

# 外周血单核细胞 COX-2 表达与 MPA 形成和冠心病的关系研究

黄青华 沃铭毅 陈敏强 袁武锋 赵嫣 费鲜明

**【摘要】** 目的 观察冠心病患者外周血单核细胞环氧合酶-2(COX-2)表达和单核细胞-血小板聚集物(MPA)水平,探讨 COX-2 与 MPA 形成和冠心病的关系。方法 测定 66 例冠心病患者和 30 例健康体检者外周全血细胞计数、超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)、血清单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)和 MPA 形成水平,采用密度梯度离心法分离外周血单核细胞,Western blot 法检测细胞 COX-2 表达水平,分析 COX-2 表达与 MPA 的相关性,并采用 logistic 回归分析 COX-2 与冠心病风险关系。结果 冠心病组 hs-CRP、MCP-1、WBC 和中性粒细胞-淋巴细胞比值(NLR)水平均高于对照组(均  $P < 0.01$ );不稳定型心绞痛组 hs-CRP、MCP-1、WBC 和 NLR 水平以及 MPA 和 COX-2 表达均高于稳定型心绞痛组(均  $P < 0.01$ )。COX-2 表达水平与 MPA、MCP-1、NLR 和 hs-CRP 均呈正相关( $r=0.703, 0.631, 0.603, 0.532$ , 均  $P < 0.01$ )。COX-2 水平升高的冠心病患者 MPA 高于 COX-2 水平正常者,MPA 水平升高者 COX-2 表达水平高于 MPA 水平正常患者( $P < 0.01$ )。多因素回归分析显示,COX-2 和 MPA 均为冠心病的独立危险因素( $OR=6.322, 5.877, 95\%CI: 4.544\sim 8.978, 4.122\sim 7.991$ , 均  $P < 0.01$ )。结论 冠心病患者外周血单核细胞 COX-2 水平增高与 MPA 形成有关,COX-2 可作为冠心病的风险指标。

**【关键词】** 冠心病 单核细胞 环氧合酶-2 单核细胞-血小板聚集物 风险

Association of monocytes COX-2 expression with monocyte-platelet aggregates formation and coronary heart disease HUANG Qinghua, WO Mingyi, CHEN Minqiang, et al. Department of Endocrinology, Zhejiang Provincial People's Hospital and People's Hospital of Hangzhou Medical College, Hangzhou 310014, China

**【Abstract】** **Objective** To investigate the association of COX-2 expression in monocytes with monocyte-platelet aggregates (MPA) and coronary heart disease (CHD). **Methods** The whole blood cell count (WBC), neutrophil-lymphocyte ratio (NLR), high-sensitive C reactive protein (hs-CRP), serum monocyte chemoattractant protein (MCP-1) and MPA levels were measured in 66 patients with coronary heart disease (CHD) and 30 healthy controls. The expression of COX-2 in peripheral blood monocytes was detected by Western blot, and the correlation between COX-2 expression and MPA was analyzed. The relationship between COX-2 and coronary heart disease risk was analyzed by logistic regression analysis. **Results** hs-CRP, MCP-1, WBC and NLR levels in CHD group were higher than those in control group ( $P < 0.01$ ); and hs-CRP, MCP-1, WBC and NLR, MPA and COX-2 expression levels in unstable angina (UA) patients were higher than that in stable angina (SA) patients ( $P < 0.001$ ). The expression of COX-2 was positively correlated with the formation rate of MPA, MCP-1, NLR and hs-CRP ( $r=0.703, 0.631, 0.603$  and  $0.532$ , respectively, all  $P < 0.01$ ). The MPA formation in CHD patients with elevated COX-2 expression was higher than that in patients with normal COX-2 expression, and the expression of COX-2 in patients with elevated MPA was higher than that in patients with normal MPA ( $P < 0.01$ ). Multivariate regression analysis showed that both COX-2 and MPA were independent risk factors for CHD ( $OR=6.322, 95\%CI: 4.544\sim 8.978; OR=5.87, 95\%CI: 4.122\sim 7.99, P < 0.01$ ). **Conclusion** The increased expression of monocytes COX-2 is associated with the formation of MPA in patients with CHD, indicating that COX-2 may be used as a predicting factor for CHD risk.

DOI: 10.12056/j.issn.1006-2785.2019.41.1.2018-1006

基金项目:浙江省自然科学基金资助项目(LY17H080007)

作者单位:310014 杭州,浙江省人民医院,杭州医学院附属人民医院内分泌科(黄青华),检验中心(沃铭毅、陈敏强、袁武锋、费鲜明),心内科(赵嫣)

通信作者:费鲜明, E-mail: feixianming@hmc.edu.cn

【Key words】 Coronary heart disease Monocyte COX-2 Monocyte-platelet aggregates Prediction

动脉粥样硬化(AS)是冠心病等心脑血管疾病的主要病理基础<sup>[1]</sup>。慢性炎症反应对 AS 的发展起着重要促进作用,其中单核细胞与血小板聚集体(MPA)形成所诱导的炎症反应在 AS 的发生和发展中扮演重要的角色<sup>[2-3]</sup>。MPA 可通过 NF- $\kappa$ B 信号通路诱导单核细胞活化而引起环氧化酶-2(COX-2)表达增高<sup>[4]</sup>;笔者既往研究表明,木瓜蛋白酶可通过抑制中心因子 AKT 磷酸化而降低 MPA 诱导的单核细胞 COX-2 表达,并抑制单核细胞粘附和分泌功能,提示单核细胞 COX-2 可能在 AS 及冠心病的发生、发展中扮演重要角色<sup>[5]</sup>。因此,单核细胞 COX-2 表达增高可能有助于预测 AS 及冠心病的发生,并可作为其风险标志物。笔者通过观察冠心病患者外周血单核细胞 COX-2 表达,探讨其与 MPA 形成和冠心病发生之间的关系,现将结果报道如下。

## 1 对象和方法

1.1 对象 收集 2017 年 10 月 1 日至 12 月 31 日在我院住院的冠心病患者 66 例,男 41 例,女 25 例,年龄 34~78(46.0 $\pm$ 25.0)岁;其中稳定型心绞痛(SA)37 例,男 24 例,女 13 例,年龄 34~72(47.6 $\pm$ 18.3)岁;不稳定型心绞痛(UA)29 例,男 19 例,女 10 例,年龄 37~78(49.2 $\pm$ 17.1)岁。纳入标准:(1)AS 性心脏病患者;(2)符合冠心病诊断标准;(3)首次入院确诊者;(4)入院后治疗前。排除标准:(1)急性心肌梗死;(2)急慢性感染或炎症;(3)高血压;(4)肝肾功能异常;(5)恶性肿瘤;(6)脑血管疾病;(7)动静脉血栓史;(8)手术后;(9)孕妇;(10)2 周内服用过任何药物;(11)1 个月内使用过抗血栓药物。收集同期在我院健康体检者 30 例作为正常对照组,男 20 例,女 10 例,年龄 35~72(45 $\pm$ 23)岁;均无常规血液学检验、超声、X 线等检查异常者。本研究均经患者或其家属以及体检人员知情同意。各组间性别、年龄的比较均无统计学差异(均  $P < 0.05$ )。

1.2 主要试剂与仪器、材料 CD41-FITC 及 CD14-PE 单克隆抗体(法国 Immunotech 公司),COX-2 单克隆抗体(美国 Cell Signaling 生物技术公司),细胞裂解液和 TEN 缓冲液(自配),MCP-1 ELISA 试剂盒(美国 Bioscience 公司),淋巴细胞分离液(北京鼎国昌盛生物技术公司),RPMI1640 培养液(上海佳和生物科技有限公司)。FBS(美国 Hyclone 公司)。FC500-MCL 流式细胞仪(美国 Beckman-Coulter 公司)、Mindray BC-6800 血细胞分析仪和 CRP-M100 分析仪(中国迈瑞医疗公司),

酶标仪(美国 BIO-RAD 公司)、改良 Neubauer 计数板。

1.3 MPA 水平和炎症指标测定 清晨空腹采集冠心病患者和志愿者静脉血。采集枸橼酸三钠 1:9 抗凝血 2.7ml,加入 CD14 和 CD41 单克隆抗体,以流式细胞仪检测同时表达 CD41 和 CD14 的血小板比例,即 MPA 水平(%);采集 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝血 2ml,以血细胞分析仪测定 WBC、中性粒细胞、淋巴细胞,并计算中性粒细胞-淋巴细胞比值(NLR),以 CRP-M100 分析仪测定超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)浓度;采集无抗凝血 3ml,1 500g 离心分离血清,采用单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1) ELISA 试剂盒测定 MCP-1 水平。操作均严格按照仪器和试剂盒说明书进行。

1.4 外周血单核细胞分离、处理和 COX-2 水平检测按照笔者以往研究中的单核细胞分离、处理和 Western blot 检测方法<sup>[5]</sup>。具体为:取健康人员和冠心病患者静脉血 3~5ml,肝素抗凝,Ficoll 密度梯度离心法分离外周血单个核细胞(PBMC),用含 10%FBS 的 RPMI1640 培养液悬浮,置 6 孔板中培养,37 $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub> 孵箱贴壁 2h 后,用预温培养基洗去未黏附细胞,悬浮细胞可重复黏附,得到更多贴壁,以培养基重新悬浮贴壁细胞,以流式细胞仪检测表达 CD14 的细胞比例,表达率 >90% 为符合要求。然后以 Neubauer 计数板计数并调整细胞数为  $5 \times 10^5$  个/ml。以  $\beta$ -actin 为内参,前述单核细胞悬液以细胞裂解液裂解细胞,充分混匀后取等量标本上样以 SDS-PAGE 电泳;转膜 2h;脱脂奶粉封闭后 COX-2 单克隆抗体,孵育过夜;TBST 漂洗膜;用 HRP 标记的抗体孵育;ECL 发光底物显色后在 Bio-Rad 成像系统曝光。曝光结果用 Image J 软件进行光密度检测。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 13.0 统计软件。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用成组  $t$  检验,相关性分析采用 Pearson 相关,危险因素分析采用 logistic 回归分析。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 各组炎症指标、MPA 和 COX-2 水平的比较 冠心病组 hs-CRP、MCP-1、WBC 和 NLR 水平均高于对照组,差异均有统计学意义(均  $P < 0.01$ );UA 组 hs-CRP、MCP-1、WBC 和 NLR 水平以及 MPA 和 COX-2 水平均高于 SA 组,差异均有统计学意义(均  $P < 0.01$ )。见表 1、图 1。

2.2 冠心病患者 COX-2 水平与 MPA 及各炎症指标水

表 1 各组炎症指标的比较

组别	n	hs-CRP(mg/L)	MCP-1(ng/L)	WBC( $\times 10^9/L$ )	NLR
冠心病组	66	6.32 $\pm$ 5.61*	181.3 $\pm$ 34.7*	9.33 $\pm$ 3.52*	3.21 $\pm$ 2.28*
SA 组	37	3.33 $\pm$ 2.15	145.3 $\pm$ 22.1	7.89 $\pm$ 2.78	2.76 $\pm$ 2.01
UA 组	29	10.13 $\pm$ 9.32 $\Delta$	227.2 $\pm$ 27.4 $\Delta$	11.17 $\pm$ 3.20 $\Delta$	3.78 $\pm$ 1.69 $\Delta$
对照组	30	0.91 $\pm$ 0.89	101.2 $\pm$ 21.2	5.81 $\pm$ 2.30	2.09 $\pm$ 1.22

注:与对照组比较,\* $P<0.01$ ;与 SA 组比较, $\Delta P<0.01$

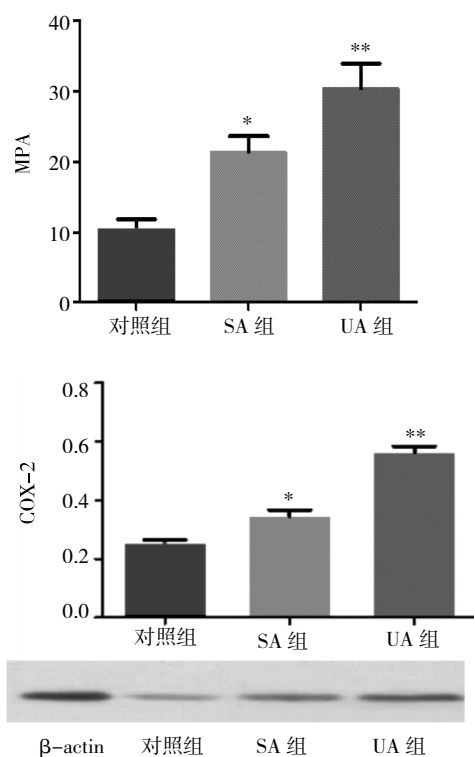


图 1 SA 和 UA 组患者 MPA 和 COX-2 水平比较(与对照组比较,\* $P<0.01$ ;与 SA 组比较,\*\* $P<0.01$ )

平的相关性 相关性分析显示,COX-2 表达水平与 MPA、MCP-1、NLR 和 hs-CRP 均呈正相关( $r=0.703$ 、 $0.631$ 、 $0.603$ 、 $0.532$ ,均 $P<0.01$ )。COX-2 水平升高的冠心病患者 MPA 水平显著高于 COX-2 水平正常的患者,MPA 水平升高冠心病患者 COX-2 水平显著高于 MPA 水平正常的患者( $P<0.01$ );见图 2。

2.3 冠心病患者 logistic 回归分析结果 单因素回归分析显示 COX-2、MPA、年龄、各炎症指标均为冠心病的危险因素,多因素回归分析显示,除年龄、性别和 WBC 之外,其余各指标均为冠心病的独立危险因素,COX-2 比其余指标具有更高的 OR 值;见表 2。

### 3 讨论

AS 是一种慢性炎症性病变过程,血小板和 WBC 参与的炎症反应在动脉硬化性血栓形成性疾病如冠心病

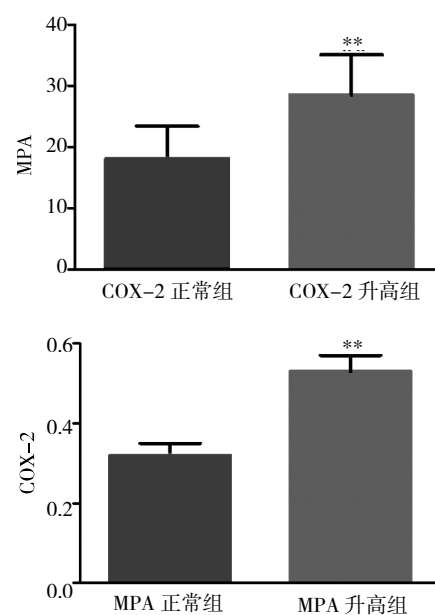


图 2 冠心病危险因素单核细胞 COX-2 水平与 MPA 水平的关系(与 COX-2 正常组、MPA 正常组比较,\*\* $P<0.01$ )

表 2 冠心病危险因素 logistic 回归分析结果

变量	单因素回归分析		多因素回归分析	
	OR(95% CI)	P 值	OR(95% CI)	P 值
性别	0.845 (0.566~1.032)	>0.05	0.769 (0.501~0.01)	>0.05
年龄	1.201 (1.045~1.602)	<0.01	1.101 (0.931~1.200)	>0.05
COX-2	7.812 (5.432~10.321)	<0.01	6.322 (4.544~8.978)	<0.01
MPA	7.021 (4.677~8.969)	<0.01	5.877 (4.122~7.991)	<0.01
hs-CRP	5.321 (3.221~8.012)	<0.01	4.221 (2.345~5.865)	<0.01
MCP-1	6.442 (4.320~8.777)	<0.01	5.235 (3.301~7.001)	<0.01
WBC	2.334 (1.476~3.702)	<0.01	1.255 (0.802~3.033)	>0.05
NLR	4.561 (3.022~6.890)	<0.01	4.011 (2.799~6.121)	<0.01

的发生和发展中扮演重要角色<sup>[6]</sup>。众多研究表明,炎症在 AS 相关的心血管疾病发生、发展过程中起着重要的作用<sup>[7]</sup>;并且单核细胞诱导的慢性炎症反应及巨噬细胞形成在 AS 的早起过程中起着重要的作用<sup>[8]</sup>。慢性炎症多以 WBC 增高和各种炎症介质分泌为基本现象,从而可以各炎症指标的水平作为其评价基础。单核细胞活化是一个复杂的过程,体现为趋化、黏附功能增强,并以炎症因子如 MCP-1 分泌等为基本表征<sup>[9]</sup>。在本研究中,冠心病患者炎症指标 MCP-1、hs-CRP、WBC 和 NLR 水平明显高于正常人群,显示各炎症指标变化趋势具有一致性,符合炎症反应的基本表现。以上结果一方面表明炎症反应与冠心病发生关系密切,同时也表明炎症反应增强可使患者 AS 风险增加,从而导致冠心病的发生。另外,UA 患者比 SA 患者具有更高水平炎症指标表达,表明多种因素所诱导的炎症反应可能与 AS 的进展以及冠心病病情严重程度有关。因此,测定炎症指标水平可

能有助于预测冠心病风险以及评估患者病情。

单核细胞与血小板黏附形成 MPA 并诱导两者相互激活在 AS 发生中起着尤为重要的作用<sup>[8]</sup>。MPA 及血小板源性细胞介质协同诱导单核细胞信号转导通路活化、促使其分泌和表达多种活性因子、显著增强其趋化及黏附能力并介导炎症细胞黏附,从而放大或延长炎症反应,是 AS 发生、发展的上游病理生理基础<sup>[10]</sup>。这充分表明 MPA 及其诱导的单核细胞活化在 AS 性疾病的发生、发展的早期过程中具有极为重要的作用。MPA 形成可显著增强单核细胞功能,有利于活化单核细胞侵入损伤内皮细胞参与炎症反应,并转化为巨噬细胞吞噬氧化型低密度脂蛋白(Ox-LDL),从而形成泡沫细胞,这是 AS 发生的关键<sup>[11]</sup>。因此,MPA 形成和炎症反应与心血管疾病关系密切。MPA 形成过程中 PS/PSGL-1 连接可激活 MAPK,通过 MAPK ERK/p38 而使单核细胞 COX-2 表达升高,调控单核细胞活化和黏附<sup>[4]</sup>。其中,COX-2 可调节前列环素的产生从而对慢性炎症的发生具有重要促进作用<sup>[4]</sup>。在笔者的前期研究中显示,木瓜蛋白酶抑制 COX-2 蛋白表达的同时,能降低单核细胞的黏附及其分泌炎症蛋白 MCP-1<sup>[5]</sup>,表明抑制 COX-2 可有效抑制炎症反应;因此,COX-2 可能作为炎症调控的靶点,其表达增加可能是 MPA 形成并激活单核细胞参与炎症反应从而导致 AS 发生的关键物质,若能有效抑制其表达可能有助于 AS 相关疾病的防治。尽管笔者在本研究中只检测和观察了单核细胞 COX-2 蛋白表达的改变,并未同时采用 PCR 法测定 COX-2 mRNA 表达,但研究结果显示,SA 和 UA 患者均表现为 MPA 形成和单核细胞 COX-2 表达增加,并且 UA 患者比 SA 患者 MPA 和 COX-2 具有更高水平,表明 COX-2 表达增加与 MPA 形成增多具有一致性。而进一步研究显示,冠心病患者单核细胞 COX-2 表达水平与 MPA 比例呈正相关,并与炎症指标水平具有正相关,进一步揭示和证实以 COX-2 表达为代表的炎症标志物水平增加与 MPA 形成诱导单核细胞活化引起的炎症反应程度增高具有明显相关性。结果同时也揭示了 COX-2 表达水平高低与冠心病进展与否有密切的关系。因此,COX-2 作为重要的炎症调控分子,其在 MPA 诱导的单核细胞活化后的炎症调控中扮演着重要角色,可能有助于冠心病的预测和病情评估。

炎症标志物水平在冠心病预测及其风险评估中具有重要价值<sup>[6]</sup>。报道显示,hs-CRP、WBC 和 NLR 对冠心病预测有较高价值,并与病情严重程度有关;并且 hs-CRP 和 NLR 可作为急性冠脉综合症的独立危险因

素<sup>[12-14]</sup>。因此,炎症标志物在冠心病诊断与预后中具有重要的意义。本研究在预测冠心病的各种炎症指标中,炎症调控因子 COX-2 具有最高的 OR 值,单因素和多因素分析分别为 7.812 和 6.332,表明患者单核细胞 COX-2 表达水平升高可显著增加冠心病的风险,并作为其独立危险因素有助于预测冠心病发生的风险;同时结果也进一步提示并证实如有效抑制其表达可能有助于降低冠心病风险。

综上所述,本研究通过对冠心病患者外周血单核细胞 COX-2 表达水平进行评估,初步提示 COX-2 表达增高与 MPA 形成增多具有联动关系,并可作为冠心病风险的独立预测因子。在此基础上,如能进一步结合 COX-2 mRNA 检测进行研究,将更有利于临床应用。

#### 4 参考文献

- [1] Pac-Kozuchowska E, Krawiec P, Grywalska E. Selected risk factors for atherosclerosis in children and their parents with positive family history of premature cardiovascular diseases: a prospective study[J]. BMC Pediatr, 2018, 18(1):123. DOI:org/10.1186/s12887-018-1102-2.
- [2] Gremmel T, Ay C, Riedl J, et al. Platelet-specific markers are associated with monocyte-platelet aggregate formation and thrombin generation potential in advanced atherosclerosis[J]. Thromb Haemost, 2016,115(3):615-621. DOI: 10.1160/TH15-07-0598.
- [3] Czepluch FS, Kuschicke H, Dellas C, et al. Increasing proatherogenic monocyte-platelet cross-talk in monocyte subpopulations of patients with stable coronary artery disease[J]. J Intern Med, 2014, 275(2):144-154. DOI: 10.1111/joim.12145.
- [4] Fei XM, Yuan YF, Zhao Y, et al. Papain Ameliorates the MPAs Formation-Mediated Activation of Monocytes by Inhibiting Cox-2 Expression via Regulating the MAPKs and PI3K/Akt Signal Path [J]. BioMed Res Int, 2018, 2018:3632084. DOI: 10.1155/2018/3632084.
- [5] 费鲜明,王欢,袁武峰,等.木瓜蛋白酶对 MPA 诱导的单核细胞分泌和黏附功能的抑制作用及分子机制初步研究[J].中国临床药理学与治疗学,2017,22(1):1-8.
- [6] 刘俊田.动脉粥样硬化发病的炎症机制的研究进展[J].西安交通大学学报(医学版),2015,36(2): 141-152. DOI:10.7652/jdyxb201502001.
- [7] 葛均波,张友恩,姚康.炎症在动脉粥样硬化血栓形成疾病中的作用[J].中国中西医结合杂志,2013, 33(12): 1589-1592. DOI:10.7661/CJIM.2013.12.1589.
- [8] Clemente C, Rius C, Alonso-Herranz L, et al. MT4-MMP deficiency increases patrolling monocyte recruitment to early lesions and accelerates atherosclerosis[J]. Nat Commun,2018, 9(1):910. DOI: 10.1038/s41467-018-03351-4.
- [9] Van Gils JM, Zwaginga JJ, Hordijk PL. Molecular and functional interactions among monocytes, platelets, and endothelial cells and their relevance for cardiovascular diseases [J]. Journal of

- leukocyte biology, 2009, 85(2): 195–204.
- [10] Legein B, Temmerman L, Biessen EA, et al. Inflammation and immune system interactions in atherosclerosis[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2013, 70(20):3847–3869. DOI: 10.1007/s00018-013-1289-1.
- [11] Pourcet B, Staels B. Alternative macrophages in atherosclerosis: not always protective[J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(3):910–912. DOI: 10.1172/JCI120123.
- [12] 刘子铭, 赵菲菲, 李凯勇, 等. 中性粒细胞与淋巴细胞比值和冠心病关系的探讨[J]. *武汉大学学报医学版*, 2018, 39(1):114–119. DOI: 10.14188/j.1671-8852.2017.0037.
- [13] Chaudhury A, Noiret L, Higgins JM. White blood cell?population dynamics for risk stratification of acute coronary syndrome[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(46):12344–12349. DOI: 10.1073/pnas.1709228114.
- [14] Badimon L, Peñ a E, Arderiu G, et al. C-Reactive Protein in Atherothrombosis and Angiogenesis[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 430. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00430.
- (收稿日期:2018-04-17)  
(本文编辑:严玮雯)

(上接第 5 页)

- D, Fielding A, Spencer S, Dougherty B, Orr M, Hodgson D, et al. Olaparib maintenance therapy in patients with platinum-sensitive relapsed serous ovarian cancer: a preplanned retrospective analysis of outcomes by BRCA status in a randomised phase 2 trial[J]. *The Lancet Oncology*, 2014, 15(8):852–861. DOI: 10.1016/S1470-2045(14)70228-1.
- [24] Pujade-Lauraine E, Ledermann JA, Selle F, et al. Olaparib tablets as maintenance therapy in patients with platinum-sensitive, relapsed ovarian cancer and a BRCA1/2 mutation (SOLO2/ENGOT-Ov21): a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial[J]. *The Lancet Oncology*, 2017, 18(9):1274–1284. DOI: 10.1016/S1470-2045(17)30469-2.
- (收稿日期:2018-12-29)  
(本文编辑:沈昱平)

(上接第 13 页)

- [9] Bugger H, Abel ED. Molecular mechanisms of diabetic cardiomyopathy[J]. *Diabetologia*, 2014, 57(4):660–671. DOI: 10.1007/s00125-014-3171-6.
- [10] Isfort M, Stevens SC, Schaffer S, et al. Metabolic dysfunction in diabetic cardiomyopathy[J]. *Heart Fail Rev*, 2014, 19(1):35–48. DOI: 10.1007/s10741-013-9377-8.
- [11] Rojas P, Montes P, Rojas C, et al. Effect of a phytopharmaceutical medicine, Ginko biloba extract 761, in an animal model of Parkinson's disease: therapeutic perspectives [J]. *Nutrition*, 2012, 28(11-12):1081–1088. DOI: 10.1016/j.nut.2012.03.007.
- [12] Wei Z, Zhang H, Su H, et al. Correlation between myocardial dysfunction and perfusion impairment in diabetic rats with velocity vector imaging and myocardial contrast echocardiography[J]. *Echocardiography*, 2012, 29(10):1247–1255. DOI: 10.1111/j.1540-8175.2012.01796.x.
- [13] Zeng S, Jiang T, Zhou QC, et al. Time-course changes in left ventricular myocardial deformation in STZ-induced rabbits on velocity vector imaging[J]. *Cardiovasc Ultrasound*, 2014, 12:17. DOI: 10.1186/1476-7120-12-17.
- (收稿日期:2018-06-13)  
(本文编辑:严玮雯)

## 《浙江医学》对医学论文中有关实验动物描述的要求

在医学论文的描述中,凡涉及实验动物者,在描述中应符合以下要求:(1)品种、品系描述清楚;(2)强调来源;(3)遗传背景;(4)微生物学质量;(5)明确等级及体重;(6)明确饲养环境和实验环境;(7)明确性别;(8)有无质量合格证;(9)有对饲养的描述(如饲料型、营养水平、照明方式、温度、湿度要求);(10)所有动物数量准确;(11)详细描述动物的健康状况;(12)对动物实验的处理方式有单独清楚的交代;(13)全部有对照,部分可采用双因素方差分析。

本刊编辑部