动脉粥样硬化早期的重要一环^[5]。研究表明,

Compound 48/80 可诱发斑块内出血^[14]。因 Compound 48/80 是有毒生物化学制剂,属于中医学“外毒”范畴,故本课题采用 Compound 48/80 作为外毒刺激因素来引动内风而达到“络破”这一病理状态,以求进一步提高自发斑块内出血概率。

动脉粥样硬化病变所致的斑块进展与炎症反应密不可分,其形成过程中内皮的损伤和脂质的浸润可诱导单核细胞迁移和局部巨噬细胞的自我增殖,引起斑块内巨噬细胞数增加,进一步吞噬脂质形成泡沫细胞^[15],形成早期动脉粥样硬化脂质条纹,其中单核/巨噬细胞介导的炎症反应贯穿整个病变过程^[16],在动脉粥样硬化的发生发展过程中有至关重要的作用。平滑肌细胞可合成胶原^[17],而胶原含量的多少直接影响纤维帽厚度及斑块稳定性,薄弱的纤维帽加上较大的脂质核心,具备了形成不稳定斑块的条件。Shah 等^[18]研究表明,来源于单核细胞的巨噬细胞加速了纤维帽中的胶原降解。也有研究^[21-22]表明,单核和巨噬细胞合成释放的前列腺素可能是抑制胶原分泌的重要因素,而血脂水平与斑块稳定性密切相关。胶原合成减少,降解增多,导致纤维帽变薄,增加斑块易损性。总而言之,斑块是否稳定,与斑块内的脂质含量、单核/巨噬细胞含量、平滑肌细胞含量、胶原含量密切相关,同时计算易损指数,可以对斑块易损性进行全面评价。

本研究结果显示,Compound 组斑块内出血情况明显高于对照组,说明 Compound 48/80 是诱发斑块内出血的重要因素,而应激 + Compound 48/80 组与对照组相比差异无统计学意义,考虑原因可能是应激 + Compound 组实验动物死亡造成其样本量变小所致。应激 + Compound 组与 Compound 组均可见斑块内的单核/巨噬细胞含量增高,而应激 + Compound 组同时伴随着斑块内胶原含量明显减少,这提示炎症反应激活,同时纤维帽结构明显削弱,最终导致斑块病变程度加重甚至破裂。同时应激 + Compound 组的斑块易损指数远高于其他各组,明显提高了斑块的易损性,因此脂多糖 + 应激 + Compound 48/80 三因素联合刺激建立出血性络风内动证小鼠模型的基本构建方法可行,可促使斑块内出血并增加其易损性,与中医学胸痹心痛络风内动证的表现形式更加接近,可作为出血性络风内动证小鼠模型的最佳造模条件。本研究构建的动物模型选择在颈总动脉,虽然位置不在冠状动脉,但可充分体现血管病变中易损斑块的病理状态,未

来可基于出血性络风内动证动物模型进行相关药物的干预机制研究,为络风内动研究平台的科学化寻求新突破。

参考文献

- [1] 王显,王永炎. 对“络脉、病络与络病”的思考与求证 [J]. 北京中医药大学学报, 2015, 38(9): 581-586.
- [2] 王显,胡大一. 急性冠脉综合征“络风内动”假说临床研究 [J]. 中华中医药杂志, 2008, 23(3): 204-208.
- [3] WANG X, LIN Z, GE J, et al. Relationship between traditional Chinese medicine syndrome type and coronary arteriography of acute coronary syndrome [J]. Chin J Integr Med, 2003, 9(2): 116-119.
- [4] 王显,胡大一,沙鸥. 中医络风内动证的病变特征和炎症标志物的检测 [J]. 心脏杂志, 2008, 20(10): 235-238.
- [5] 王显,胡大一,沙鸥. 中医络风内动证血管内超声的病变特征 [J]. 心脏杂志, 2009, 21(1): 88-91.
- [6] 王显. 胸痹心痛络风内动证诊断专家共识 [J]. 中医杂志, 2014, 55(17): 1528-1530.
- [7] 江欢,周岩,孙晓红,等. 中医“热毒血症”模型大鼠血管内皮损伤及血小板功能障碍研究 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2009, 7(4): 425-428.
- [8] 丁士芳. 新生血管与斑块稳定性的关系及 VEGF 基因干预的研究 [D]. 济南: 山东大学, 2007.
- [9] 倪梅. 易损斑块动物模型的构建和基因治疗稳定易损斑块的实验研究 [D]. 济南: 山东大学, 2007.
- [10] 唐雅玲,王双,杨永宗,等. Compound 48/80 对载脂蛋白 E 基因敲除小鼠颈总动脉套环诱导斑块的影响 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2006, 14(2): 103-106.
- [11] 魏立亚,何文,张红霞,等. 颈动脉硬化斑块内新生血管的超声造影研究 [J]. 中华医学超声杂志(电子版), 2009, 6(6): 1095-1102.
- [12] JIANG W, BYBYAK M, KRANTZ DS, et al. Mental stress-induced myocardial ischemia and cardiac events [J]. JAMA, 1996, 275(21): 1651-1656.
- [13] FARAH VM, JOAQUIM LF, BERNATOVA I, et al. Acute and chronic stress influence blood pressure variability in mice [J]. Physiol Behav, 2004, 83(1): 135-142.
- [14] 王学懂,侯静波. 炎症反应在斑块稳定性中的作用 [J]. 心血管康复医学杂志, 2012, 21(2): 218-220.
- [15] 杨永宗,阮长耿,唐朝枢,等. 动脉粥样硬化性心血管病基础与临床 [M]. 北京: 科学出版社, 2004: 609-617.
- [16] 唐雅玲. Compound 48/80 对 apoE 基因敲除小鼠颈总动脉套环诱导斑块的影响 [D]. 衡阳: 南华大学, 2005.
- [17] LIBBY P, SUKHOVA G, LEE RT, et al. Molecular biology of atherosclerosis [J]. Int J Cardiol, 2013, 62 (Suppl 2): 23-29.

- [8] 赵季红, 梁国庆, 周邠玮, 等. 同型半胱氨酸联合踝臂指数及 C 反应蛋白在下肢外周动脉疾病患者中的临床意义 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2012, 20(10): 931-933.
- [9] ANDREEVA ER, PUGACH IM, OREKHOV AN. Subendothelial smooth muscle cells of human aorta express macrophage antigen in situ and in vitro [J]. Atherosclerosis, 1997, 130(1-2): 133-142.
- [20] SHAH PK, FALK E, BADIMON JJ, et al. Human monocyte-derived macrophages induce collagen breakdown in fibrous caps of atherosclerotic plaques: Potential role of matrix-degrading metalloproteinases and implications for

plaque rupture [J]. Circulation, 1995, 92(6): 1565-1569.

- [21] FITZSIMMONS C, PROUDFOOT D, BOWYER DE. Monocyte prostaglandins inhibit procollagen secretion by human vascular smooth muscle cells: implications for plaque stability [J]. Atherosclerosis, 1999, 142(2): 287-293.
- [22] SCHWARTZ CJ, VALERTE AJ, SPRAGUE EA, et al. The pathogenesis of atherosclerosis: an overview [J]. Clin Cardiol, 1991, 14(2 Suppl 1): 11-116.

Mouse Model Establishment of Hemorrhagic Endogenous Collateral Wind Syndrome

LI Hongmei, SUN Mengqiong, WANG Xian

(Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700)

ABSTRACT Objective To establish animal model of hemorrhagic endogenous collateral wind syndrome that is up to clinical practice, with mobility and general applicability. **Methods** ApoE (- / -) gene knock out mice were fed with high-fat diet and received arteria carotis casing technique at the 12th week. Mice were randomly divided into control group, stress group, Compound group, stress + Compound group after operation. Four weeks after operation, conducted intraperitoneal injection of lipopolysaccharide 1mg/kg on all mice, twice per week, for 8 weeks. Eight weeks after operation, stress group, stress + Compound group were given limited mental stimulation, 4 h per day, for 4 weeks in total; ten weeks after operation, mice in the Compound group, the stress + Compound group received intraperitoneal injection of Compound 48/80 0.5 mg/kg, once every other day, 4 times in total. Blood lipid and pathomorphology of plaque were examined and plaque areas, rate of stenosis of vascular lumen were calculated 12 weeks after operation. Compared lipid, collagen, smooth muscle cells and monocytes/macrophages level in plaque and calculated vulnerability index of plaque. **Results** There was no statistical significance in difference of blood lipid of mice in each group ($P > 0.05$). Compared with the control group, bleeding in plaque in the Compound group remarkably increased and there was statistical significance in difference of whole pathomorphism condition of plaque in the stress + Compound group ($P < 0.05$). The difference between plaque areas, stenosis rate of vessel lumen, lipid and smooth muscle cells level in plaque in each group had no statistical significance ($P > 0.05$). Monocytes/macrophages level in the stress + Compound group and the Compound group remarkably increased compared with the control group ($P < 0.05$). Collagen level in the plaque in the stress + Compound group decreased compared with other groups, while vulnerability index increased ($P < 0.05$). **Conclusion** Adopting lipopolysaccharide + stress + Compound 48/80 together to establish mouse model of hemorrhagic endogenous collateral wind syndrome had relatively high vulnerability index of plaque and bleeding rate in plaque. It could be used as the best modeling method of animal model of hemorrhagic endogenous collateral wind syndrome.

Keywords hemorrhagic endogenous collateral wind syndrome; animal model; atherosclerosis; hemorrhage in plaque; heat toxin inducing wind

(收稿日期: 2016 - 10 - 02; 修回日期: 2017 - 02 - 17)

编辑: 邓 媛