

## ·实验研究 Experimental research·

## 氯化铁结合凝血酶构建兔静脉窦血栓模型

魏莹, 管生, 郭新宾, 邓鑫, 王子博, 李冬冬, 逯笑柯, 董艳华

**【摘要】 目的** 探讨上矢状窦(SSS)局部贴敷氯化铁并注入凝血酶诱导颅内静脉窦血栓形成(CVST)动物模型构建方法,评估其可行性及应用价值。**方法** 39只新西兰大白兔随机分成A、B、C组,每组13只。A组兔SSS局部贴敷0.9%氯化钠溶液棉片10 min, B组局部贴敷40%氯化铁棉片10 min, C组局部贴敷40%氯化铁棉片5 min并注入凝血酶。建模术后即刻作全脑血管DSA,判断有无血栓形成,术后2 d每组随机抽取3只兔作2,3,5-氯化三苯基四氮唑(TTC)染色,其余10只于术后7 d复查DSA,计算血栓再通率,并作组织病理学检查。**结果** B组、C组均可诱导SSS血栓形成及其周围脑梗死、水肿及炎性细胞聚集等病理改变。与B组相比,C组建模术后7 d血栓再通率明显降低(10%对70%),且伴有周围皮质静脉血栓形成及皮层下淤点性出血。**结论** 兔SSS局部贴敷氯化铁并注入凝血酶诱导CVST模型的方法有效可行,形成血栓更加稳定,其发生机制及病理生理与临床相似,可用于CVST基础和临床试验研究。

**【关键词】** 颅内静脉窦血栓; 动物模型; 血栓再通; 病理改变

中图分类号:R743.2 文献标志码:A 文章编号:1008-794X(2018)-02-0151-06

**Establishment of cerebral venous sinus thrombosis model in rabbits by using ferric chloride combined with thrombin injection** WEI Ying, GUAN Sheng, GUO Xinbin, DENG Xin, WANG Zibo, LI Dongdong, LU Xiaoke, DONG Yanhua. Departmental of Interventional Neurology, First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan Province 450052, China

Corresponding author: GUO Xinbin, E-mail: gxb3906080@sina.com

**【Abstract】 Objective** To discuss the establishment of cerebral venous sinus thrombosis (CVST) model in rabbits by local application of ferric chloride at sinuses sagittalis superior (SSS) combined with thrombin injection, and to evaluate its feasibility and application value. **Methods** A total of 39 New Zealand white rabbits were randomly and equally divided into three groups with 13 rabbits in each group. local application of cotton piece saturated with saline at SSS for 10 minutes was performed for the rabbits of group A, SSS local application of cotton piece saturated with 40% ferric chloride for 10 minutes was adopted for the rabbits of group B, while SSS local application of cotton piece saturated with 40% ferric chloride for 5 minutes together with injection of thrombin was carried out for the rabbits of group C. Whole cerebral DSA was performed immediately after modeling to judge if there was formation of thrombosis. Two days after the modeling, every 3 rabbits from each group were sacrificed to make 2, 3, 5-chloride triphenyl tetrazole (TTC) staining. Seven days after the modeling, the remaining 10 rabbits of each group were examined with DSA, the vascular recanalization rates were calculated, and the histopathological examination was made. **Results** In group B and group C, SSS thrombosis with surrounding cerebral infarction, edema, inflammatory cell aggregation and other pathological changes were observed. The 7-day vascular recanalization rate in group C was strikingly lower than that in group B (10% vs 70%,  $P<0.05$ ). Surrounding cortical vein thrombus and subcortex petechial hemorrhages were obviously seen in group C. **Conclusion** For the establishment of CVST model in rabbits, local application of ferric chloride at SSS together with thrombin injection is effective and feasible. The thrombus thus induced is quite stable, and its pathogenesis and pathophysiology are quite similar to clinical manifestations. Therefore, this method can be used for basic research and clinical trials of

DOI:10.3969/j.issn.1008-794X.2018.02.013

作者单位: 450052 郑州大学第一附属医院神经介入科

通信作者: 郭新宾 E-mail: gxb3906080@sina.com

CVST.(J Intervent Radiol, 2018, 27: 151-156)

**[Key words]** cerebral venous sinus thrombosis; animal model; thrombus recanalization; pathological change

颅内静脉窦血栓形成(CVST)是由多种病因引起的脑静脉回流受阻、常伴有脑脊液吸收障碍所致颅内高压为特征的缺血性脑血管病<sup>[1-2]</sup>, 占所有脑缺血病 0.5%~1%, 在口服避孕药和围产期女性中占比较高, 是中青年缺血性脑血管病常见原因<sup>[3-5]</sup>。60%患者病变累及多个静脉窦, 以上矢状窦(superior sagittal sinus, SSS)发病最为常见<sup>[5-7]</sup>。发病原因与感染、妊娠、产褥期、口服避孕药、恶性肿瘤及自身免疫性疾病等因素相关<sup>[1,3,8]</sup>, 主要临床表现为颅内压增高引起头痛、视神经乳头水肿、呕吐及静脉梗死, 或出血性脑损害引起大脑皮质局灶性受损症状, 如中枢性运动障碍、失语等<sup>[1,4,9]</sup>。由于病因复杂、发病隐匿及临床表现多样, 误诊率及死亡率较高<sup>[1,3-4]</sup>。近年对 CVST 病理生理学认识及诊治有了长足进步, 重要原因是动物模型构建方法如结扎法<sup>[10-12]</sup>, 单纯注入促凝物质<sup>[13-14]</sup>, 局部贴敷氯化铁<sup>[15-17]</sup>, 血管介入<sup>[18-20]</sup>及光化学诱导<sup>[21-22]</sup>等不断完善。但这些方法仍存在结扎 SSS 诱导永久性血栓不能用于静脉窦自身研究和治疗效果评估<sup>[21,23-24]</sup>, 单纯注入促凝物质可随血流进入其它血管或器官引起多脏器衰竭<sup>[19,21]</sup>, 血管介入操作复杂及需要神经介入专业技术等问题, 使其应用受限<sup>[18-19]</sup>; 光化学照射易引起周围小动脉血栓形成, 影响实验结果<sup>[24]</sup>。虽然局部应用 40%氯化铁建模方法操作简单、创伤小及形成血栓可逆, 但所诱导的血栓术后再通率较高, 且血栓未延伸至皮层静脉, 使得慢性静脉窦血栓及损伤脑实质病理生理研究受限<sup>[15-16,23-24]</sup>。本研究在兔 SSS 贴敷 40%氯化铁模型基础上, 通过注入凝血酶诱导 SSS-皮层静脉血栓形成, 旨在构建符合临床病理生理和疾病进展的 CVST 动物模型, 现报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验器材

取新西兰大白兔 39 只(郑州大学动物实验中心), 雌雄不限, 体重(2.5±0.5) kg。其它器材包括麻醉药陆眠宁(吉林华牧动物保健品公司)、氯化铁(天津致远化学试剂公司)、白眉蛇毒凝血酶(中国华兰生物工程公司)、碘普罗胺-300(德国 Bayer 公司)、DSA 仪(美国 GE 公司)、4 F 动脉鞘、0.035 英寸泥鳅导丝(日本 Terumo 公司)、4 F 单弯造影管(美

国 Cordis 公司)、Echelon-10 微导管(美国 Micro Therapeutic 公司)、Traxcess 14 导丝(美国 micro Vention 公司)、2% 2,3,5-氯化三苯基四氮唑(TTC, 北京索莱宝科技公司)。

### 1.2 动物准备

实验兔 39 只随机分成 A 组、B 组、C 组, 每组 13 只。A 组:SSS 局部贴敷 0.9%氯化钠溶液棉片 10 min; B 组:局部贴敷 40%氯化铁棉片 10 min; C 组:局部贴敷 40%氯化铁棉片 5 min 并注入凝血酶。所有动物术后即刻作全脑血管 DSA 检查, 判断 SSS 是否有血栓形成, 术后 2 d 每组随机抽取 3 只兔断头取脑作 TTC 染色, 术后 7 d 每组剩余兔复查 DSA 并作苏木精-伊红(HE)染色。

### 1.3 CVST 动物模型制作

兔臀部肌肉注射陆眠宁(0.1 ml/kg)实施全身麻醉, 俯卧位固定于立体定位架上, 用恒温控制加热垫维持肛温在 38℃, 保持呼吸道通畅; 于颅顶正中作一纵形直切口(长约 3 cm, 前达额骨后至顶间骨前缘), 液冷式钻头在冠状缝后、人字缝间一侧顶骨钻孔, 将其扩大成 2.0 cm×1.2 cm 大小骨窗; 术中仔细操作, 保持硬脑膜及静脉窦完整, 充分显露 SSS; 剪取 2.0 cm×0.2 cm 无菌外科棉片备用, A 组局部贴敷 0.9%氯化钠溶液棉片 10 min, B 组将棉片蘸取 40%氯化铁溶液, 黑暗环境下贴敷至 SSS 表面 10 min, 移除棉片并用 0.9%氯化钠溶液冲洗, C 组黑暗环境下 SSS 局部贴敷 40%氯化铁棉片 5 min 后, 用微量注射器穿刺 SSS 并缓慢注射凝血酶(100 U, 1 000 U/ml), 拔出注射器用无菌棉球压迫止血, 后逐层缝合伤口。

### 1.4 DSA 造影

所有动物术后即刻行 DSA 判断是否有血栓形成: 全身麻醉仰卧位固定, 8%硫化钠腹股沟区脱毛, 于股动脉搏动明显处用 1%利多卡因作局部麻醉并切开 3 cm 皮肤切口, 分离股动脉; 动脉下留置 3-0 纤维缝合线 2 根, 分置于动脉远近端备用; 股动脉穿刺并置入 4 F 动脉鞘, 注入肝素钠(400 U/kg)全身肝素化; 泥鳅导丝导引下 4 F 单弯造影管由股动脉送至主动脉弓, 然后以 4 F 单弯造影管为导引导管, 路图导引下微导管在微导丝配合下完成选择性和超选择性造影(碘普罗胺-300 与 0.9%氯化钠溶

液按 1:1 比例混合,1 ml/次,注射时间 2 s 内,曝光次数 4 帧/s,造影持续时间 10 s),观察 SSS 血流是否通畅,造影毕拔出动脉鞘并于股动脉穿刺点远端用丝线结扎。建模术后 7 d,每组 10 只兔复查 DSA,并与之前 DSA 结果作对比,观察静脉窦有无再通,计算再通率。

### 1.5 TTC 染色

每组于建模术后 2 d,随机抽取 3 只兔深度麻醉后立即断头取脑,将脑组织均匀切成厚 2 mm 薄片,迅速放置在质量分数为 2%TTC 染液中,避光、37℃染色 20 min 后,观察各组脑片颜色(红色为正常组织,苍白色为梗死灶)。

### 1.6 HE 染色

末次 DSA 结束后麻醉兔,开胸推注 200 ml 0.9%氯化钠溶液,继续滴注 4%多聚甲醛固定液 200 ml

(0.2 ml/L 磷酸缓冲液,pH 7.3);断头取硬脑膜及脑组织并将其置入 4% 多聚甲醛中固定,常规脱水、石蜡包埋、HE 染色;光学显微镜下观察 SSS 脑实质组织学改变。

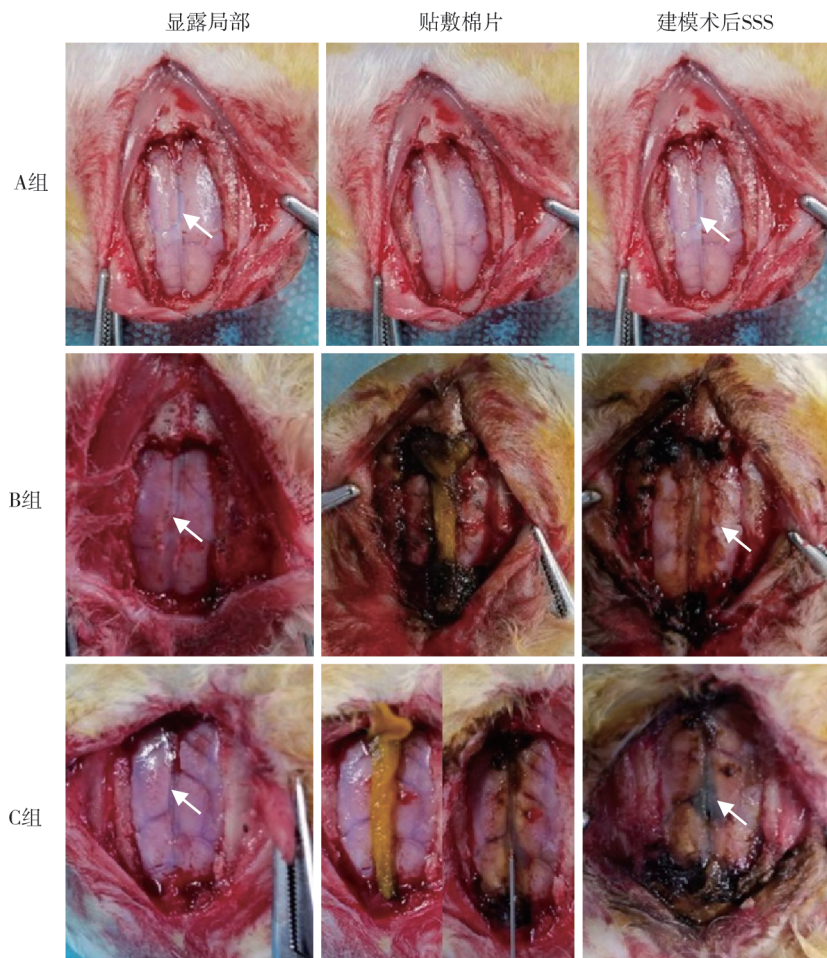
### 1.7 统计分析

采用 SPSS 21.0 统计软件进行数据分析。分类变量组间率比较用 Fisher 确切概率检验, $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 兔 CVST 模型建立

建模术中所有兔耐受良好,观察期内无死亡。对比手术前后各组 SSS 变化,A 组 SSS 术前与术后相比无明显变化,B 组、C 组术后 SSS 内均有黑色血栓形成(图 1)。



A 组贴敷 0.9%氯化钠溶液棉片前后 SSS 无明显改变,B 组、C 组建模术后 SSS 内均可见黑色血栓形成

图 1 3 组兔模型制作过程

### 2.2 DSA 评估

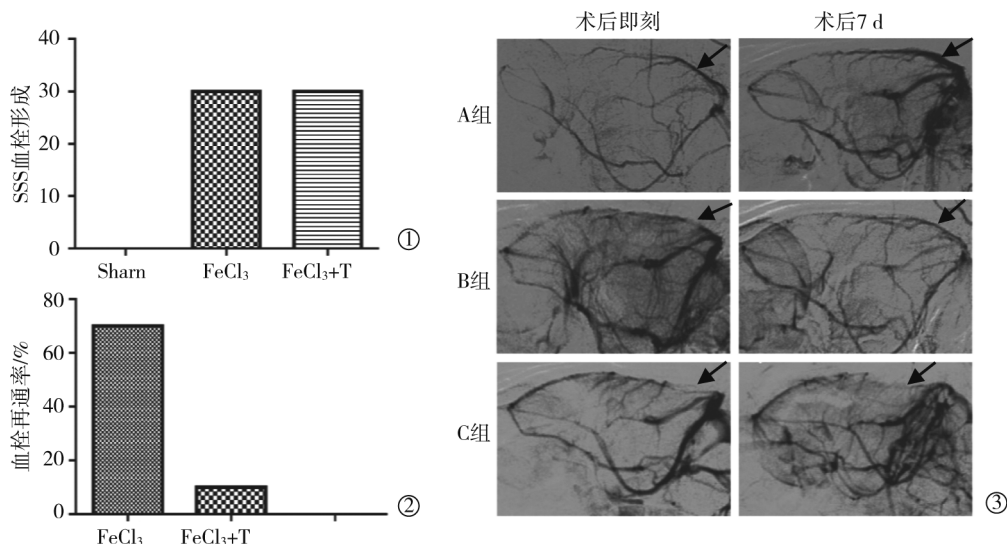
建模术后即刻 DSA 显示,A 组兔 SSS 内血流通畅,无血栓形成,B 组、C 组 SSS 内均有血栓形成,表

现为 SSS 局部血流中断;术后 7 d 每组 10 只兔复查 DSA 显示,A 组 SSS 血流通畅无变化,B 组血栓再通率为 70%(7/10),C 组再通率为 10%(1/10),明显低



于 B 组 ( $P=0.02$ ) (图 2); 由此可知, 单用氯化铁和氯化铁结合凝血酶两种模型制作方法, 均可造成

SSS 内血栓形成, 但氯化铁结合凝血酶较单用氯化铁诱导的血栓更加稳定。



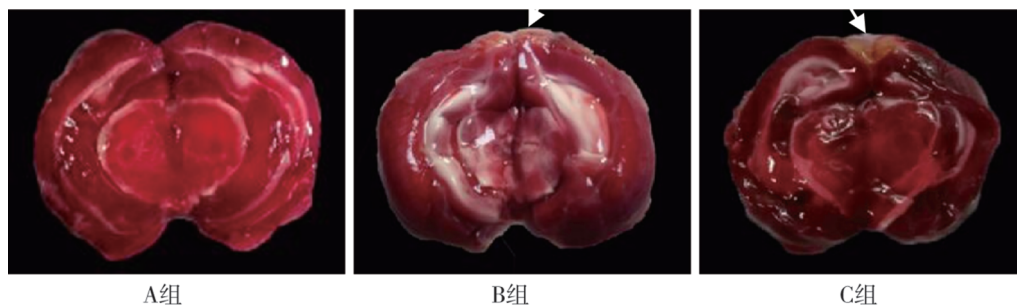
①建模术后即刻 DSA 示 B 组、C 组均可成功诱导出 SSS 血栓; ②术后 7 d DSA 示 B 组血栓再通率明显高于 C 组 (70% 对 10%,  $P=0.02$ ); ③DSA 影像对比示 A 组前后 2 次 SSS 血流通畅, 无血栓形成 (箭头), B 组术后即刻 SSS 血流中断, 血栓形成, 7 d 后血流通畅血栓再通 (箭头), C 组术后 7 d 与术后即刻相比, SSS 血栓增多, 皮层静脉血栓形成 (箭头)

图 2 建模术后即刻及术后 7 d DSA 结果

### 2.3 TTC 染色

建模术后 2 d TTC 染色显示, B 组、C 组兔 SSS 周围脑实质内均可见苍白色缺血灶 (图 3), 提示缩

短贴敷氯化铁时间结合凝血酶注入诱导的兔模型, 同样可诱导 SSS 周围脑组织梗死。



B 组、C 组 SSS 周围脑实质内均有苍白色梗死灶 (箭头)

图 3 TTC 染色结果

### 2.4 HE 染色

与 A 组相比, B 组 HE 染色显示 SSS 管腔内血栓形成, 窦壁上有明显氯化铁沉积, 皮层下脑实质内可见炎性细胞聚集及轻度脑水肿等病理改变, C 组除可诱导出 SSS 血栓, 同时伴有皮层静脉血栓形成及皮层下大量红细胞聚集 (图 4); 提示与单用氯化铁相比, 氯化铁结合凝血酶不仅可更多地模拟 CVST 病理改变, 而且对脑组织损伤较小。

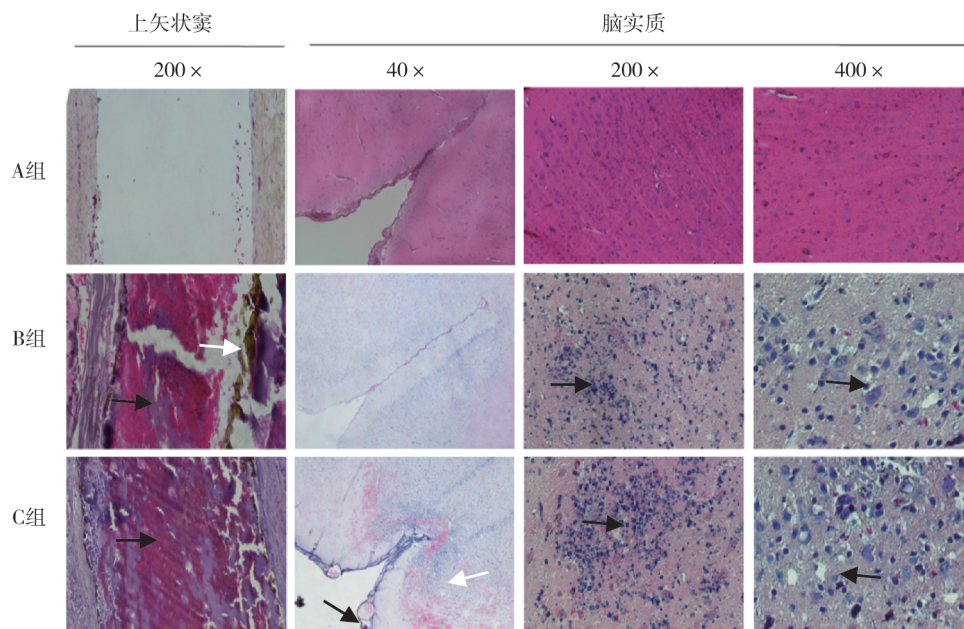
为发病急、进展快、临床表现复杂, 误诊率及漏诊率极高, 是中青年缺血性脑血管病常见原因<sup>[2,5,8,25]</sup>。该病确切发病机制及病理生理过程尚未完全阐明, 目前公认静脉血栓形成的主要因素为静脉血液淤滞、静脉内皮损伤、局部或全身血液高凝状态<sup>[26]</sup>。与临床疾病发病机制相似的动物模型有助于缩短研究时间, 在人为控制影响因素条件下进行特定方面研究, 并为疾病发病机制及其诊断、治疗研究提供可靠基础。

### 3 讨论

CVST 是一种特殊类型缺血性脑血管病, 特点

理想的 CVST 动物模型需具备以下特征: ①所表现的病理生理过程与临床相似; ②血栓组成和病





硬脑膜 SSS HE 染色示 200×镜下 B 组、C 组管腔内有血栓形成, B 组 SSS 表面有明显的氯化铁沉积(白箭头);脑实质染色示 40×镜下 C 组有皮层下脑出血(白箭头)及皮层静脉血栓形成(黑箭头), 200×下 B 组、C 组有炎性细胞聚集(箭头), 400×镜下 B 组、C 组细胞水肿(箭头)

图 4 3 组 HE 染色图像

理过程与人类疾病相似;③可用于评估不同治疗方法和效果<sup>[21,24]</sup>。目前的动物模型类型主要有鼠、兔、猫、猪等。新西兰大白兔易饲养,颅脑大小适中,便于进行多项生化指标观察,同时其 SSS 管腔相对较大,可予以后续血管腔内介入治疗操作,且脑血管接近人脑血管,适合静脉闭塞后病理学和影像学研究<sup>[27]</sup>。

Kurz 等<sup>[28]</sup>1990 年报道通过局部血管贴敷氯化铁模拟内皮细胞损伤,触发血小板黏附和暴露胶原纤维并成功构建兔脑动脉血栓形成模型。之后 Rottger 等<sup>[15]</sup>、Srivastava 等<sup>[17]</sup>分别采用此方法首次构建成可逆性 SSS 血栓形成动物模型,所诱导的内皮损伤机制与临床相似,形成血栓可逆,故可用于血栓自发性再通、脑组织损伤分子机制研究及评估各种治疗效果,是国内外应用范围最广的动物模型。然而单纯贴敷氯化铁术后血栓再通率较高,术后 1 d 再通率达 50%,且临床研究表明 CVST 自出现症状至作出诊断的时间有不同延迟(一般为 7 d),模拟临床症状需要诱导的血栓相对稳定,同时诱导的血栓仅局限于 SSS,皮层静脉无血栓形成,因此该模型不能完全模拟 CVST 病理损伤及慢性过程病理改变<sup>[15,17,23-24]</sup>。凝血酶局部注入,可通过血流进入静脉窦和皮层静脉中激活血小板,催化纤维蛋白原转化为纤维蛋白,造成局部血液高凝状态,诱导血栓形成,但单纯持续注入凝血酶初期 SSS 血流通畅,

诱导血栓形成部位不固定且凝血酶易随血流进入远端,可引起肺栓塞甚至多脏器衰竭,因此国内外学者首先通过结扎或光化学照射等方法阻塞或减慢 SSS 局部血液流速,进而结合凝血酶注入诱导稳定血栓<sup>[12,17,21]</sup>。

为了构建与临床疾病发病机制和病理过程更为相似的 CVST 动物模型,首先应通过局部贴敷 40%氯化铁棉片诱导不稳定血栓,随后注入凝血酶致使局部血液高凝状态,从而成功建立静脉窦血栓形成模型。由于兔颅脑静脉窦管径较大鼠大,血流较快,单纯贴敷氯化铁 5 min 未成功诱导血栓形成,因此通过延长氯化铁贴敷时间模拟传统 SSS 单纯贴敷氯化铁诱导血栓兔模型并与之对比;术后即刻及术后 7 d DSA 检查发现,贴敷氯化铁并注入凝血酶动物模型可成功诱导 SSS 及皮层静脉血栓形成,同时血栓更加稳定,术后 7 d 血栓再通率明显降低,可有效地用于观察慢性静脉窦血栓病理改变及评估药物溶栓等治疗效果;术后组织学分析进一步证实,氯化铁结合凝血酶构建的动物模型在降低氯化铁贴敷时间的同时,不仅可模拟传统模型 SSS 周围脑组织梗死及细胞水肿等病理改变,还可模拟皮层血栓导致的淤点性出血,因此较传统模型更接近临床静脉窦血栓的病理改变。

综上所述,采用 SSS 局部贴敷氯化铁并注入凝血酶方法可构建稳定的兔静脉窦血栓形成模型。该

模型与传统模型相比,可更好地模拟临床疾病发病机制,形成的血栓稳定,与临床 CVST 病理生理学改变相似,因此可更好地用于 CVST 基础研究及评估各种治疗效果,从而为疾病发生发展及预后提供研究基础。

#### [参 考 文 献]

- [1] 中华医学会神经病学分会, 中华医学会神经病学分会脑血管病学组. 中国颅内静脉系统血栓形成诊断和治疗指南(2015)[J]. 中华神经科杂志, 2015, 48: 819-829.
- [2] 郭新宾, 范一木, 管生. 介入微导管内溶栓治疗产后重症静脉窦血栓[J]. 介入放射学杂志, 2013, 22: 271-273.
- [3] Ferro JM, Canhao P, Stam J, et al. Prognosis of cerebral vein and dural sinus thrombosis: results of the international study on cerebral vein and dural sinus thrombosis (ISCVT)[J]. Stroke, 2004, 35: 664-670.
- [4] Einhaupl K, Stam J, Boussier MG, et al. EFNS guideline on the treatment of cerebral venous and sinus thrombosis in adult patients[J]. Eur J Neurol, 2010, 17: 1229-1235.
- [5] Devasagayam S, Wyatt B, Leyden J, et al. Cerebral venous sinus thrombosis incidence is higher than previously thought: a retrospective population-based study[J]. Stroke, 2016, 47: 2180-2182.
- [6] Krajickova D, Klzo L, Krajina A, et al. Cerebral venous sinus thrombosis: clinical characteristics and factors influencing clinical outcome[J]. Clin Appl Thromb Hemost, 2016, 22: 665-672.
- [7] Liang ZW, Gao WL, Feng LM. Clinical characteristics and prognosis of cerebral venous thrombosis in Chinese women during pregnancy and puerperium[J]. Sci Rep, 2017, 7: 43866.
- [8] Rim HT, Jun HS, Ahn JH, et al. Clinical aspects of cerebral venous thrombosis: experiences in two institutions[J]. J Cerebrovasc Endovasc Neurosurg, 2016, 18: 185-193.
- [9] 崔芳, 周志彬, 李懋, 等. 颅内静脉窦血栓形成 163 例的临床特点及预后分析[J]. 中华神经科杂志, 2013, 46: 806-809.
- [10] Ungersbock K, Heimann A, Kempfski O. Cerebral blood flow alterations in a rat model of cerebral sinus thrombosis[J]. Stroke, 1993, 24: 563-569.
- [11] Frerichs KU, Deckert M, Kempfski O, et al. Cerebral sinus and venous thrombosis in rats induces long-term deficits in brain function and morphology: evidence for a cytotoxic genesis[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 1994, 14: 289-300.
- [12] Li G, Zeng X, Ji T, et al. A new thrombosis model of the superior sagittal sinus involving cortical veins[J]. World Neurosurg, 2014, 82: 169-174.
- [13] Wang J, Ji X, Ling F, et al. A new model of reversible superior sagittal sinus thrombosis in rats[J]. Brain Res, 2007, 1181: 118-124.
- [14] Nakase H, Heimann A, Kempfski O. Alterations of regional cerebral blood flow and oxygen saturation in a rat sinus-vein thrombosis model[J]. Stroke, 1996, 27: 720-727.
- [15] Rottger C, Bachmann G, Gerriets T, et al. A new model of reversible sinus sagittalis superior thrombosis in the rat: magnetic resonance imaging changes[J]. Neurosurgery, 2005, 57: 573-580.
- [16] Srivastava AK, Gupta RK, Haris M, et al. Cerebral venous sinus thrombosis: developing an experimental model[J]. J Neurosci Methods, 2007, 161: 220-222.
- [17] Srivastava AK, Kalita J, Haris M, et al. Radiological and histological changes following cerebral venous sinus thrombosis in a rat model[J]. Neurosci Res, 2009, 65: 343-346.
- [18] Stracke CP, Spuentrup E, Katoh M, et al. New experimental model of sinus and cortical vein thrombosis in pigs for MR imaging studies[J]. Neuroradiology, 2006, 48: 721-729.
- [19] Wang J, Tan HQ, Li MH, et al. Development of a new model of transvenous thrombosis in the pig superior sagittal sinus using thrombin injection and balloon occlusion[J]. J Neuroradiol, 2010, 37: 109-115.
- [20] Fries G, Wallenfang T, Hennen J, et al. Occlusion of the pig superior sagittal sinus, bridging and cortical veins: multistep evolution of sinus-vein thrombosis[J]. J Neurosurg, 1992, 77: 127-133.
- [21] Chen C, Wang Q, Gao Y, et al. Photothrombosis combined with thrombin injection establishes a rat model of cerebral venous sinus thrombosis[J]. Neuroscience, 2015, 306: 39-49.
- [22] Schaller C, Nakase H, Kotani A, et al. Impairment of autoregulation following cortical venous occlusion in the rat[J]. Neurol Res, 2002, 24: 210-214.
- [23] Rahal JP, Malek AM, Heilman CB. Toward a better model of cerebral venous sinus thrombosis[J]. World Neurosurg, 2014, 82: 50-53.
- [24] Yenigun M, Junemann M, Gerriets T, et al. Sinus thrombosis: do animal models really cover the clinical syndrome?[J]. Ann Transl Med, 2015, 3: 138.
- [25] Tatlisumak T, Jood K, Putaala J. Cerebral venous thrombosis: epidemiology in change[J]. Stroke, 2016, 47: 2169-2170.
- [26] Hartel M, Kluczevska E, Gancarczyk-Urlik E, et al. Cerebral venous sinus thrombosis[J]. Phlebology, 2015, 30: 3-10.
- [27] 张桂运, 陈左权, 凌锋, 等. 超选择造影与实时乳胶灌注在兔脑动脉系统研究应用[J]. 中华神经外科杂志, 2009, 25: 950-953.
- [28] Kurz KD, Main BW, Sandusky GE. Rat model of arterial thrombosis induced by ferric chloride[J]. Thromb Res, 1990, 60: 269-280.

(收稿日期:2017-04-13)

(本文编辑:边 皓)