



提高犬交感神经相关房颤模型建模成功率的新方法

黄梦颖, 范新荣, 李妙玲, 马开龙, 陈琳琳, 曾晓荣

(西南医科大学心血管医学研究所, 四川 泸州 646000)

【摘要】 目的 对传统实验过程中犬的星状神经节暴露的方法进行改良, 建立一种新的暴露犬星状神经节方法, 提高交感神经相关房颤模型建模的成功率。方法 成年犬 28 只, 随机分为传统组和改良组, 每组 14 只, 分别使用传统和改良后的方法分离暴露星状神经节。28 只犬均建立交感神经相关房颤模型。术中记录犬生命体征变化和术中生存率, 记录刺激星状神经节所需电压, 记录刺激前、后心脏电生理的变化。免疫组化检测神经递质释放情况。结果 改良组术中存活率较传统组术中存活率显著升高, $P < 0.05$ 。改良组手术时间较传统组明显缩短, $P < 0.05$ 。刺激改良组神经达到阈值所需电压较传统组更小, $P < 0.05$ 。结论 改良后的手术方法能够有效的降低犬在手术过程中的死亡率, 明显缩短手术时间, 减少术中出血量, 星状神经节结构更完整, 持续刺激过程中所需电压更稳定, 更适合用于建立交感神经相关房颤模型。

【关键词】 犬; 交感神经; 房颤模型; 星状神经节; 刺激方法

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2016) 12-0059-07

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2016.12.012

A new method to improve the success rate of establishing a canine model of atrial fibrillation induced by sympathetic stimulation

HUANG Meng-ying, FAN Xin-rong, LI Miao-lin, MA Kai-long, Chen Lin-lin, Zeng Xiao-rong

(Institute of Cardiovascular Medicine, Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China)

【Abstract】 Objective To develop a new method to expose the stellate ganglion to increase the success rate of establishing a dog model of atrial fibrillation induced by sympathetic stimulation. **Methods** A total of 28 adult dogs were randomly divided into traditional group and improvement group, 14 dogs in each group. The stellate ganglions were separated by the two different methods, respectively, to establish a sympathetic stimulation induced atrial fibrillation model in all the dogs. Changes of vital signs, survival rate of the dogs and the voltage required to stimulate the stellate ganglion were recorded intraoperatively. Changes of cardiac electrophysiology were recorded before and after electric stimulation. The levels of released neurotransmitters were detected by immunohistochemistry. **Results** The survival rate of the improvement group was 100% (14/14), significantly higher than the 64.3% (9/14) of the traditional group ($P < 0.05$). The operation time of the improvement group was 122.71 ± 3.62 min, significantly shorter than the 269.44 ± 8.79 min of the traditional group ($P < 0.05$). The threshold voltage of the improvement group was significantly lower than that of the traditional group ($P < 0.05$). **Conclusions** Our modified surgical procedure can effectively reduce the mortality of dogs, significantly shorten the operation time, and reduce the intraoperative blood loss, keeping a more intact stellate ganglion, and maintains a more stable voltage of electric stimulation. Therefore, it is a new method more suitable for establishment of

[基金项目] 国家自然科学基金(81500259)。

[作者简介] 黄梦颖(1989-), 女, 硕士研究生, 内科学, E-mail: 493087012@qq.com。

[通讯作者] 曾晓荣(1955-), 男, 研究员, 硕士生导师。E-mail: Zengxiaorong8818@163.com。

a sympathetic stimulation induced atrial fibrillation model in dogs.

【Key words】 Dog; Sympathetic nerve; Atrial fibrillation model; Stellate ganglion; Electric stimulation; Surgical procedure

心房颤动是临床最常见的心律失常之一,在发达国家的一般人群中,房颤的发病率达到了 2%,老年人心律失常的发生更为常见,其发病机制复杂,有多种因素参与了它的发病机制^[1]。近年研究表明交感神经兴奋放电对房颤的发生和影响有直接关系^[2],但交感神经对房颤的诱发机制和治疗仍有许多需要证实的方面^[3]。星状神经节由第六七颈部神经节构成的颈节部和第一胸神经节构成的,在功能上属于交感神经。目前在动物的房颤模型中,最常见的房颤模型的建立方法之一是直接快速心房刺激+星状神经节刺激^[4]。因此,如何建立良好的犬交感神经相关房颤模型至关重要,从而需要研究一种安全且简便的星状神经节刺激法用于模拟交感神经相关房颤。既往常见的暴露星状神经节方法为经犬锁骨上窝行横切口或旁正中切口暴露星状神经节并进行电刺激,但此种方法术中渗血过多,且容易损伤大血管,星状神经节暴露不够充分。本文通过研究探讨星状神经节的解剖位置,建立一种更简单有效安全的新型星状神经节暴露法,该方法对比传统分离暴露法,手术过程相对简单,手术对实验动物的损伤明显降低,手术中动物的死亡率也降低,为临床研究房颤的诱发因素和治疗建立一种更为安全有效的交感神经房颤模型。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物:健康家犬 28 只,雌雄不限,体质量 10~15 kg,来源于西南医科大学实验动物中心【SCXK(川)2013-17】,手术操作在西南医科大学心血管研究所【SYXK(川)2013-181】中进行实验操作。常规饮食,光照保持昼夜节奏各 12 h,温度控制在 24~26℃,相对湿度控制在 50%~70%,并按照实验动物的 3R 原则给予人道关怀。

1.1.2 主要仪器及试剂:动物手术台;KL01L 型单孔冷光手术灯(上海科凌医疗器械有限公司);HX-300S 动物呼吸机(泰盟);动物用心电监护仪(成都炜焱进出口贸易有限公司);科德士宠物用电推剪;手术器械:手术刀、止血钳、神经拉钩等;LEAD-7000 多道电生理仪(四川锦江电子科技有限公司);JGD-300A 高频电刀(张家港市航天医疗电器有限公司);

YC-2 型程控刺激器(成都仪器厂制造);XH-2 铂金保护电极、刺激电极(北京新航兴业科贸有限公司);戊巴比妥钠;生理盐水;动静脉鞘管 6F。

1.2 实验方法

1.2.1 术前准备:禁食 12 h,禁饮 3 h,术前称重,3%戊巴比妥钠 30 mg/kg 腹腔麻醉,术中以 3%戊巴比妥钠 2 mL/h 维持麻醉。待动物无意识后固定于动物手术台,气管插管,接动物呼吸机辅助呼吸,双侧颈部、前胸部及右侧腹股沟做手术备皮准备,常规消毒,铺巾,连接心电监护仪及心电图机,以体表 II、aVF、aVR、V1 导联检测心电图。右侧股静脉给与 0.9%氯化钠溶液维持补液,右侧股动脉插管持续监测血压。

1.2.2 实验动物分组及模型设计:将 28 只家犬随机分为改良和传统两组,传统组进行传统的暴露星状神经节方法^[1],改良组进行改良后的暴露星状神经节方法。每组 14 只,刺激左右侧星状神经节各 7 只。具体分组方法为:传统组 14 只随机分为 L 和 R 组,每组 7 只,L 组进行左侧星状神经节+快速左心房刺激,R 组进行右侧星状神经节+快速右心房刺激。改良组 14 只随机分为 L 和 R 组,每组 7 只,L 组进行左侧星状神经节+快速左心房刺激,R 组进行右侧星状神经节+快速右心房刺激。

1.2.3 暴露星状神经节手术方法:传统组参照传统分离暴露星状神经节方法^[4]:在犬锁骨上窝行横切口或旁正中切口,探寻颈动脉及颈动脉鞘。分离可见颈动脉的分支锁骨下动脉,沿锁骨下动脉内侧向脊柱侧分离肌肉和脂肪组织,在锁骨下动脉与颈动脉、椎动脉后方,第 7 颈椎前方脂肪组织内可见呈星形分叉的星状神经节,用玻璃分针仔细分离星状神经节周围的脂肪组织,并向下分离其分支,暴露臂丛及心交感神经。

改良组进行改良后的暴露星状神经节方法,将犬使用戊巴比妥钠麻醉后,仰卧位固定于手术台,颈部及前胸部备皮,于犬前胸部触摸到突起的胸骨柄,沿胸骨柄向下,确定第 1 肋骨及第 2 肋骨的体表位置。分离双侧星状神经节时,沿胸骨柄向左右侧第一肋间上缘做一横切口,长 10 cm,切开皮肤。见锁骨头肌,止血钳沿锁骨头肌肌肉方向钝性分离皮下组织和肌肉,用组织拉钩拉开肌肉,暴露颈总动

脉和颈外静脉,用玻璃分针钝性分离伴行颈总动脉的迷走神经,用丝线标记迷走神经,用拉钩分别向两边分开颈总动脉和颈外静脉,向深处分离,可见锁骨下动脉,沿锁骨下动脉内侧向脊柱侧分离肌肉和脂肪组织,在锁骨下动脉与椎动脉后方,第一肋间背端的内侧,颈长肌的外侧,第 7 颈椎前方脂肪组织内可见一不规则的膨大处,呈星形分叉,即为星状神经节。以止血钳插入组织间钝性分离组织和神经,以这种方式分离组织会拉断结缔组织的筋膜,但神经有弹性,不易被拉断,再以玻璃分针分离神经节周围脂肪组织,彻底暴露星状神经节,用温液体石蜡滴注在神经上,保护暴露的神经。如图 1。

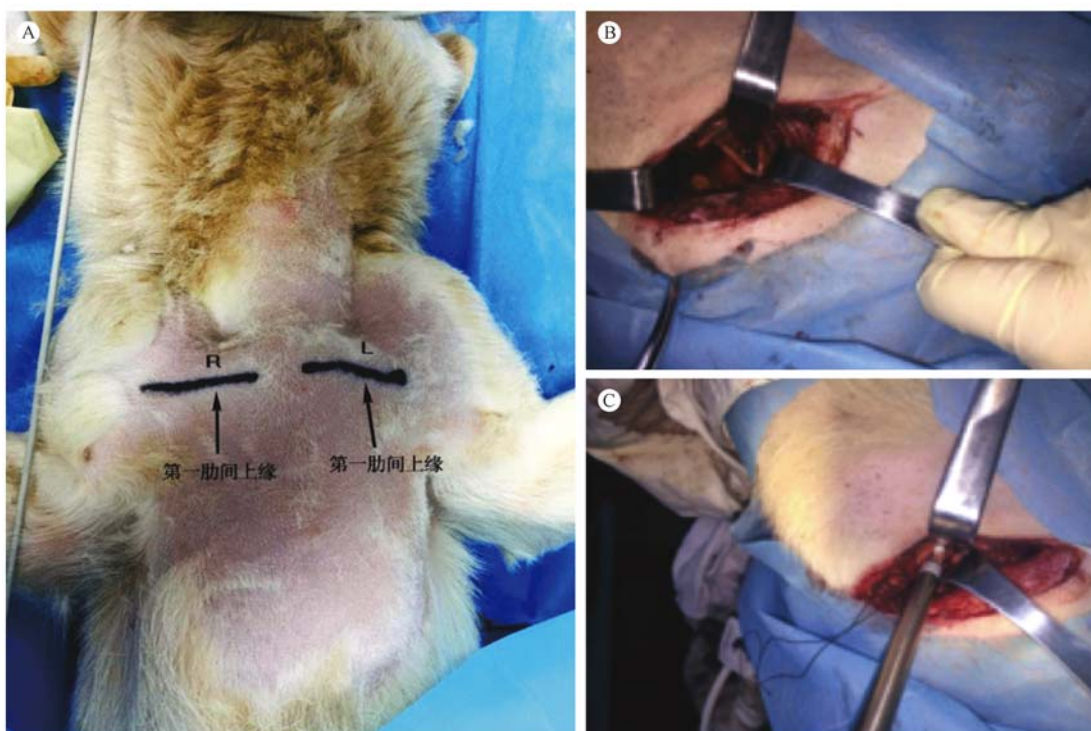
1.2.4 房颤模型建立:两组犬均进行快速心房起搏+星状神经节刺激。两组犬星状神经节暴露后,待犬生命体征平稳,分别暴露右股动静脉,右侧动脉接血压换能器监测血压,体表心电图监测心率,麻醉呼吸机监测血氧饱和度。右股静脉插入一根 10 级电极导管置于右心房,电极尾端连接电生理仪,于左侧第二肋间开胸,切开心包暴露左心房,左心耳,将 4 级电极导管放入左心房位置,并固定心外膜处,电极尾端连接电生理仪,电图显示大 A 波而无 V

波时,提示置管成功。研究将 SG 刺激阈值定义为收缩压或心率较基础值增加 20% 的电压水平。先记录刺激前心率及血压。由 1V 开始逐渐增加神经刺激电压,最高为 20 V,记录心率及血压变化,测定刺激阈值。以阈值刺激星状神经节 6 h,每一个小时重新测量阈值,如有改变,则以新的阈值进行刺激。刺激星状神经节同时给予心房快速刺激:脉宽 0.5 ms,测定起搏阈值,S1S1 周长 100 ms,2 倍阈值的刺激电压刺激心房建立房颤模型。

1.3 数据收集

1.3.1 术前记录两组实验犬体重,心率、收缩压(SBP)、舒张压(DBP)、血氧饱和度,术中记录手术时间,观察心率、血压、血氧饱和度变化,测量刺激前、刺激后 1 h、2 h、4 h、6 h 达到神经刺激阈值所需电压。实验完成后计算犬术中存活率,存活率 = 每组存活的犬数/每组犬的总数量 × 100%。

1.3.2 心脏电生理监测:(1)有效不应期(ERP):使用心脏电生理刺激仪进行 S1S2 程序刺激,S1S1 为 300 ms,S1S2 程序刺激比例 8:1,以 5 ms 为步长,刺激延迟 5 s,刺激脉宽为 0.5 ms,电压为 2 倍的舒张期阈值,直到不能夺获心房的 longest S1S2 间期为



注:A:星状神经节暴露位置;B:分离左侧星状神经节;C:右侧星状神经节

图 1 新方法分离星状神经节。

Note. A: The location of Stellate ganglion exposwre;B:Separating the left stellate ganglion;C: Separating the right stellate ganglion.

Fig.1 Separation of the stellate ganglion

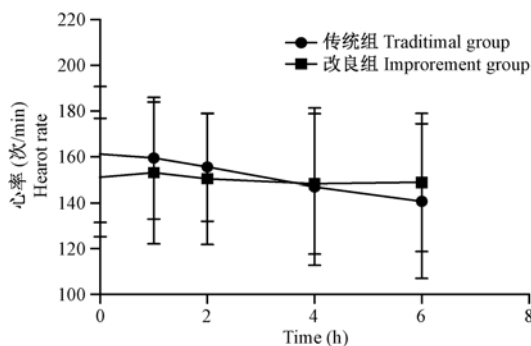
ERP, 测量 5 次取平均值, 分别于基础状态下, 刺激后 1 h、2 h、4 h、6 h 测定左心房、右心房的 ERP。(2) 房颤诱发率和房颤持续时间测定: 分别于刺激前、刺激后 1 h、2 h、4 h、6 h 测定右心房、左心房的房颤诱发率和房颤刺激时间。房颤定义为心律不整齐, P 波消失, 出现大小不一、间隔不均的 f 波, 频率 450~600 次/min, RR 间期不等, 持续 10 s 以上。刺激后 1 h、2 h、4 h、6 h 在左心房、右心房部位进行 Burst 刺激, 刺激周长 S1S1 为 100 ms, 电压为两倍的舒张期阈值, 脉宽 0.5 ms, 每个部位重复 5 次, 每次持续 30 s, 停止刺激后出现房颤且持续时间超过 10s 为诱发成功, 记录房颤诱发的情况。

1.3.3 神经结构观察: 术后处死所有存活实验犬, 取出双侧交感及迷走神经, 用生理盐水清洗, 观察犬星状神经节形态学变化。

1.3.4 免疫组化法观察生长相关蛋白(GAP-43)、胆碱乙酸转移酶(ChAT)、酪氨酸羟化酶(TH)表达情况: 石蜡切片脱蜡至水, 高温蒸汽抗原修复后滴加 5% BSA 封闭液, 弃去封闭液后, 滴加兔抗生长相关蛋白(GAP-43)、胆碱乙酸转移酶(ChAT)、酪氨酸羟化酶(TH)抗体各 50 μ L, 充分覆盖切片, 4 $^{\circ}$ 冰箱孵育过夜, 次日 PBS 漂洗后, 加抗兔抗体 50 μ L。37 $^{\circ}$ 湿盒孵育 1 h, DAB 染色, 苏木素复染、脱水透明封片, 于光学显微镜($\times 400$)下观察, GAP-43、ChAT、TH 阳性表达呈棕黄色。

1.4 统计学方法

所有统计学数据均采用 SPSS 23.0 统计软件分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 计数资料以例(%)表示, 2 组间比较采用重复测量方差分析, \bar{x} 检验和随机独立样本 *t* 检验。生存率比较使用 Fisher 法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。



注: 传统与改良组相比, $p < 0.05$ 。

图 2 心率随时间变化曲线

Note. Compared with the tradition group, $P < 0.05$.

Fig. 2 The curves of variation of heart rate with time

2 实验结果

2.1 两组犬术中相关指标比较

2 组犬心率均随手术时间推移而下降, 但传统组心率下降更明显, 两组差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 图 2。传统组体质量 (12.07 ± 1.77) kg, 改良组体质量 (12.21 ± 1.71) kg, 传统组氧饱和度 $97.71 \pm 0.19\%$, 改良组氧饱和度 $97.50 \pm 0.23\%$, 比较差异均无统计学意义。

2.2 两组犬手术时间

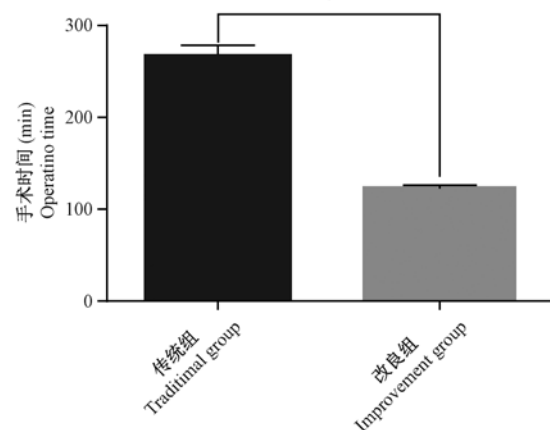
传统组手术时间 (269.44 ± 8.79) min, 改良组手术时间 (122.71 ± 3.62) min。改良组犬的手术所需时间较传统组明显缩短, 差异有统计学意义, 两组犬手术时间如图 3。

2.3 2 组犬所需电压

两组犬刺激神经达到阈值所需的电压随时间推移均逐渐升高, 但传统组所需阈值电压比改良组更大, 改良组所需电压值增长较平稳。两组电压比较差异有统计学意义 (图 4)。

2.4 两组心脏电生理指标情况

两组犬 6 h 房颤诱发率分别为 20% 和 26%, 房颤持续时间分别为 (225 ± 116.2) s 和 (190 ± 129.9) s, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。两组犬的基础有效不应期 (ERP) 差异无统计学意义, 两组犬给予刺激 1、2、4、6 h 后, 心房有效不应期 (ERP) 均较基础值显著缩短 ($P < 0.05$), 图 5。但两组间 ERP 差异无统计学意义 ($F = 3.39, P > 0.05$)。

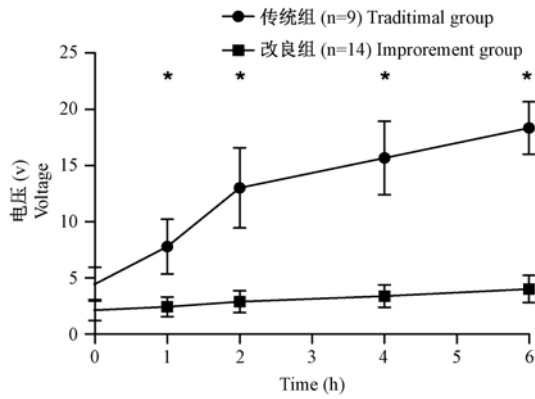


注: 传统与改良组相比, $* P < 0.05$ 。

图 3 两组犬手术时间对比

Note. Compared with the traditional group, $* P < 0.05$.

Fig. 3 Comparison of operation time between the two groups of dogs



注:传统与改良相比, * $P < 0.05$ 。

图 4 两组犬所需电压对比

Note. Compared with the traditional group, * $P < 0.05$.

Fig. 4 Comparison of the electric voltage used in the two groups of dogs

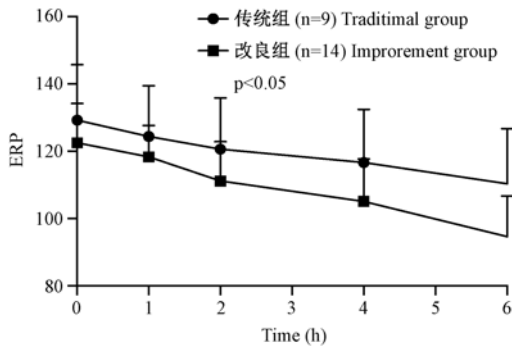


图 5 两组犬心脏电生理指标

Fig. 5 The cardiac electrophysiological indexes in the two groups of dogs

2.5 双侧星状神经节刺激对心率及血压的不同影响

以阈值刺激右侧星状神经节, 心率及动脉血压均较基础值显著升高。以阈值刺激左侧星状神经节, 心率较基础值稍升高, 但上升无右侧明显, 动脉压较基础值显著升高, 双侧刺激前后差异有统计学意义 ($P < 0.05$) (图 6、7)。

2.6 术中存活率

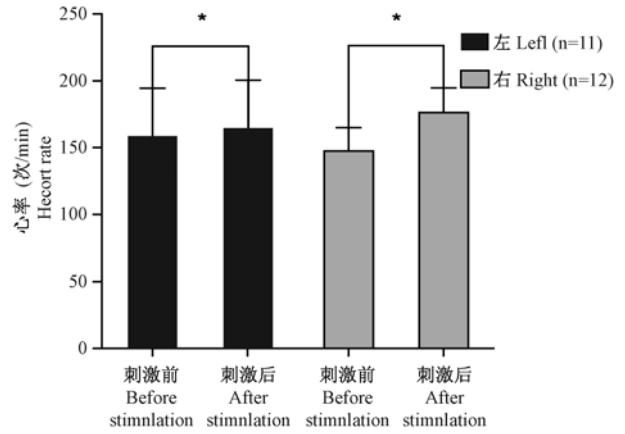
传统组存活率为 64.3% (9/14), 改良组存活率为 100% (14/14), 改良组存活率明显高于传统组, 两者存活率差异有统计学意义 ($p < 0.05$)。

2.7 神经结构完整性

术后取出神经干, 可见新方法暴露的星状神经节结构完整, 如图 8。

2.8 神经组织学观察

生长相关蛋白 (GAP43)、胆碱乙酸转移酶 (ChAT)、酪氨酸羟化酶 (TH) 均在星状神经节上有

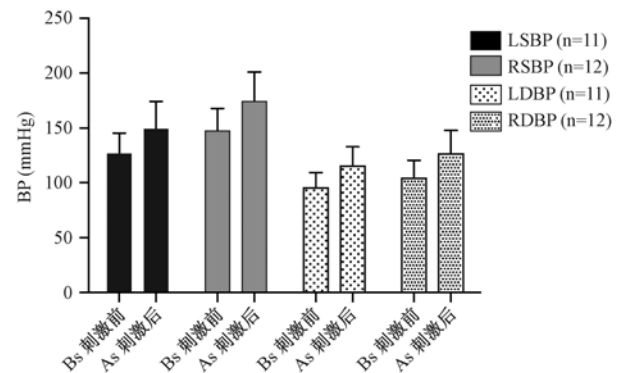


左: 左侧星状神经节; 右: 右侧星状神经节

图 6 双侧星状神经节刺激对心率及血压的不同影响

Left: The left stellate ganglion; Right: The right stellate ganglion

Fig. 6 Effects of different bilateral stellate ganglion stimulation on the heart rate and blood pressure



LSBP: 刺激左侧星状神经节后收缩压; RSBP: 刺激右侧星状神经节后收缩压; LDBP: 刺激左侧星状神经节后舒张压; RDBP: 刺激右侧星状神经节后舒张压, * $P < 0.05$ 。

图 7 双侧星状神经节刺激对心率及血压的不同影响

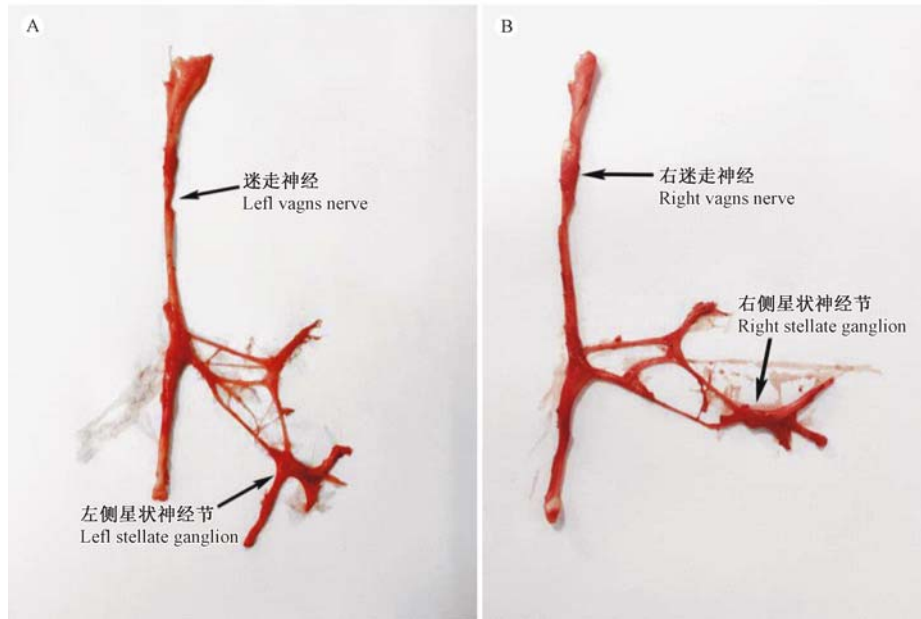
LSBP: The systolic blood pressure after stimulating the left stellate ganglion; RSBP: The systolic blood pressure after stimulating the right stellate ganglion; LDBP: The diastolic blood pressure after stimulating the right stellate ganglion; RDBP: The diastolic blood pressure after stimulating the right stellate ganglion. * $P < 0.05$. BS: Before stimulation. AS: After stimulation.

Fig. 7 Effects of different bilateral stellate ganglion stimulation on the heart rate and blood pressure

表达, 呈棕黄色, 如图 9。

3 讨论

房颤是目前临床上最常见的心律失常之一, 其发病机制复杂, 目前越来越多临床报道提示心脏自主神经在介导房颤中起着重要作用^[5]。20 世纪 60 年代, Yanowitz^[6] 在犬体内研究了对交感神经进行

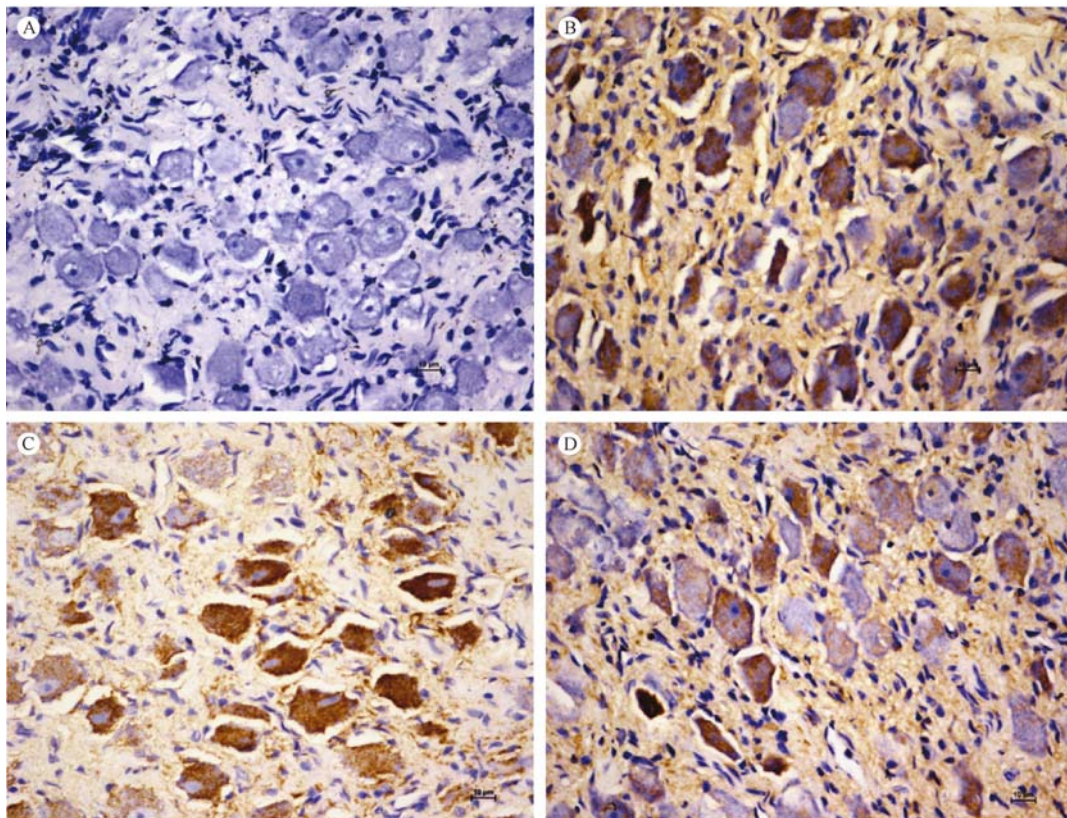


注:A:左侧星状神经节和迷走神经;B:右侧星状神经节和迷走神经。

图8 改良法分离后的星状神经节

Note. A: Left stellate ganglion and left vagus nerve; B: Right stellate ganglion and right vagus nerve.

Fig. 8 The bilateral stellate ganglions separated by the optimized method



注:A:空白组;B:生长相关蛋白;C:胆碱乙酸转移酶;D:酪氨酸羟化酶(标尺 = 10 μm)。

图9 生长相关蛋白、胆碱乙酸转移酶、酪氨酸羟化酶表达情况

T Note. A: Blank group; B: Growth-associated protein-43; C: Choline acetate transferase; D: Tyrosine hydroxylase (Bar = 10 μm.)

Fig. 9 Expression of GAP-43, ChAT, and TH proteins in the stellate ganglions

干预后对心脏不应期和心电图的影响。随后, Priori^[7]发现交感神经刺激后与心律失常有密切关系。最近有研究发现刺激交感神经可缩短心房有效不应期(AERP),与房颤的发生和维持有明确的相关性^[8]。Zipes^[9]利用相同的犬模型,发现左右侧星状神经节对心脏早后除极有不同的效应,说明左右交感神经对心脏的影响存在不对称性。这些研究结果表明,交感神经激动可以触发心电活动,并和心律失常的发生有重要关系,探索交感神经对房颤的影响机制成了一个新的研究热点。

在相关研究中,构建交感神经相关房颤模型是科学有效地进行机制研究的重要环节。星状神经节属于交感神经分支,目前使用最多的动物交感神经激活房颤模型,都以刺激星状神经节为主。良好的神经刺激房颤模型要求研究人员对双侧星状神经节的位置有准确的认识,良好的动物模型的建立要求简单有效,创伤小,成功率及动物存活率高^[10]。

既往的手术方式在锁骨上窝横向切口易损伤锁骨头肌、胸骨头肌,且损伤小血管较多,即使钝性分离肌肉依然存在出血增加,操作复杂,创伤比较大,刺激达到阈值所需电压也更大,长时间刺激对神经的影响也更大,且操作时容易损伤神经节附近的大血管造成动物失血甚至死亡,因此本实验在既往模型的基础上对手术过程给予一定的改进,观察了星状神经节的解剖位置,在胸骨柄处沿肌肉方向向深处分离,颈总动脉和颈静脉的暴露更加充分,而上述血管是定位星状神经节的重要标志。沿着肌肉方向分离肌肉,而不是横向离断肌肉,能够减少因离断肌肉而导致的渗血,能减少对刺激星状神经节以及记录神经放电活动的不良影响,尽量不损伤血管及神经的情况下,顺利暴露星状神经节并进行电刺激,不仅适合研究单侧交感神经对心律失常

的影响,更适合同时对双侧交感神经进行研究。

参考文献:

- [1] Camm AJ, Savelieva L, Potpara T, et al. The changing circumstance of atrial fibrillation — progress towards precision medicine [J]. *J Intern Med*, 2016, 279(5): 412–427.
- [2] Zhao Q, Deng H, Jiang X, et al. Effects of intrinsic and extrinsic cardiac nerves on atrial arrhythmia in experimental pulmonary artery hypertension [J]. *Hypertension*, 2015, 66(5): 1042–1049.
- [3] Chinda K, Tsai WC, Chan YH, et al. Intermittent left cervical vagal nerve stimulation damages the stellate ganglia and reduces the ventricular rate during sustained atrial fibrillation in ambulatory dogs [J]. *Heart Rhythm*, 2016, 13(3): 771–780.
- [4] 周祁娜. 交感神经介导的急性心房颤动的机制研究 [D]. 新疆:新疆医科大学,2012.
- [5] 李睿. 心房神经节激活与心房颤动易感性之间的关系:神经活性记录直接证据 [D]. 武汉:武汉大学,2014.
- [6] Yanowitz F, Preston JB, Abildskov JA. Functional distribution of right and left stellate innervation to the ventricles. Production of neurogenic electrocardiographic changes by unilateral alteration of sympathetic tone [J]. *Circ Res*, 1966, 18(4): 416–428.
- [7] Priori SG, Mantica M, Schwartz PJ. Delayed afterdepolarizations elicited in vivo by left stellate ganglion stimulation [J]. *Circulation*, 1988, 78(1): 178–185.
- [8] 周祁娜,侯月梅. 交感神经活动与心房颤动相关性研究进展 [J]. *中国心脏起搏与心电生理杂志*, 2011, 25(3): 194–196.
- [9] Ben-David J, Zipes DP. Differential response to right and left ansae subclaviae stimulation of early afterdepolarizations and ventricular tachycardia induced by cesium in dogs [J]. *Circulation*, 1988, 78(5 Pt 1): 1241–1250.
- [10] 董林林. 大鼠星状神经节位置解剖与新型阻滞途径 [J]. *新乡医学院学报*, 2015, 32(12): 1078–1080.

[修回日期]2016-06-13

(上接第 26 页)

- [5] 张嘉宁,顾为望,吴清洪,等. SPF 新西兰兔心电图测定 [J]. *动物医学进展*, 2005, 26(9): 116–117.
- [6] 陈亮,潘永明,陈民利,等. 麻醉状态下 WHBE 兔的心电图观测 [J]. *实验动物与比较医学*, 2009, 29(6): 419–423.
- [7] 谭莹,苏敏,廖伟,等. 四个不同种属动物肢体 II 导联心电图比较 [J]. *中国实验动物学报*, 2015, 23(2): 194–198.
- [8] 游九芬,李怀庆. 日本大耳白兔正常心电图的分析 [J]. *中国兽医杂志*, 1986, 12(3): 47–51.

- [9] Lord B, Boswood A, Petrie A. Electrocardiography of the normal domestic pet rabbit [J]. *Vet Rec*, 2010, 167(25): 961–965.
- [10] 张世静,王惠璋,黄道生. 正常家兔心电图分析 [J]. *福建师范大学学报(自然科学版)*, 1988, 4(3): 68–74.
- [11] 张嘉宁,顾为望,吴清洪,等. SPF 新西兰兔心电图测定 [J]. *动物医学进展*, 2005, 26(9): 116–117.

[修回日期]2016-05-09