

· 论 著 ·

## 小鼠急性肺血栓栓塞模型的建立与比较\*

郑睿<sup>1#</sup>, 刘杰<sup>1</sup>, 万钧<sup>1</sup>, 姚建民<sup>2△</sup>, 徐洪涛<sup>3△</sup>

(1. 首都医科大学生理学系 100069; 2. 北京军区总医院心肺中心 100700; 3. 海军总医院心内科, 北京 100037)

**摘要:**目的 通过评估不同方法诱导的肺血栓栓塞症小鼠模型效果, 筛选建立操作简便、使用经济、成功率高的小鼠急性肺血栓栓塞症模型方法。方法 制作全血血栓及白色血栓自体栓子, 穿刺并注入小鼠右侧颈静脉, 造成急性肺血栓栓塞症模型, 分别于不同时间点检测相应生理、生化指标。结果 经 Mallory 磷钨酸苏木精及 HE 染色证明, 两种栓子制备肺血栓栓塞症模型的造模成功率为 100%, 栓子多处于肺动脉段及亚段水平, 栓塞切实可靠; 白色血栓栓塞组栓子较全血血栓组稳定性明显增高, 自溶时间明显延长。结论 白色血栓诱导的肺血栓小鼠的病理状态更加稳定, 且该急性肺血栓栓塞模型可以较好地模拟病理情况下这一疾病的病理、生理过程, 为今后进一步研究肺血栓栓塞症的病理机制与筛选药物提供了一定的实验基础。

**关键词:**肺血栓; 小鼠; 自体血栓; 白色血栓

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.05.005

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)05-0428-04

## Establishment and comparative studies of acute thromboembolic pulmonary embolism mice models\*

Zheng Rui<sup>1#</sup>, Liu Jie<sup>1</sup>, Wan Jun<sup>1</sup>, Yao Jianmin<sup>2△</sup>, Xu Hongtao<sup>3△</sup>

(1. Department of Physiology, Capital Medical University, Beijing 100069, China; 2. Department of Cardiovascular Surgery, General Hospital of Beijing Military Region, Beijing 100700, China; 3. Department of Cardiology, Navy General Hospital, Beijing 100037, China)

**Abstract: Objective** By ways of evaluating mice pulmonary embolism models induced by different methods, to screen the method to establish the acute pulmonary embolism mice models that is easy to operate and affordable with the high success rate.

**Methods** The pre-operated whole blood emboli or white emboli were separately infused into the right jugular vein to induce acute thromboembolic mice models, and then the physiological parameters were tested at different time points. **Results** The successful rate of pulmonary embolism model constructing by the two kinds of emboli was up to 100%. Most emboli laid in the level of segments or subsegments of pulmonary arteries, and most importantly, the obvious fibrinolysis of the thrombi in white-autologous thrombi pulmonary embolism models was largely improved than the whole blood group. **Conclusion** By comparing two groups of models induced by different ways, we find that the white-emboli induced acute pulmonary embolism mice maintains a much more stable pathological state, and our way to establish models of acute pulmonary thromboembolism simulates its real physiological process to a great extent. Our work has laid a solid foundation for further studies of pathogenesis of pulmonary embolism and drug screening.

**Key words:** pulmonary embolism; mice; autologous emboli; white emboli

肺血栓(pulmonary embolism, PE)是血栓性和(或)非血栓性栓子脱落堵塞肺动脉或分支引起的呼吸循环功能障碍综合征, 是一种相对常见的心血管急重症, 其因栓子堵塞肺动脉血管床而引起危及生命的右心衰竭。由于肺血栓发病急、病情重、病情多变, 病死率高达 7%~11%<sup>[1]</sup>, 深入探讨其发病机制与治疗措施具有十分重要的临床意义。建立操作简便、使用经济、成功率高的肺血栓栓塞症(PTE)动物模型是研究肺血栓栓塞症的发病机制、发展过程、疾病转归与药物疗效的重要基础。近年来, 小鼠在实验动物伦理学、经济学及基因敲除/突变技术应用等方面显示出了的巨大优势。以往有关的 PTE 动物模型多采用大型动物, 有关小鼠 PTE 动物模型建立的报道较少, 所采用栓子的制作方法不一, 栓子自溶现象等影响了模型的稳定性和可重复性。因此, 本文采用自体栓子注射的方法, 探索比较了不同的栓子制备方法对肺血栓模型稳定性的影响。本文结果将为今后进一步利用小鼠 PTE 模型研究该疾病的病理机

制提供一定的参考。

**1 材料与方法**

**1.1 实验对象** 选用 C57BL/6J 小鼠, 雄性, 8~9 周龄, 体质量 22.0~25.5 g。

**1.2 方法**

**1.2.1 实验分组** 将小鼠随机分为 PTE 组(52 只)、假手术组(12 只)、空白对照组(6 只), 其中手术组又分为全血血栓栓塞组及白色血栓栓塞组, 每组 26 只。手术组操作方式如下: 假手术组经颈静脉注入等体积生理盐水 400  $\mu$ L。各组分别于 1、6、12、24、48 h 测量相应指标, 1、12、24、48 h 留取相应标本。

**1.2.2 栓子制作**

**1.2.2.1 白色血栓** (1)取 1 mL 注射器预充 3.8%柠檬酸钠抗凝剂 40  $\mu$ L, 预注栓小鼠经腹腔注射 2%的戊巴比妥钠麻醉 50 mg/kg[Nembutal(pentobarbital sodium; Serva Feinbiochemica, Heidelberg, Germany)], 麻醉后小鼠的尾静脉取血 400  $\mu$ L

\* 基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973 计划)资助项目(2009CB522107); 国家自然科学基金资助项目(81070042); 北京市自然科学基金资助项目(7082012); 重大国际合作研究基金资助项目(30810103904)。 # 第三军医大学硕士研究生。 △ 通讯作者, E-mail: jimyao@vip.sina.com。

(注意及时混匀),将取出的血置于离心管中 550 g 离心 5 min,将上层血浆(200  $\mu$ L)取出置于另一离心管中备用,吸取血浆时尽量贴近红细胞与血浆分界面以提高血小板成分,但勿吸起红细胞成分。(2)取凝血酶 50  $\mu$ L(bovine thrombin, 10 U/mL 与 0.5 mmol/mL  $\text{CaCl}_2$  混匀)注入装有血浆的离心管中,混匀,用 1 mL 注射器迅速吸出,注入毛细玻璃管中(glass capillaries, 内径 1.05 mm, 外径 1.5 mm),室温静置 5 min,将毛细玻璃管放入 15 mL 离心管中,37.8  $^{\circ}\text{C}$  水浴 30 min。(3)将毛细玻璃管取出,对应相应小鼠编号,放入 4~8  $^{\circ}\text{C}$  冰箱备用。使用前 30 min 取出,生理盐水冲出毛细管中栓子,剪成 1 mm 长共 40 个,经 22 G 静脉输液针头伴随 0.4 mL 生理盐水吸入注射器。

**1.2.2.2 全血血栓** 参照 1.2.2.1(1)方法尾静脉取血 200  $\mu$ L 后(不预充抗凝剂),迅速注入毛细玻璃管中,室温静置 30 min 后,对应相应小鼠编号,放入 4~8  $^{\circ}\text{C}$  冰箱备用。同上述 1.2.2.1(3)法,将血栓冲出后剪成 1 mm 长共 40 个。

**1.2.3 PTE 模型制作** 小鼠于取血栓制栓 3 d 后,麻醉固定、右侧颈部剪毛、消毒后沿颈静脉走行剪开颈部皮肤(<1 cm),显微镜下分离颈静脉至远心端及远心端分支处,于远心端套线(4-0)牵拉颈静脉,静脉输液针刺入颈静脉后,缓慢注入(时间约 15 s)上述准备好的栓子,假手术组注入生理盐水 0.4 mL,去针后无菌棉球按压止血,观察无渗血后 4-0 可吸收线缝合切口。全部操作应在无菌条件下进行,力争 30 min 内完成。

**1.2.4 血压测量** 麻醉后,小鼠采用 Softron BP-98A 血压仪经小鼠尾部测量小鼠体循环压,Softron TMC-203 维持被测小鼠周围温度于 38.0  $^{\circ}\text{C}$ 。

**1.2.5 右心室压力及右心指数测量** 麻醉后,采用文献[2]所用方法,经胸壁盲穿右心室测压,于胸骨左缘四、五肋间将穿刺针紧贴胸骨向心底方向以 45 $^{\circ}$ 角斜刺进针约 0.5 cm,即可感觉到穿刺针随心跳剧烈搏动,根据压力感受器监测的压力波形确认穿刺针进入右心室后记录右心室压力,若未进入右心室,需将穿刺针退后至皮下再次进针。白色血栓栓塞组,测压后开胸取心,剪去心房组织,再沿室间隔剪开,将右心室(RV)、左心室(LV)+室间隔(S)分离,用滤纸吸干血液后分别称质量,以 RV/(LV+S)质量比作为评价右心室肥大指标(即右心指数)。

**1.2.6 病理切片染色** 达到实验所需时限后,将小鼠麻醉固定后,迅速取出肺脏、心脏等器官,灌注冲洗后中性甲醛固定,脱水,石蜡包埋,切片,HE 染色、Mallory 磷钨酸苏木精(phosphotungstic acid haematoxylin,PTAH)染色。

**1.2.7 血浆肿瘤坏死因子  $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )测量** 血浆在相应时间点采用尾静脉断尾取血方法获得,4  $^{\circ}\text{C}$  离心(1 000 g)10 min, TNF- $\alpha$  浓度测定采用 ELISA 试剂盒双抗体夹心法测定(TNF- $\alpha$  Elisa kit, Excell, China)。

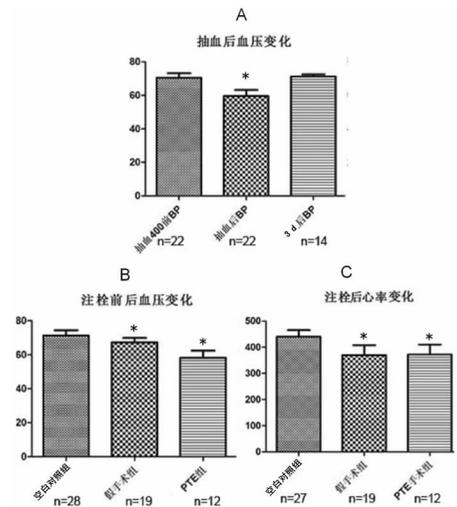
**1.2.8 统计学处理** 采用 SPSS 18.0 软件,实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间比较采用双因素方差分析,经验证方差均为齐性,组间两两比较采用 Tukey 或 Scheffe 检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结 果**

**2.1 体循环压变化**

**2.1.1 白色血栓栓塞组** 麻醉后,小鼠血压在抽血制栓前、后及注栓前如图 1A 所示,小鼠抽血制栓后血压较抽血前明显下降( $P < 0.01$ ),3 d 后血压与抽血前血压比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。小鼠血压在注栓前、后如图 1B 所示,假手术组血压较空白对照组小鼠明显下降( $P < 0.01$ ),但 PTE 组小鼠血压下降更为明显( $P < 0.01$ )。PTE 组小鼠心率与假手术组比较差异

无统计学意义( $P > 0.05$ ),但与空白对照组相比,均下降明显( $P < 0.01$ ),见图 1C。



\*:  $P < 0.01$ , 与空白对照组相比。

图 1 造模前、后血压及心率变化

**2.1.2 全血血栓栓塞组** 全血血栓栓塞组血压与白色血栓栓塞组未见明显差别( $P > 0.05$ ),较空白对照组下降明显( $P < 0.01$ )。

**2.2 HE 染色及 PTAH 染色** 小鼠肺组织切片 HE 染色于 12、24 h 时间点在白色血栓及全血血栓栓塞组均未见明显炎症细胞浸润。白色血栓栓塞组,PTAH 染色在注栓后 1 h 小鼠于肺动脉段/亚段水平可见大量栓子存在(封 2 图 2A),24 h 后 95% 小鼠仍可见急性肺栓塞改变(封 2 图 2B),48 h 后,约有 30% 小鼠肺血管中栓子大量减少(占 1/6,如封 2 图 2C)或消失(占 1/6);全血血栓栓塞组,HE 染色可见全血栓子,为粉红色均质结构,1 h 组分布及数量与对应的白色血栓栓塞组没有明显区别(封 2 图 3A),24 h 组可见栓子大量破裂溶解(占 1/6,如封 2 图 3B 箭头所示)或消失(占 5/6),48 h 组未见任何栓子存在,见封 2 图 3C。

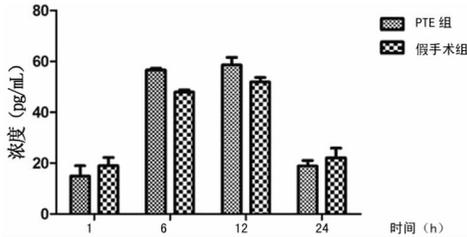
表 1 各组小鼠不同时间 RVSP 压变化(mm Hg)

组别	栓塞 12 h	栓塞 48 h
空白对照组	19.6 $\pm$ 1.6	19.6 $\pm$ 1.6
假手术组	19.3 $\pm$ 1.9	21.1 $\pm$ 1.2
PTE 组		
白色血栓栓塞组	29.6 $\pm$ 1.7	28.5 $\pm$ 3.1
全血血栓栓塞组	30.9 $\pm$ 1.9	21.0 $\pm$ 1.5

**2.3 右心室收缩压(RVSP)及右心指数** 白色血栓栓塞组中,急性 APTE 后 12 h,小鼠 RVSP 均明显升高( $P < 0.01$ ),假手术组各时间点与空白对照组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),栓塞后 48 h 小鼠可见 RVSP 均高于 22 mm Hg,但约 45% 小鼠处于 22~25 mm Hg 之间,考虑到小鼠栓子的较高自溶率,取 RVSP > 25 mm Hg 小鼠的 RVSP 参与统计,可见与栓塞后 12 h RVSP 未见明显区别( $P > 0.05$ ),见表 1。空白对照组栓塞 12 h 时 RVSP 与 48 h 时相比差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。全血血栓栓塞组中,APTE 后 12 h,小鼠 RVSP 较空白对照组均明显升高( $P < 0.01$ ),栓塞后 48 h 小鼠可见 RVSP 总体程度稍高于空白对照组,但不明显( $P > 0.05$ ),见表 1。

**2.4 术后临床表现及死亡情况** 实验中,注栓后即刻小鼠死亡 1 只(白色血栓栓塞组死亡率小于 10%)。其余小鼠注栓后即刻均可见明显呼吸急促、幅度增大表现,且术后较假手术组苏醒时间延长,活动明显减少;假手术组未见明显异常表现,全部存活,与空白对照组苏醒时间及活动无明显区别。

**2.5 血浆 TNF- $\alpha$  浓度变化** 白色血栓栓塞组中,分别于术后 1、6、12、48 h 测量血浆 TNF- $\alpha$ ,与假手术组相比未见明显区别,但手术操作本身对 TNF- $\alpha$  影响明显( $P < 0.01$ )。见图 4。



注:4 个时间点 TNF- $\alpha$  组内未见明显差异( $P > 0.05$ ),组间比较 1 h 组与 24 h 组未见明显差异( $P > 0.05$ ),6、12 h 较 1 h 组明显升高( $P < 0.01$ )。

图 4 造模后小鼠 TNF- $\alpha$  改变

### 3 讨论

PTE 主要指来自深静脉系统或右心的血栓阻塞肺动脉或其分支引起肺循环和呼吸功能障碍的临床和病理、生理综合征,其发生率随年龄增加而增加<sup>[3]</sup>。肺栓塞的临床表现轻重不一,轻者临床症状不显著,但严重者可迅速死亡,临床上取决于栓塞的范围、部位和程度,在美国是公认三大致死性心血管疾病之一。我国发生率也逐年上升,需引起高度重视。良好而稳定的动物模型是研究肺栓塞发病机制,评估药物疗效的重要手段,目前用于肺栓塞研究的动物模型主要有猪、犬等大型动物及兔、大鼠等较小型动物<sup>[4-5]</sup>,而对于基因技术应用优势明显的小鼠却少有报道,本文就针对小鼠模型的构建进行了对比研究。

目前,肺栓塞模型主要利用异物栓子注射、自体栓子注射<sup>[6]</sup>、凝血因子注射<sup>[7]</sup>及光化学反应<sup>[8]</sup>等四大主要方式进行诱导。但是,异物栓子明显不能模拟人体血栓且存在异质性;而凝血因子注射动物模型死亡率较高,且栓子大小、分布不可控;而光化学反应则是通过损伤内皮促成血栓形成,也无法恰当模拟肺栓塞形成的过程,且成本较高。而自体栓子注射则不存在上述缺点,能较好地模拟肺栓塞的形成过程且栓塞程度可控,因此也被本研究采用。

肺栓塞根据栓子类别可分为 PTE、脂肪栓塞、羊水栓塞、空气栓塞、瘤栓和感染性栓子栓塞等,其中 PTE 约占肺栓塞的 90%,采用自体血栓以模拟急性肺栓塞(APE)过程具有较强的代表性。血栓按其构成可分为白色血栓、红色血栓、混合型血栓、纤维索性血栓,白色血栓主要由聚集的血小板小梁和其间充满红细胞的纤维素网所构成,而红色血栓为纤维素网内充满血细胞发生。目前血栓的制备方法中多以全血室温静置或与凝血酶混合的方法为主,主要模拟红色血栓栓塞。但有研究表明,SD 大鼠体内其 24 h 内注射的全血血栓有着 95% 高自溶率<sup>[9]</sup>,与本次实验全血血栓栓塞组的结果较为一致。这在较大程度上降低了全血模型的可信性。据 Kirchhof 等<sup>[10]</sup>报道,白色血栓在兔栓塞模型中 14 h 后未见明显自溶,而对照的红色血栓可见高达 3/8(37.5%)的自溶。因此,本研究采用了纤维素含量相对丰富的白色血栓,同时亦参考其他学者的方法加以

改良。栓子外观直视下呈乳白色,栓塞后 24 h 组织切片未见明显栓子自溶,48 h 时自溶比例较文献<sup>[9]</sup>亦明显降低,这对于自体纤溶作用明显的小鼠肺栓塞模型的稳定是一个质的改善(封 2 图 2),其可信度大大提高。

急性 PTE 的一个关键结局就是血流动力学方面的改变<sup>[11]</sup>,因此,APTE 的血流动力学改变在病程中较为重要。本研究发现,由于白色血栓取血量较大,在制栓取血后,小鼠血压有(11±3)mm Hg 的降低(图 1A),针对这个问题,为减少取血对实验的干扰,选取了 3 d 后进行注栓,此时与取血前未见明显体循环压力改变(图 1A)。而全血血栓栓塞组小鼠取血量较少,取血后即刻测量血压未见明显降低,实验证明 3 d 后与取血前也没有明显改变。对于栓子保存,文献研究表明 24、48 h 未见明显区别<sup>[10]</sup>,因此 3 d 的保存并不会对血栓造成影响。本组实验中,小鼠死亡 1 只(白色血栓栓塞组,死亡率小于 10%),源于心搏骤停,可能与栓子堵塞主肺动脉所导致的右心室负荷过重,电机械分离有关。其余小鼠注栓后即刻均可见明显呼吸急促、幅度增大表现,测血压可见较空白对照组明显降低(图 1B),本实验亦记录了小鼠心率变化,但与假手术组比较未见明显区别,可能其变化主要与手术操作本身有关(图 1C),但也不排除肺栓塞后交感兴奋心率随有升高却被右心室负荷加重所带来的影响所抵消的可能。

实验中,肺动脉压力虽未直接测量,但以右室压力间接反映肺动脉压亦被多篇文献报道<sup>[2]</sup>。全血血栓栓塞组中,作者可以看到,于 48 h 小鼠 RVSP 力较空白对照及假手术组没有明显改变,且栓子在 24 h 时已经基本消失。因此,在 12~48 h 间栓子及肺动脉压力的改变明显,这就明显影响了此模型的稳定性,对于全血血栓构建的急性肺血栓栓塞(APTE)模型的实用性提出了质疑。白色血栓栓塞组中,12 h 时所有小鼠 RVSP 均明显升高(表 1),成功率 100%,在 48 h,虽然总体水平较空白对照组小鼠依然升高,但仅有 55% 小鼠 RVSP 与 12 h 时间点相比未见明显降低,说明此模型虽经改进,但用于慢性肺栓塞仍需改进。但可以看出,在 24 h 时组织切片中栓塞依然稳定,因此,此模型用于 APE 切实可行,稳定性优良,且较颈静脉注射胶原、凝血酶或其激活剂等方法造成的肺栓塞病死率明显降低<sup>[7,12]</sup>。另外,右心室盲穿虽有一定的偏差,但相对于右心导管具有迅速、简便、经济等不可及的优点,经过练习完全可以避免其不确定性。右心指数至 48 h 未见明显改变,指出右心并未出现肥大改变,这亦符合 APE 的病理生理情况。

炎症在静脉血栓栓塞症(venous thromboembolism, VTE)的发生过程中具有重要的作用,但是对于肺栓塞本身所引发的炎症是否存在及其机制目前文献报道仍存在争议,本实验对白色血栓栓塞组造模后 4 个时间点血浆中炎症标志物之一——TNF- $\alpha$  进行了测定。白色血栓栓塞组中,APTE 组与假手术组未见明显差异,这与一些文献报道较为一致<sup>[13-14]</sup>,仅可见手术操作本身对小鼠的炎症刺激。有研究认为肺栓塞引起的炎症反应可能与发生肺栓塞前的基础病变有关,或在动物实验中,栓子的异源性或注射的凝血酶本身等对栓子的影响,这更指出了其他肺栓塞模型制作方法的不可取性。至少,白色血栓栓塞组模型中没有存在由于栓子的制作过程所导致的异源性因素存在。

综上所述,白色血栓栓塞组中所用栓子构造的模型更符合实际情况下 APTE 的病理改变,模型切实有效,能够较好地模拟 APTE 的特点,并克服了以往模型的诸多不足。另外,由于目前仍然缺少分离富血小板血浆(platelet-rich plasma, PRP)

的统一标准,且鉴于小鼠自体血液可取量少等不足,本血栓制备过程中仅以较低转速、较短时间离心及抽取血浆时靠近分界面吸取等方法增加血浆中血小板含量,使得本法略显不足。而血小板对于栓子的抗纤溶作用依然重要<sup>[15]</sup>,因此本模型仍有提高空间,仍可通过富集血小板等方式增加栓子稳定性,从而扩展其应用范围至慢性肺栓塞的研究。

本研究探索并比较了两种不同诱导方式下小鼠肺栓塞的多种指标及稳定性问题,在国内外未见报道,且本实验室利用这一模型已经取得了切实可信的用于研究 APE 方面的初步成绩<sup>[6]</sup>。经本研究证明,全血血栓 APE 模型超过 12 h 用于研究肺栓塞是不恰当的。因此,用白色血栓建立急性血栓性肺栓塞动物模型较全血血栓有着诸多的优点,具有很高的科研价值和可行性,可作为系统研究该病的基石。

#### 参考文献:

- [1] Stein PD, Kayali F, Olson RE. Estimated case fatality rate of pulmonary embolism, 1979 to 1998[J]. *Am J Cardiol*, 2004, 93(9):1197-1199.
- [2] Khoo JP, Zhao L, Alp NJ, et al. Pivotal role for endothelial tetrahydrobiopterin in pulmonary hypertension[J]. *Circulation*, 2005, 111(16):2126-2133.
- [3] Torbicki A, Perrier A, Konstantinides S, et al. Guidelines on the diagnosis and management of acute pulmonary embolism; the Task Force for the Diagnosis and Management of Acute Pulmonary Embolism of the European Society of Cardiology (ESC)[J]. *Eur Heart J*, 2008, 29(18):2276-2315.
- [4] Bdeir K, Murciano JC, Tomaszewski J, et al. Urokinase mediates fibrinolysis in the pulmonary microvasculature [J]. *Blood*, 2000, 96(5):1820-1826.
- [5] Murciano JC, Harshaw D, Neschis DG, et al. Platelets inhibit the lysis of pulmonary microemboli[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2002, 282(3):L529-1539.
- [6] Wan J, Lu LJ, Miao R, et al. Alterations of bone marrow-derived endothelial progenitor cells following acute pulmonary embolism in mice[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*,

2010, 235(8):989-998.

- [7] Weiss EJ, Hamilton JR, Lease KE, et al. Protection against thrombosis in mice lacking PAR3[J]. *Blood*, 2002, 100(9):3240-3244.
- [8] Matsuno H, Okada K, Ueshima S, et al. Alpha2-antiplasmin plays a significant role in acute pulmonary embolism [J]. *J Thromb Haemost*, 2003, 1(8):1734-1739.
- [9] Runyon MS, Gellar MA, Sanapareddy N, et al. Development and comparison of a minimally-invasive model of autologous clot pulmonary embolism in Sprague-Dawley and Copenhagen rats[J]. *Thromb J*, 2010, 8:3.
- [10] Kirchhof K, Welzel T, Zoubaa S, et al. New method of embolus preparation for standardized embolic stroke in rabbits[J]. *Stroke*, 2002, 33(9):2329-2333.
- [11] Wood KE. Major pulmonary embolism: review of a pathophysiological approach to the golden hour of hemodynamically significant pulmonary embolism[J]. *Chest*, 2002, 121(3):877-905.
- [12] Konstantinides S, Schafer K, Neels JG, et al. Inhibition of endogenous leptin protects mice from arterial and venous thrombosis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, 24(11):2196-2201.
- [13] Tsang J, Simon M, Stewart K, et al. Proinflammatory cytokines are not released in the circulation following acute pulmonary thromboembolism in pigs[J]. *J Invest Surg*, 2002, 15(1):29-35.
- [14] Dolci DT, Fuentes CB, Rolim D, et al. Time course of haemodynamic, respiratory and inflammatory disturbances induced by experimental acute pulmonary polystyrene microembolism[J]. *Eur J Anaesthesiol*, 2010, 27(1):67-76.
- [15] Angelillo-Scherrer A, de Frutos P, Aparicio C, et al. Deficiency or inhibition of Gas6 causes platelet dysfunction and protects mice against thrombosis[J]. *Nat Med*, 2001, 7(2):215-221.

(收稿日期:2011-10-14 修回日期:2011-11-22)

(上接第 427 页)

- Rheumatology, 2001, 40(3):324-328.
- [6] Leung YY, Lo KM, Tam LS, et al. Estimation of glomerular filtration rate in patients with systemic lupus erythematosus[J]. *Lupus*, 2006, 15(5):276-281.
- [7] Gates GF. Filtration fraction and its implications for redionuclide renography using diethylenetriaminepentaacetic acid and mercaptoacetyl triglycine [J]. *Clin Nucl Med*, 2004, 29(4):231-234.
- [8] Petersen LJ, Petersen JR, Tøllner U, et al. Glomerular filtration rate estimated from the uptake phase of <sup>99m</sup>Tc-DTPA renography in chronic renal failure [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 1999, 14(7):1673-1675.
- [9] 李现军 孙建梅 李广宙, 等. <sup>99m</sup>Tc-DTPA 肾动态显像对早期慢性肾功能衰竭的诊断价值[J] *中华核医学杂志*, 2005, 25(01):32-34.

- [10] Hermida J, Romero R, Tutor J C. Relationship between serum cystatin C and creatinine in kidney and liver transplant patients[J]. *Clin Chim Acta*, 2002, 316(1/2):165-170.
- [11] Shlipak MG, Praga M, Sarn MJ. Update on cystatin C: new insights into the importance of mild kidney dysfunction[J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2006, 15(3):270-275.
- [12] Perkins BA, Nelson RG, Ostrander BE, et al. Detection of renal function decline in patients with diabetes and normal or elevated GFR by serial measurements of serum cystatin C concentrations: results of 4-year follow-up study[J]. *Am Soc Nephrol*, 2005, 16(5):1404-1412.

(收稿日期:2011-01-09 修回日期:2011-05-22)