

· 研究原著 ·

文章编号 1000-2790(2006)14-1259-04

## 哮喘豚鼠气道重构中基质金属蛋白酶-9 及抑制物 TIMP-1 的表达

王光辉<sup>1</sup>, 金发光<sup>1</sup>, 楚东岭<sup>1</sup>, 段 丽<sup>2</sup>( <sup>1</sup> 第四军医大学唐都医院呼吸科, 陕西 西安 710038, <sup>2</sup> 第四军医大学基础部神经科学研究所, 陕西 西安 710033 )

### Expressions of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in airway remodeling of asthmatic guinea pigs

WANG Guang-Hui<sup>1</sup>, JIN Fa-Guang<sup>1</sup>, CHU Dong-Ling<sup>1</sup>, DUAN Li<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Respiratory Diseases, Tangdu Hospital, Xi'an 710038, China, <sup>2</sup>Institute of Neurosciences, School of Basic Medicine, Fourth Military Medical University, Xi'an 710033, China

**【Abstract】** AIM: To investigate the roles of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) in airway remodeling of asthmatic guinea pigs. **METHODS:** Guinea pigs were sensitized with ovalbumin conjugated with Al(OH)<sub>3</sub>, and subsequently challenged repeatedly with ovalbumin aerosol. The guinea pigs were randomly divided into the control group, asthmatic 4, 6, 8-week groups. The expressions of MMP-9 and TIMP-1 in bronchi and lung tissues were observed by immunohistochemistry combined with the micro-image analysis. The levels of MMP-9 mRNA and TIMP-1 mRNA were determined by semi-quantitative PCR. **RESULTS:** ① After repeated allergen challenge, smooth muscle hyperplasia was obvious in guinea pig bronchi. Expression levels of MMP-9 and TIMP-1 in the epithelial cells of bronchi were significantly higher in asthmatic animals than those of control group. ② The expression of MMP-9 in asthmatic guinea pigs' lung tissues was 0.52 ± 0.05 in 4-week group, 0.74 ± 0.05 in 6-week group, 0.48 ± 0.04 in 8-week group, 0.21 ± 0.04 in control group (P < 0.05). The expression of TIMP-1 in asthmatic guinea pigs' lung tissues was 0.36 ± 0.04 in 4-week group, 0.83 ± 0.05 in 6-week group, 0.97 ± 0.05 in 8-week group, 0.20 ± 0.02 in control group (P < 0.05). ③ The results of immunocytochemistry were consistent with those of RT-PCR. ④ The up-regulation of MMP-9 expression become slower than TIMP-1 since the 4th week in asthmatic animals. So ratio of MMP-9/TIMP-1 was decreased.

收稿日期 2006-01-12; 接受日期 2006-04-07

通讯作者 金发光. Tel: (029) 84777425 Email: jinfag@fmmu.edu.cn

作者简介 王光辉. 硕士生(导师金发光), 医师. Tel: (029) 84777725

Email: wghui75@yahoo.com

**CONCLUSION:** The expression levels of MMP-9 and TIMP-1 were closely correlated with asthma airway remodeling, and the ratio of MMP-9/TIMP-1 may reflect the degree of asthma airway remodeling.

**【Keywords】** asthma; airway remodeling; gelatinase B; tissue inhibitor of metalloproteinase-1

**【摘要】**目的: 探讨哮喘豚鼠模型中基质金属蛋白酶(MMPs)及其组织抑制因子(TIMP)在哮喘气道重构发病中的作用. 方法: 重复雾化吸入卵蛋白建立豚鼠哮喘气道重构模型. 实验分为对照组、哮喘激发4、6和8 wk组. 免疫组化方法结合显微图像分析检测MMP-9、TIMP-1的表达. 半定量PCR检测MMP-9及TIMP-1 mRNA水平. 结果: ①哮喘各组动物均出现管壁增厚、平滑肌增生等气道重构的特征性改变. ②哮喘豚鼠MMP-9的mRNA表达: 哮喘4 wk组为(0.52 ± 0.05), 哮喘6 wk组为(0.74 ± 0.05), 哮喘8 wk组为(0.48 ± 0.04), 对照组为(0.21 ± 0.04); 哮喘各组与对照组间比较差异有统计学意义(P < 0.05). 哮喘豚鼠TIMP-1的mRNA水平: 哮喘4 wk组为(0.36 ± 0.04); 哮喘6 wk组为(0.83 ± 0.05); 哮喘8 wk组为(0.97 ± 0.05); 对照组为(0.20 ± 0.02); 哮喘各组与对照组间比较差异有统计学意义(P < 0.05). ③免疫组化的结果和RT-PCR的结果一致. ④在哮喘各时段组中, MMP-9的表达增高自第4 wk时明显变缓, 而TIMP-1仍持续增高, 导致MMP-9/TIMP-1比例下降. 结论: 哮喘的气道重构与MMP-9和TIMP-1的表达密切相关, 而二者的比例可能反映气道重构的严重程度.

**【关键词】**哮喘; 气道重构; 明胶酶B; 金属蛋白酶1组织抑制剂

**【中图分类号】** R562.2**【文献标识码】** A

## 0 引言

气道重构是气道反复炎症损伤与修复的结果, 是造成哮喘患者不可逆气道阻塞的病理生理基础, 主要表现为细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的沉积、基底膜增厚、气道平滑肌增生和肥厚等改变. 其中ECM在气道壁沉积过多是引起气道壁纤维化和气流阻塞的主要原因之一<sup>[1]</sup>. 正常ECM的合成与降解处于一个动态平衡之中, 基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinases, MMP-9)与基质金属蛋白酶抑制因子-1(tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMP-1)平

衡是维持 ECM 内环境稳定的决定因素<sup>[2]</sup>。本实验通过复制豚鼠哮喘模型,利用免疫组化和 RT-PCR 方法测量不同阶段哮喘豚鼠模型肺中 MMP-9 及 TIMP-1 含量变化,并了解 MMPs/TIMP 在哮喘发病中的作用。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 卵蛋白、结合生物素的羊抗兔 IgG 血清、ABC 复合物均购自美国 Sigma 公司;兔抗 TIMP-1 抗体、兔抗 MMP-9 抗体购自武汉博士德公司;Trizol 试剂购自美国 Invitrogen 公司;Taq 酶购自日本 Promega 公司;MMP-9 和 TIMP-1 上下游引物由北京奥科公司合成;#02 型超声雾化吸入器购自上海合力医疗器械厂;PTC-100 型 PCR 仪为美国 Bio-Rab 公司产品;雄性豚鼠 32 只,体质量 200~250 g,由第四军医大学试验动物中心提供。

### 1.2 方法

**1.2.1 动物分组及模型制备** 实验动物随机分为对照组和哮喘 4、6 和 8 wk 组,每组 8 只。各哮喘组于第 1 日腹腔注射卵蛋白(含等量氢氧化铝凝胶)0.1 mg,1 wk 后雾化吸入 10 g/L 浓度的卵蛋白溶液激发哮喘,隔日 1 次,每次 20 min,根据分组分别激发 4、6 和 8 wk。第 1 次激发后豚鼠即开始喘息,表现为呼吸加深加快,肋间隙凹陷,哮喘发作严重者可出现窒息;喘息后即将动物移出瓶外,喘息可持续 30 min,甚至更长,对照组同样于第 1 日腹腔注射生理盐水 0.9 mg,1 wk 后将动物置于半封闭玻璃罩内雾化吸入生理盐水约 20 min,隔日 1 次,雾化吸入生理盐水 8 wk。

**1.2.2 动物模型肺组织取材、固定、切片** 各组模型于末次激发 48 h 后以戊巴比妥钠腹腔注射(40 mg/kg)麻醉豚鼠,开胸留取豚鼠左肺置于液氮中速冻,-70℃ 保存备用,经肺动脉灌注 100 mL 生理盐水,继以新配制的 40 g/L 多聚甲醛 PBs(0.1 mol/L,pH 7.4)600 mL 持续灌注 90 min,并将右肺取下后固定 24 h,入 200 g/L 蔗糖+含氟 PB 溶液中 4℃ 过夜至标本下沉,OCT 包埋,恒冷箱切片机连续切片(厚 15 μm),-20℃ 保存备用。

**1.2.3 免疫组化染色** 肺组织切片贴于载玻片上,室温干燥 30 min 后,以 0.01 mol/L KPBS(pH 7.4)浸洗,经 800 mL/L 甲醇+30 mL/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 封闭 15 min, KPBS 浸洗 3 次×10 min,切片入兔抗 MMP-9 血清(1:100)室温孵育 24 h。KPBS 浸洗 3 次×10 min,入结合生物素的羊抗兔 IgG 血清(1:500),室温孵育 2 h, KPBS 浸洗 3 次×10 min,入 ABC 复合物(1:500)室温孵育 2 h,葡萄糖氧化酶-DAB-硫酸镍胺法显色。显色反应终止后,常规脱水,中性树胶封片。同样方

法利用兔抗 TIMP-1 染色切片。每张切片在显微镜下随机选取 5 个支气管,以棕黄色颗粒在胞质的沉积为阳性。图像分析各支气管细胞染色的平均密度以代表 MMP-9, TIMP-1 的表达强度。

**1.2.4 MMP-9 及 TIMP-1 半定量 PCR** 用 Trizol 试剂提取备用肺组织总 RNA,合成 cDNA,半定量 PCR 反应体系:Taq 酶 33.34 nkat, Buffer 2 μL, dNTP (10 μmol/L)1 μL, MMP-9 上游引物(5'-AAGGATGGTC-TACTGGCACA-3')10 μmol/L, 0.5 μL, MMP-9 下游引物(5'-GAAGATGAATGGAAATACGC-3', 10 μmol/L), 0.5 μL, 模板 1 μL, 总反应体积 20 μL。反应条件 94℃ 1 min; 56℃ 45 s; 72℃ 1 min, 35 个循环。TIMP-1 引物:上游 5'-ACAGCTTTCTGCAACTCG-3', 下游 5'-CTATAGGTCTTTACGAAGGCC3', PCR 产物长度为 364 bp, 条件 98℃ 变性 10 min, 然后再 94℃ 变性 1 min, 61℃ 退火 50 s, 72℃ 延伸 1 min, 共 35 个循环, 最后 72℃ 延伸 10 min。PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳后采用凝胶成像分析系统读取其灰度值。

统计学处理:各组间数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS11.0 统计软件进行统计分析,采用 ONE-WAY ANOVA 分析,组间两两比较采用 SNK-q 检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

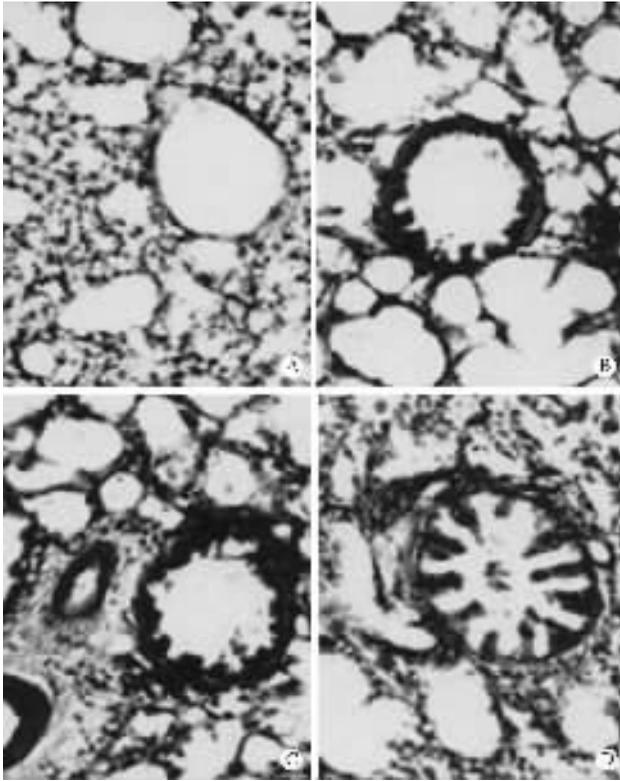
**2.1 哮喘动物模型的制作** 本实验中对照组豚鼠每次雾化吸入生理盐水均未见动物发生哮喘,各哮喘组第 1 次雾化吸入卵蛋白溶液可见哮喘发作,约激发 3 次可见明显哮喘发作,哮喘发作重者甚至可窒息致死。

**2.2 组织病理学改变** 各组豚鼠肺组织冰冻切片光镜下见:哮喘各组细支气管上皮变性,细胞脱落,支气管黏膜皱襞增多,肺泡隔增厚明显,并随着激发时间的增长逐渐增厚,在哮喘 8 wk 组表现最为明显。对照组豚鼠肺组织支气管及肺泡结构正常(图 1)。

**2.3 MMP-9 及 TIMP-1 在豚鼠模型肺组织的表达** 结果显示,哮喘各组与对照组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),其中 MMP-9 的表达 6 wk 组高于 4 wk 组和 8 wk 组( $P < 0.05$ ),4 wk 组和 8 wk 组相比差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。在 TIMP-1 的表达中,8 wk 组均高于 6 wk 组和 4 wk 组( $P < 0.01$ ),6 wk 组则高于 4 wk 组( $P < 0.01$ ),而 MMP-9/TIMP-1 则随着哮喘激发时间的加长也明显下降(表 1)。

**2.4 豚鼠模型肺组织中 MMP-9 和 TIMP-1 mRNA 的表达水平** 由表 2 可见, MMP-9 的表达哮喘各组均高于正常对照组( $P < 0.01$ ),6 wk 组高于 4 wk 组

和 8 wk 组 ( $P < 0.01$ ) 4 wk 组和 8 wk 组相比差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。在 TIMP-1 的表达中,哮喘各组高于对照组 ( $P < 0.01$ ) 8 wk 组高于 6 wk 组和 4 wk 组 ( $P < 0.05$ ) 6 wk 组则高于 4 wk 组 ( $P < 0.01$ )。



A 对照组 B 激发 4 wk 组 C 激发 6 wk 组; D 激发 8 wk 组。

图 1 各组豚鼠气道的 HE 染色结果  $\times 200$

表 1 各组豚鼠支气管 MMP-9, TIMP-1 免疫组化结果及 MMP-9/TIMP-1 比值变化 ( $n=8, \bar{x} \pm s$ )

组别	MMP-9	TIMP-1	MMP-9/TIMP-1
对照	41.5 $\pm$ 7.1	39.2 $\pm$ 6.0	1.06 $\pm$ 0.11
4 wk	61.6 $\pm$ 5.4 <sup>a</sup>	54.9 $\pm$ 5.5	1.12 $\pm$ 0.12
6 wk	70.0 $\pm$ 5.4	80.8 $\pm$ 4.9	0.87 $\pm$ 0.05
8 wk	59.8 $\pm$ 3.9	90.2 $\pm$ 3.9 <sup>b</sup>	0.66 $\pm$ 0.05

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 对照。

表 2 各组豚鼠支气管 MMP-9, TIMP-1 mRNA 表达及 MMP-9/TIMP-1 比值变化 ( $n=8, \bar{x} \pm s$ )

组别	MMP-9	TIMP-1	MMP-9/TIMP-1
对照	0.21 $\pm$ 0.04	0.20 $\pm$ 0.02	1.02 $\pm$ 0.10
4 wk	0.52 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	0.36 $\pm$ 0.04	1.42 $\pm$ 0.12
6 wk	0.74 $\pm$ 0.05	0.83 $\pm$ 0.05	0.91 $\pm$ 0.06
8 wk	0.48 $\pm$ 0.04	0.97 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	0.49 $\pm$ 0.04

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 对照。

### 3 讨论

长期以来,人们认为气道重建的发生是在慢性炎症基础上逐渐进展的<sup>[3]</sup>。MMPs 是调节 ECM 代谢的主要限速酶,并在组织细胞的分化、维持正常组织结构、细胞信号转导、血管形成、创伤的愈合、炎症反应等多种生理病理过程中发挥重要作用。所有的 MMPs 中, MMP-9 和哮喘关系最密切<sup>[4]</sup>。MMP-9 能降解多种 ECM 成分, TIMP-1 是 MMP-9 的特异性抑制剂。在健康个体, MMP-9 和 TIMP-1 以 1:1 的比例共同释放。而在哮喘发作时痰液中测得 MMP-9/TIMP-1 比值增高<sup>[5]</sup>, 表明在哮喘气道重构过程中, MMPs/TIMP 表达失衡可能起到更为重要作用。本实验观察发现,各哮喘组均存在气道重建,并且随着激发时间加长,豚鼠支气管平滑肌厚度增厚,气道重建的表现更加明显。哮喘发作时, MMP-9 升高,降解 ECM,有利于炎症细胞迁移至炎症部分,同时 MMP-9 降解的基质片段具有对炎症细胞的趋化作用,促进炎症的进一步发展;当 MMP-9 过度表达的同时, TIMP-1 也随之升高以具有抑制 MMP-9 的作用,并抑制 ECM 的降解,而 TIMP-1 的相对于 MMP-9 的过度升高,最终导致 MMPs/TIMPs 比例平衡失调,细胞外基质代谢紊乱,促进气道重建的发生和发展。而在这个过程中, MMP-9 和 TIMP-1 之间变化决定气道重建的具体过程。MMP-9/TIMP-1 比例可以作为一种显示哮喘气道组织破坏和修复之间平衡的标志<sup>[6]</sup>。目前的研究结合本试验的结果,都证实该联系的存在。由此可见, MMP-9 及 TIMP-1 在不同时期的过度表达以及二者表达的比例失衡,是支气管哮喘气道炎症与重构的重要机制之一。过度的 MMPs 表达与 ECM 的降解有关,而 TIMPs 的过度上调,可能导致组织的异常修复。本实验结果提示采取措施抑制 MMP-9 的过度表达,调节 MMP-9/TIMP-1 的平衡是防治哮喘气道重构的新策略。

### 【参考文献】

- [1] Corbel M, Belleguic C, Boichot E, et al. Involvement of gelatinases (MMP-2 and MMP-9) in the development of airway inflammation and pulmonary fibrosis [J]. Cell Biol Toxicol, 2002, 18(1): 51-61.
- [2] 邓立力, 邵玉霞, 杨敏. 地塞米松对哮喘大鼠气道重塑及基质

金属蛋白酶-9 表达的影响[ J ]. 哈尔滨医科大学学报, 2004, 38( 2 ) 61 - 64.

[ 3 ] Holgate ST, Peters-Golden M, Jpanettieri RA, et al. Roles of cysteinyl leukotrienes in airway inflammation, smooth muscle function, and remodeling[ J ]. J Allergy Clin Immunol, 2003, 111( 1 Suppl ): S18 - S34.

[ 4 ] Atkinson JJ, Senior RM. Matrix metalloproteinase-9 in lung remodeling[ J ]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2003, 28( 1 ) 12 - 24.

[ 5 ] Cataldo DD, Bettiol J, Noel A, et al. Matrix metalloproteinase-9, but not tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1, increase in the sputum from allergic asthmatic patients after allergen challenge[ J ]. Chest, 2002, 122( 5 ) 1553 - 1559.

[ 6 ] Tanaka H, Miyazaki N, Oashi K, et al. Sputum matrix metalloproteinase-9/Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 ratio in acute asthma[ J ]. Allergy Clin Immunol, 2000, 105( 5 ) 900 - 905.

编辑 杨湘华

· 经验交流 · 文章编号 1000-2790( 2006 )14-1262-01

### 颅内静脉窦血栓形成 17 例的诊断与治疗

周 辉<sup>1</sup>, 王树凯<sup>1</sup>, 周志刚<sup>2</sup>, 宋来君<sup>1</sup> ( 郑州大学第一附属医院: <sup>1</sup> 神经外科, <sup>2</sup> 放射科, 河南 郑州 450052 )

【关键词】 窦血栓, 颅内, 脑静脉

【中图分类号】 R743.32 【文献标识码】 B

1 临床资料 2002-06/2005-10 我科收治颅内静脉窦血栓形成(cerebral venous sinus thrombosis, CVT)患者 17( 男 7, 女 10 )例. 年龄 12 ~ 56( 平均 37.6 )岁. 病程 2 d ~ 2.5 a. 其中感染性 6 例, 头部外伤 3 例, 贫血及消耗性疾病 2 例, 服用激素等药物 1 例, 产后 1 例, 骨髓增生性疾病 1 例, 原因不明 3 例. 急性发病( < 7 d ) 6 例, 亚急性发病( 7 ~ 30 d ) 5 例, 慢性发病( > 30 d ) 6 例. 最为常见的症状为头痛, 多位于额颞部或全头部, 17 例均有. 视力下降、视物不清 10 例, 癫痫发作 4 例, 肢体无力、麻木 3 例, 意识障碍 3 例. 查体见 11 例有视乳头边界不清, 10 例视力明显下降伴眼底出血, 4 例见继发性视神经萎缩. 局灶神经系统体征 6 例, 脑膜刺激征 4 例. 全部病例行腰穿检查 1 ~ 3 次, CSF 压力增高, 初压 > 22.6 mmHg( 1 mmHg = 0.133 kPa )者 10 例, 15.0 ~ 22.6 mmHg 者 7 例, cfs 蛋白含量不同程度增高 8 例, 白细胞数多正常. CT 检查 5 例有阳性发现, 脑内有出血或梗死病灶者 3 例, 局限或弥漫性脑水肿 2 例. MRI 检查 10 例有异常存在, 除证实上述 CT 表现外, 其中 6 例显示主要静脉窦部分或全部阶段性流空消失, 代之以高信号. 17 例中 12 例磁共振脑静脉成像( MRV )检查, 11 例显示静脉窦显影缺失, 静脉窦狭窄, 管腔不规则及闭塞. 13 例作股动脉穿刺全脑血管造影( DSA ), 每例患者均见一处或多处静脉窦狭窄、充盈缺损和显影不良. 静脉期延长达 6 s 以上. 闭塞部位累及上矢状窦 11 例, 横窦 10 例, 乙状窦 4 例, 海绵窦、直窦及大脑深静脉各 1 例. 除常规治疗外, 对于急性或亚急性起病者采取早期抗凝、溶栓或介入治疗 9 例, 对于病程较长, 颅内压药物控制不理想者行分流手术 4 例, 1 例视力减退明显的行视神经鞘减压术. 14 例患者随访 1 ~ 2 a, 每半年 1

次, 并行腰穿、眼底、MRV 和( 或 ) DSA 检查. 8 例治愈, 颅内压转为正常( 不遗留神经功能障碍 ), 4 例症状有不同程度缓解或视力不再下降, 2 例无明显变化.

2 讨论 CVT 多见亚急性发病, 影像学检查在该病诊断中尤为重要, MRI 及 MRV 对颅内静脉窦闭塞可做出明确诊断<sup>[1]</sup>, MRI 可以清晰地显示脑实质内病变和受累静脉窦流空信号的消失, MRV 能够直接显示静脉窦血栓形成的范围及程度<sup>[2]</sup>. 本组中其阳性率为 92%. DSA 一直以来被看作是诊断的“金标准”, 其价值还在于检查的同时可以进行介入局部溶栓治疗. 对于该病的诊断我们认为可依据以下几个方面: ① 颅内压增高的临床征象; ② 视力障碍或其它神经系统局灶体征; ③ 腰穿 CSF 压力 > 15.0 mmHg, 检测成分正常; ④ DSA 或 MRV 发现静脉窦阻塞, 颅内无占位性病变.

CVT 是脑血液循环的流出道阻塞所导致的脑血流动力学障碍<sup>[3]</sup>. 近年来, 对于急性闭塞引起的颅高压, 多采用再通静脉窦方法. 本组对于已经确诊的急性和亚急性患者首先给予抗凝治疗, 有效者仅为 3 例, 对于抗凝治疗效果不明显的 8 例患者行血管内介入治疗, 采用经颈动脉或颈静脉接触性溶栓和机械性破栓等治疗方法. 结果 6 例患者的闭塞静脉窦获得再通, 术后积极治疗原发病和抗凝治疗 6 mo, 平均随访 12 mo, 无一例血栓再形成. 其他 2 例患者因病程相对较长, 静脉窦难以再通, 但治疗后原有症状亦得到不同程度缓解. 对于病程较长、血栓已机化的患者, 溶栓和介入治疗多不理想, 治疗的关键在于降低颅内压和保护视力. 分流术被认为是理想的治疗方法, 适当时机采取分流术不仅缓解颅压, 更防止了视力的下降. 本组 4 例行分流术治疗, 术后颅高压症状缓解明显. 1 例视力急剧下降患者采取视神经鞘开窗减压术后视力恢复达 0.5 以上. 大多数患者经手术治疗后症状有不同程度的缓解, 但是长期效果仍不肯定. 对该病的处理, 关键在于早期诊断和治疗.

#### 【参考文献】

[ 1 ] 徐 惠, 李传福, 马祥兴, 等. 颅内静脉窦闭塞的 MRI 表现[ J ]. 山东医科大学学报, 2004, 42( 3 ) 337 - 338.  
[ 2 ] Chan JW, HU W, Patry D, et al. Neuroimaging highlight: Superior sagittal sinus thrombosis[ J ]. Can J Neurol Sci, 2001, 28( 4 ): 346 - 347.  
[ 3 ] Frey JL, Muro GJ, McDougall CG, et al. Cerebral venous thrombosis: Combined intrathrombus rtPA and intravenous heparin[ J ]. Stroke, 1999, 30 #89 - 494.

编辑 袁天峰

收稿日期 2006-05-19; 接受日期 2006-06-02

作者简介: 周 辉, 硕士, 主治医师. Tel: ( 0371 ) 65090921 Email: zhouhuizhh@hotmail.com.cn