

· 基础研究 ·

非去极化停搏液对缺血再灌注心肌细胞 L - 型钙通道的影响

吴 蓓, 黑飞龙, 孙 亮, 陈蒙蒙, 于 坤, 龙 村

[摘要]:目的 探讨非去极化停搏液(non-depolarizing solution, NDP)对缺血再灌注心肌细胞 L-型钙通道(I_{Ca-L})的影响。方法 实验分为对照(Con)组、缺血再灌注(I/R)组和非去极化停搏液(NDP)组。选择培养 18~48 h 的 SD 乳鼠心肌细胞用于实验。Con 组细胞不经过缺血再灌注处理;I/R 组细胞经模拟缺血缺氧 3 h,再灌注 1 h 处理;NDP 组在模拟 I/R 过程中,加 NDP 液于细胞培养基中进行干预。用全细胞膜片钳技术检测 I_{Ca-L} 的电流强度和门控特性。结果 与对照组相比,I/R 组 I_{Ca-L} 的峰值电流密度明显降低[(-9.0 ± 3.8) pA/pF vs (-15.1 ± 8.8) pA/pF, $P < 0.05$],电流-电压曲线(I-V 曲线)上移,翻转电位绝对值减小,稳态激活曲线和失活曲线左移,恢复曲线右移。与 I/R 组相比,NDP 组 I_{Ca-L} 的峰值电流密度升高[(-11.4 ± 6.7) pA/pF vs (-9.0 ± 3.8) pA/pF, $P < 0.05$],I-V 曲线下移,翻转电位绝对值增大,稳态激活曲线和失活曲线右移,恢复曲线左移。结论 NDP 液可减轻心肌细胞 I/R 损伤对 I_{Ca-L} 通道的抑制作用和门控特性的改变,有利于保护心肌收缩和舒张功能、减少心律失常的发生。

[关键词]: 缺血再灌注;L-型钙通道;心肌细胞;全细胞膜片钳技术

[中图分类号]: R654.1 **[文献标识码]:** A **[文章编号]:** 1672-1403(2012)03-0162-05

Effect of NDP solution on L - type calcium channel in ischemia - reperfusion neonatal rat myocytes

Wu Bei, Hei Fei-long, Sun Liang, Chen Meng-meng, Long Cun

Department of Cardiopulmonary bypass, Cardiovascular Institute and Fuwai Hospital, CAMS and PUMC, Peking Union Medical College, Beijing 100037

Corresponding author: Hei Fei-long, Email: heifeilong@yahoo.com

[Abstract]: Objective To study the effect of nondepolarizing (NDP) cardiac preservation solution on L-type calcium channel (I_{Ca-L}) in ischemia-reperfusion (I/R) neonatal rat myocytes. **Methods** Cardiomyocytes were primary cultured for 18-48 h before using in the experiment. Cells were treated without I/R in the Con group, with I/R in the I/R group and with I/R plus NDP solution in the NDP group. Whole cell patch clamp was used to record the current and gating. **Results** The peak current density in the I/R group decreased significantly than the Con group (-9.0 ± 3.8 pA/pF vs -15.1 ± 8.8 pA/pF, $P < 0.05$). Compared with the Con group, the I-V curve of the I/R group up-shifted, activation curve and inactivation curve left-shifted and recovery curve right-shifted. Compared with the I/R group, the peak current density in the NDP group increased (-11.4 ± 6.7 pA/pF vs -9.0 ± 3.8 pA/pF, $P < 0.05$). The I-V curve of the I/R group down-shifted, activation curve and inactivation curve right-shifted and the recovery curve left-shifted compared with the I/R group. **Conclusion** NDP solution could alleviate the effect of current inhibition and gating alteration induced by I/R injury in neonatal rat myocytes, which is beneficial to prevent arrhythmias and protect the cardiac contraction and dilatation.

[Key words]: Ischemia-reperfusion; L-type calcium channel; Myocytes; Whole cell patch clamp

心肌缺血再灌注(ischemia-reperfusion, I/R)

基金项目: 国家自然科学基金(30972866);

北京市自然科学基金(7102131)

作者单位: 100037 北京,北京协和医学院 中国医学科学院
阜外心血管病医院 体外循环科

通讯作者: 黑飞龙, Email: heifeilong@yahoo.com

损伤可引起心肌细胞离子和能量失衡,这主要与心肌细胞膜上的离子通道和离子交换体的异常活动相关^[1]。L-型钙离子通道(I_{Ca-L})是影响心肌细胞动作电位时程和心肌 I/R 损伤中细胞内钙超载的中心环节^[2-3]。前期研究显示,非去极化停搏液(non-depolarizing solution, NDP)对于 I/R 损伤离体大鼠心

脏具有保护作用^[4-5]。本研究旨在研究 NDP 液对 I/R 心肌细胞 I_{Ca-L} 的影响,探讨 NDP 液对 I/R 心肌产生保护效果的电生理机制。

1 材料与方法

1.1 试剂与溶液

1.1.1 试剂 胰蛋白酶 (sigma 公司)、II 型胶原酶 (worthington 公司)、D-PBS 液 (碧云天公司);高糖 DMEM、低糖 DMEM、双抗 (青霉素和链霉素)以及胎牛血清 (FBS) (Gibco 公司)。

1.1.2 溶液 非去极化停搏液 (NDP); I_{Ca-L} 电流检测细胞外液 (mmol/L): 氯化胆碱 (Choline - Cl) 137、 $MgCl_2$ 1、 $CaCl_2$ 2、HEPES 5、葡萄糖 10、CsCl 4.6、TEA - ClO_2H_2O 10、4-AP 5、CsOH 调 pH 值至 7.3; I_{Ca-L} 电流检测细胞内液 (mmol/L): CsCl 120、 $MgCl_2$ 1、HEPES 10、EGTA 10、 $MgATP$ 5、TEA - ClO_2H_2O 10、CsOH 调 pH 至 7.3。所有电极内液用 0.22 μm 微孔滤膜过滤。

1.2 主要实验器材 Axopatch 700 B 膜片钳放大器、Diadata 1322 A/D 和 D/A 数据转换器 (美国 Axon 公司); MP-225 微操作器 (美国 Sutter 公司)、MF-830 水平微电极控制器 (日本 NARISHIGE 公司)、IX71 倒置荧光显微镜 (日本 OLYMPUS 公司); 软件: pClampex 10.0 (美国 Axon 公司)、Clampfit 10.0 (美国 Axon 公司)、OriginPro 8.5 (美国 Microcal Software 公司); 超净工作台、恒温培养箱、离心机 (SIGMA), 培养皿及一次性耗材 (普京公司); 缺氧产气包和缺氧指示条 (法国 bioMerieux sa 公司); 缺氧密封盒。

1.3 乳鼠心肌细胞原代培养 选择出生后 1~3 d 的 Sprague-Dawley 大鼠,雌雄不限,断颈处死乳鼠后迅速剪取心脏置于 D-PBS 液中反复清洗,剪去心包、心房,将心脏剪碎至约 1 mm^3 的小块,加入 0.03% 胰蛋白酶溶液及 0.06% II 型胶原酶的混合液,37°C 水浴消化得到细胞悬液,以 1 000 rpm 离心 8 min 后弃上清,加入含胎牛血清的培养基,再制成细胞悬液后转入培养皿中,应用差速贴壁法 60 min 去除内皮细胞及成纤维细胞后,吸取细胞悬液,重新离心后弃上清,加入含胎牛血清的培养基,将上清液细胞以每板 2.0×10^4 的细胞密度均匀接种至 3.5 cm 培养皿中,于 37°C 含 5% CO_2 的培养箱中培养备用。

1.4 乳鼠心肌细胞缺血再灌注模型的建立 选择培养 18~48 h 的细胞用于实验。弃去原培养基,D-PBS 液清洗 1~2 次后,加入模拟缺血的培养基 (含低糖的 DMEM、双抗,不含 FBS)。将培养皿放

入缺氧盒中,放入缺氧包,迅速密封,置于培养箱中 3.5 h 模拟缺氧 (用缺氧指示条检测,缺氧包密封 0.5 h 后才能致 100% 缺氧)。3.5 h 后,弃去低糖无 FBS 培养基,以正常的培养基替换,再放入培养箱中培养 1 h,模拟再灌注。

1.5 各组处理 对照组 (Con): 细胞不经过 I/R 处理;缺血再灌注 (I/R) 组: 细胞经 I/R 处理的过程中不加入其他干预;NDP 组: 在模拟 I/R 处理的过程中,以 1:4 的比例将 NDP 液加入细胞培养基中进行干预。细胞处理后,进行膜片钳实验前,用细胞外液反复轻柔冲洗 4~5 次,去除残余的细胞培养基和 NDP 液后方可用于膜片钳电流记录。

1.6 乳鼠心肌细胞 I_{Ca-L} 电流的记录 使用厚壁玻璃微电极,由 P-97 水平微电极控制器控制,内充记录 I_{Ca-L} 电流的细胞内液,入液电阻在 1~3 M Ω 之间。电极入液后补偿液接电位,进行高阻封接,稳定 1 min 后补偿电极电容,负压吸引破膜形成全细胞记录模式。稳定 1 min 后,进行膜电容补偿,补偿串联电阻至 75%。操作时间控制在 (10 \pm 5) min。

1.6.1 I_{Ca-L} 电流电压曲线 (I-V 曲线) 刺激方案: V_h 为 -70 mV, V_t 从 -60 mV 开始,以 10 mV 阶跃刺激至 +60 mV,时程 250 ms,刺激频率 1 Hz,采样频率 5 kHz。在 OriginPro 8.5 程序中,以测试电压为 +10 mV 引出的电流对测试时间作电流图;以不同测试电压下峰值电流密度 (电流/膜电容, pA/pF) 对相应电压做 I-V 曲线。

1.6.2 I_{Ca-L} 稳态激活曲线 刺激方案同 1.6.1。在 OriginPro 8.5 程序中,以不同条件脉冲下的通道相对电导 (G/G_{max}) 对相应电压做散点图,用 Boltzman 方程拟合,得到半激活电压 ($V_{1/2ac}$) 和激活曲线斜率 (k_{ac})。

1.6.3 I_{Ca-L} 稳态失活曲线 刺激方案: V_h -70 mV,条件脉冲从 -60 mV 开始,阶跃 10 mV 去极化至 +40 mV,持续时间 1 000 ms,然后紧跟给一个去极化至 +10mV,持续时间为 250 ms 的测试电压。在 OriginPro 8.5 程序中,以不同条件脉冲下的通道相对电流 (I/I_{max}) 对相应电压做散点图,用 Boltzman 方程拟合,得到半失活电压 ($V_{1/2ina}$) 和失活曲线斜率 (k_{ina})。

1.6.4 I_{Ca-L} 失活后恢复曲线 刺激方案: 采用双脉冲刺激法, V_h 为 -70 mV,给予 +20 mV、250 ms 的两个同样刺激 (P1 和 P2),两刺激间隔保持 V_h -70 mV,间隔时程 Δt 依次增大,分别为 1, 3, 5, 8, 12, 20, 40, 60, 100, 160, 300, 500, 1 000 ms,分别记录和 P2 对应的峰电流。在 OriginPro 8.5 程序中,以 I/

I_{max} 对 Δt 作出稳态失活后恢复曲线散点图,用单指数方程进行拟合,得到时间常数 τ 值。

1.7 数据处理及统计学分析 所有数据均使用 SAS 软件(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)进行分析,实验数据均以均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析和 Dunnett's t 检验对数据进行统计,各组间两两比较采用 Student - Newman - Keuls 检验。以 $P \leq 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 正常 SD 乳鼠心肌细胞 L-型钙电流的特性

使用 I_{Ca-L} 的细胞内外液和 I-V 关系刺激方案在正常 SD 乳鼠心肌细胞上能记录到快速激活、缓慢失活的内向电流。该电流从 -30 mV 开始激活,峰值电位在 0 ~ 10 mV,翻转电位 +60 mV;在 5 ms 左右达到高峰,250 ms 基本完全失活。其激活和失活过程均呈电压和时间依赖性。电流能被 0.3 mmol/L 的氯化镉完全阻断,表明为 I_{Ca-L} 。记录的电流在 15 min 内无衰减。

2.2 乳鼠心肌细胞 I_{Ca-L} 峰值电流的变化 I_{Ca-L} I-V 关系刺激方案中,测试电压为 +10 mV 所引出的峰值电流与细胞膜电容的比值为 I_{Ca-L} 峰值电流密度。I/R 组和 NDP 组的峰值电流较对照组显著降低;NDP 组峰值电流高于 I/R 组。见表 1、图 1 A。

2.3 乳鼠心肌细胞 I_{Ca-L} I-V 曲线的变化 I/R 组和 NDP 组的 I-V 曲线较对照组上移,NDP 组较 I/R 组下移。对照组、I/R 组和 NDP 组的翻转电位分别为 (+60 \pm 11) mV、(+38 \pm 9) mV 和 (+46 \pm 12) mV。(见图 1 B)。

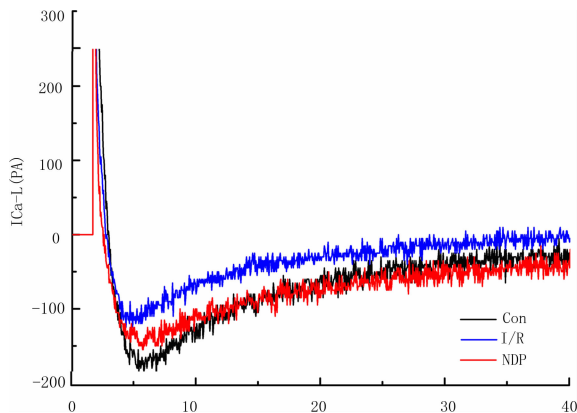


图 1(A)

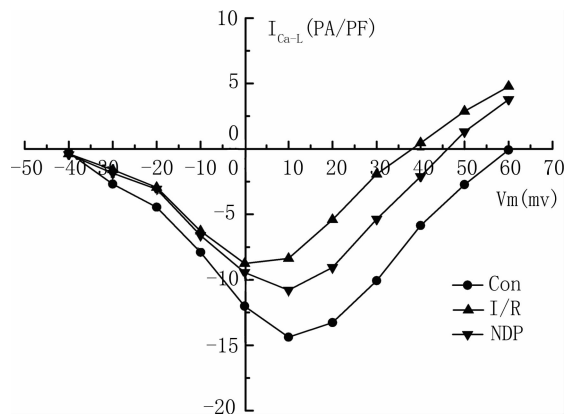


图 1(B)

图 1 各组心肌细胞电流峰值和 I-V 曲线的变化

2.4 乳鼠心肌细胞 I_{Ca-L} 稳态激活曲线的变化 与对照组相比 I/R 和 NDP 组的稳态激活曲线左移,I/R 组较 NDP 组左移。各组半激活电压($V_{1/2ac}$)和激活斜率因子(K_{ac})间无统计学差异。见表 1、图 2。

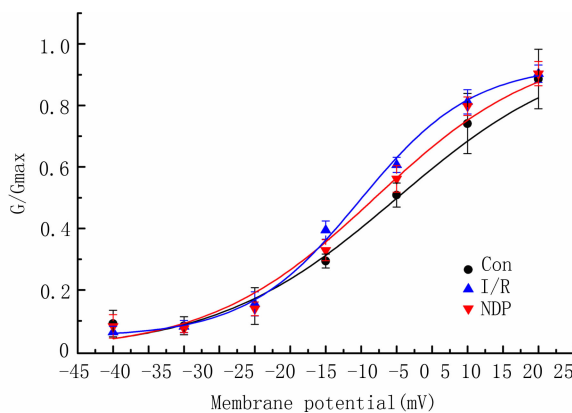


图 2 各组心肌细胞稳态激活曲线的变化

表 1 各组心肌细胞 I_{Ca-L} 特性($\bar{x} \pm s$)

项目	Con 组 (n=8)	I/R 组 (n=10)	NDP 组 (n=12)
峰值电流密度			
I_{Ca-L} (pA/pF)	-15.1 \pm 8.8	-9.0 \pm 3.8 *	-11.4 \pm 6.7 **
稳态激活			
$V_{1/2ac}$ (mV)	-2.7 \pm 0.9	-7.0 \pm 3.8	-6.8 \pm 4
K_{ac} (mV)	9.8 \pm 2.6	9.2 \pm 2.2	8.5 \pm 3.0
稳态失活			
$V_{1/2ina}$ (mV)	-16.7 \pm 4.2	-21.0 \pm 3.2 *	-19.2 \pm 6.3
K_{ina} (mV)	5.6 \pm 1.1	5.2 \pm 0.8	6.0 \pm 2.9
失活后恢复			
τ (ms)	71.4 \pm 21.8	100.0 \pm 13.7	76.8 \pm 28.5

注:与 Con 组比较 * $P < 0.05$,与 I/R 组比较 # $P < 0.05$ 。

2.5 乳鼠心肌细胞 I_{Ca-L} 稳态失活曲线的变化 与对照组相比 I/R 和 NDP 组的稳态失活曲线左移,I/

R 组较 NDP 组左移。I/R 组失活电压 ($V_{1/2\text{ina}}$) 显著高于对照组和 NDP 组 ($P < 0.05$); 各组失活斜率因子 (K_{ina}) 无统计学差异。见表 1、图 3。

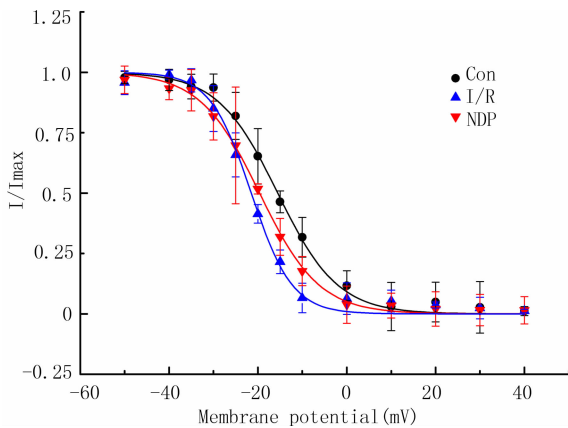


图 3 各组心肌细胞稳态失活曲线的变化

2.6 乳鼠心肌细胞 $I_{\text{Ca-L}}$ 失活后恢复曲线的变化

与对照组相比, I/R 组和 NDP 组恢复曲线右移, I/R 组右移更加明显。各组恢复时间常数 (τ) 无统计学差异。见表 1、图 4。

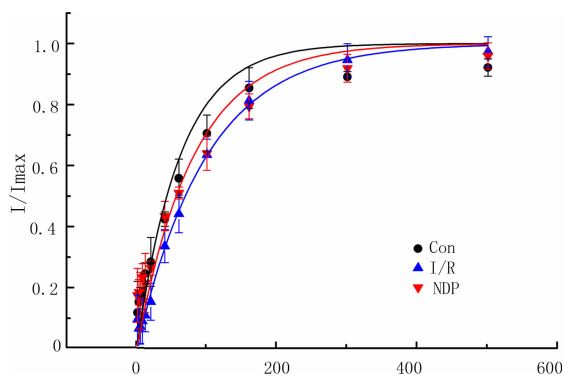


图 4 各组心肌细胞失活后恢复曲线的变化

3 讨论

$I_{\text{Ca-L}}$ 是心肌细胞膜上 Ca^{2+} 内流的主要通道, 是维持心肌细胞动作电位平台期的主要离子流。 Ca^{2+} 通过 $I_{\text{Ca-L}}$ 进入细胞后, 可触发细胞内质网钙储备的释放, 引起心肌兴奋-收缩耦联的发生, 对心肌收缩力^[6-7]、胞内钙超载和心肌细胞凋亡有重要影响^[8]。 I/R 期间, 心肌细胞膜上 $I_{\text{Ca-L}}$ 通道特性的改变, 直接影响到 I/R 后心脏收缩和舒张功能的恢复以及心律失常的发生。

本实验结果表明, 心肌细胞 I/R 后 $I_{\text{Ca-L}}$ 的峰值电流密度比正常细胞明显降低, I-V 曲线上移, 翻

转电位减小, 稳态激活曲线和失活曲线左移, 恢复曲线右移, 提示 I/R 后心肌细胞膜上 $I_{\text{Ca-L}}$ 电流强度降低, 激活和失活变快, 恢复减慢; 在细胞培养基中加入 NDP 液对细胞进行保护, I/R 后心肌细胞 $I_{\text{Ca-L}}$ 的峰值电流密度较 I/R 组增大, I-V 曲线下移, 翻转电位增大, 稳态激活曲线和失活曲线右移, 恢复曲线左移, 提示在 I/R 期间加入 NDP 液对细胞进行保护后, $I_{\text{Ca-L}}$ 的电流强度增大, 失活变慢, 恢复加快。

I/R 损伤会引起心肌外 Ca^{2+} 通过钠-钙交换、受损的 $I_{\text{Ca-L}}$ 等途径进入细胞, 造成细胞内“钙超载”, 在 Ca^{2+} 浓度相同的细胞外液中, I/R 后的心肌细胞内外 Ca^{2+} 浓度梯度比正常细胞小, $I_{\text{Ca-L}}$ 激活后, 细胞内外 Ca^{2+} 平衡加快, 因而 $I_{\text{Ca-L}}$ 的翻转电位减小。 I/R 期间心肌细胞离子和能量平衡被破坏, 细胞内外离子浓度梯度降低, 胞膜处于去极化状态, $I_{\text{Ca-L}}$ 大多处于失活态, $I_{\text{Ca-L}}$ 的磷酸化过程受到抑制, 因此, I/R 后心肌细胞的峰值电流密度降低, I-V 曲线明显上移。就心脏整体而言, 心肌细胞膜上 $I_{\text{Ca-L}}$ 的这种改变会造成心肌细胞动作电位时程缩短, 复极过程加快, 易导致心脏各部位心肌复极不一致, 从而诱发折返性心律失常^[9]。

NDP 液是一种非去极化心脏停搏液, 它含有可以将心肌细胞的膜电位控制在静息水平或超极化状态的腺苷、利多卡因和尼可地尔, 减少了 I/R 期间心肌细胞内外的损伤性离子流动及能量损耗。翻转电位增大表明在 I/R 期间心肌细胞内钙超载的程度较 I/R 组减轻, 同时由于心肌细胞膜电位的去极化程度降低, $I_{\text{Ca-L}}$ 大多处于关闭态 (非失活态), 因此, $I_{\text{Ca-L}}$ 的峰值电流密度高于 I/R 组, I-V 曲线下移。这种 $I_{\text{Ca-L}}$ 活性的维持保证了心肌细胞兴奋-收缩耦联的产生, 对心脏收缩功能的恢复有重要意义。此外, 心肌动作电位时程的延长, 复极过程减慢, 可防止心肌复极不一致, 降低心律失常的发生。

心肌细胞 I/R 后 $I_{\text{Ca-L}}$ 的激活和失活变快, 其中半失活电压降低的幅度较对照组和 NDP 组有统计学意义, 这会造成失活曲线与激活曲线间的“钙窗流”区域增大^[10], 钙稳态破坏。此时, $I_{\text{Ca-L}}$ 既已经激活, 又没有完全失活, 心肌细胞内肌浆网对钙调节的作用障碍, 增大的“钙窗流”会导致心肌细胞内钙超载加重。这容易诱发早期后除极和晚期后除极, 形成触发活动, 导致室性心律失常的发生^[11]。 NDP 组 $I_{\text{Ca-L}}$ 的激活和失活较 I/R 组减慢, 而半失活电压显著升高, 由“钙窗流”引起的细胞内钙超载程度减轻, 有利于钙稳态的维持。

正常的 $I_{\text{Ca-L}}$ 峰值电流密度和门控特性对于心

脏兴奋性、心肌收缩力以及心肌细胞正常生理功能的进行具有重要作用。本研究结果表明, I/R 心肌细胞 I_{Ca-L} 的峰值电流密度降低, 门控特性改变, 这不利于 I/R 后心脏功能的恢复, 易导致心律失常的发生。NDP 液中含有可以抵抗 I/R 损伤的有效成分, 主要包括: ATP 敏感性钾离子通道 (K_{ATP}) 开放剂腺苷和尼可地尔、快钠通道阻滞剂利多卡因, 它们可在 I/R 期间维持心肌细胞膜电位的稳定, 减轻心肌细胞膜损伤性离子流动和能量的损耗; 组氨酸系统具有强大的缓冲能力, 可有效防止细胞内酸中毒; 谷胱甘肽可抵抗心肌细胞氧自由基的损伤。NDP 液中这些成分的优势可帮助减轻 I/R 损伤后心肌细胞 I_{Ca-L} 电流强度和门控特性的改变, 有利于心脏收缩和舒张功能的恢复和减少心律失常的发生。

参考文献:

[1] Maczewski M, Beresewicz A. Role of nitric oxide and free radicals in cardioprotection by blocking Na^+/H^+ and Na^+/Ca^{2+} exchange in rat heart [J]. *Eur J Pharmacol*, 2003, 461 (2-3): 139-147.

[2] Tolkacheva EG, Anumonwo JM, Jalife J. Action potential duration restitution portraits of mammalian ventricular myocytes; role of calcium current [J]. *Biophys J*, 2006, 91 (7): 2735-2745.

[3] Hagihara H, Yoshikawa Y, Ohga Y, *et al.* Na^+/Ca^{2+} exchange inhibition protects the rat heart from ischemia-reperfusion injury by blocking energy-wasting processes [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2005, 288 (4): H1699-H1707.

[4] 黑飞龙, 王寿世, 曹焕军, 等. 阜外极化停搏液大鼠离体心肌保护效果研究 [J]. *中国体外循环杂志*, 2008, 6 (3): 183-186.

[5] 孙亮, 龙村, 黑飞龙, 等. 缺血再灌注处理对乳鼠心肌细胞钠电流的影响 [J]. *中国体外循环杂志*, 2011, 9 (1): 28-31.

[6] Gómez AM, Guatimosim S, Dilly KW, *et al.* Heart failure after myocardial infarction; altered excitation-contraction coupling [J]. *Circulation*, 2001, 104 (6): 688-693.

[7] Macdonald WA, Hool LC. The effect of acute hypoxia on excitability in the heart and the L-type calcium channel as a therapeutic target [J]. *Curr Drug Discov Technol*, 2008, 5 (4): 302-311.

[8] Viola HM, Arthur PG, Hool LC. Transient exposure to hydrogen peroxide causes an increase in mitochondria-derived superoxide as a result of sustained alteration in L-type Ca^{2+} channel function in the absence of apoptosis in ventricular myocytes [J]. *Circ Res*, 2007, 100 (7): 1036-1044.

[9] Aggarwal R, Boyden PA. Diminished Ca^{2+} and Ba^{2+} currents in myocytes surviving in the epicardial border zone of the 5-day infarcted canine heart [J]. *Circ Res*, 1995, 77 (6): 1180-1191.

[10] 刘泰樾. 心肌细胞电生理学 - 离子通道, 离子载体和离子流 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005.

[11] Bers DM. Cardiac excitation-contraction coupling [J]. *Nature*, 2002, 415 (6868): 198-205.

(收稿日期: 2012-06-18)

(修订日期: 2012-06-26)

(上接第 154 页)

[17] De Silva KR, Silva R, Gunasekera WS, *et al.* Prevalence of typical circle of Willis and the variation in the anterior communicating artery: A study of a Sri Lankan population [J]. *Ann Indian Acad Neurol*, 2009, 12 (3): 157-161.

[18] 侯晓彤, 孙衍庆, 张宏家, 等. Stanford A 型主动脉夹层手术中股动脉插管的应用 [J]. *心肺血管病杂志*, 2005, 24 (2): 68-70.

[19] 许飏, 李德闽, 李忠东, 等. 主动脉弓部手术中脑保护技术的应用分析 [J]. *医学研究生学报*, 2010, 23 (8): 827-829.

[20] Pacini D, Di Marco L, Leone A, *et al.* Cerebral functions and metabolism after antegrade selective cerebral perfusion in

aortic arch surgery [J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2010, 37 (6): 1322-1331.

[21] Svensson LG. New and future approaches for spinal cord protection [J]. *Semin Thorac Cardiovasc Surg*, 1997, 9 (3): 206-221.

[22] 许飏, 李云, 吴海卫, 等. 基质金属蛋白酶-1、-8、-13 在急性胸主动脉夹层中的表达及意义 [J]. *医学研究生学报*, 2010, 23 (8): 848-851

(收稿日期: 2012-02-14)

(修订日期: 2012-04-09)