·基础研究·

大鼠脑缺血再灌注早期血脑屏障通透性的变化

杨明坤[1,2],司明文[3],赵宝东[1*]

([1]辽宁医学院解剖学教研室,锦州 121001;[2]茌平县人民医院神经内科,聊城 252100;[3]聊城市人民医院急诊科,聊城 252001)

【摘 要】 目的 探讨大鼠脑缺血再灌注早期血脑屏障(BBB)通透性的变化。**方法** 采用随机数字表法,将大鼠分为6组:假手术(Sham)组、缺血1 h组,缺血2 h组、缺血2 h再灌注0.5 h组、缺血2 h再灌注1 h组和缺血2 h再灌注2 h组。采用大脑中动脉线栓法制作局灶性脑缺血再灌注模型,透射电子显微镜下观察,并经鼠尾静脉注射I^{125}-神经生长因子(I^{125}-NGF),观察脑组织中I^{125}-NGF渗入量的变化。采用脑组织冠状冰冻切片放射自显影技术观察I^{125}-NGF在脑组织中的范围。**结果** 与Sham组比较,缺血1 h组,缺血2 h组、缺血2 h再灌注0.5 h组、缺血2 h再灌注1 h组和缺血2 h再灌注2 h组大鼠的^{125}I-NGF γ计数均显著增高,差异具有统计学意义($P<0.05$)。与Sham组比较,缺血2 h组内皮细胞管腔面的微绒毛数目明显增多,内皮细胞轻度皱缩,胞质中胞饮小泡正在形成,内皮细胞胞质中部分线粒体轻度肿胀,星形胶质细胞足突轻度肿胀,细胞外间隙轻度扩大。缺血2 h再灌注2 h组内皮细胞核明显皱缩,内皮细胞线粒体肿胀模糊,基质膜增宽,密度变淡,星形胶质细胞足突肿胀,细胞外间隙扩大,水肿液积聚。Sham组脑室部有少量的I^{125}-NGF渗入;缺血2 h组的脑室和部分皮层损伤中心有I^{125}-NGF渗入;缺血2 h再灌注2 h组的脑室、损伤侧大脑皮层及皮层下组织均有较多I^{125}-NGF渗入。**结论** 大鼠脑缺血再灌注早期有BBB的破坏,随缺血再灌注时间延长,BBB通透性加剧。

【关键词】 缺血再灌注;血脑屏障;I^{125}-神经生长因子

【中图分类号】 R743 **【文献标志码】** A **【DOI】** 10.11915/j.issn.1671-5403.2017.03.048

Changes of blood-brain barrier permeability in early stage of cerebral ischemia-reperfusion injury in rats

YANG Ming-Kun[1,2], SI Ming-Wen[3], ZHAO Bao-Dong[1*]

([1]Department of Anatomy, Liaoning Medical College, Jinzhou 121001, China; [2]Department of Neurology, People's Hospital of Chiping County, Liaocheng 252100, China; [3]Department of Emergency, People's Hospital of Liaocheng City, Liaocheng 252001, China)

【Abstract】 Objective To study the changes of the permeability of blood-brain barrier (BBB) in the early stage after cerebral ischemia-reperfusion (I/R) injury in rats. **Methods** Thirty rats were randomly divided into 6 groups: sham group, ischemia for 1 h group (I1h), ischemia for 2 h group (I2h), ischemia for 2 h followed by reperfusion for 0.5 h (I2h/R0.5h), ischemia for 2 h followed by reperfusion for 1 h (I2h/R1h), and ischemia for 2 h and then reperfusion for 2 h (I2h/R2h). The cerebral ischemia-reperfusion model of middle cerebral artery occlusion (MCAO) was established by middle cerebral artery occlusion. The BBB structure was observed with transmission electron microscopy. After I^{125} labeled nerve growth factor (I^{125}-NGF) was injected into the rats by tail vein, its permeation through the BBB was determined by counting γ-rays. Autoradiography was used to observe the distribution of I^{125}-NGF in the involved areas in the frozen section of brain coronal tissues. **Results** Compared with that in rats of the sham group, the content of I^{125}-NGF was significantly higher in the rats from the I1h, I2h, I2h/R0.5h, I2h/R1h, and I2h/R2h groups ($P<0.05$). Compared with sham group, the I2h group displayed that the number of microvilli on the luminal surface of endothelial cells was increased significantly, and the endothelial cells were slightly shrunken, with the pinocytotic vesicles formed in the cytoplasm and slightly swollen mitochondria. And the astrocytes were observed with mild swollen foot processes and wilder extracellular space. In the I2h/R2h group, the endothelial cells were swollen and blurred, with wrinkled nucleus and larger gap, and the astrocytes were with mild swollen foot processes, wilder extracellular space, and accumulated edema fluid. I^{125}-NGF was slightly infiltrated into the ventricle of the sham group, moderately into the ventricle and involved cortex of the I2h group, but largely into the ventricle, involved cortex and subcortical tissues in the I2h/R2h group. **Conclusion** BBB is impaired at the early stage of cerebral ischemia-reperfusion injury in rats. With the elapse of ischemia/reperfusion duration, the integrity of the BBB has deteriorated more severely.

收稿日期: 2016-07-14; **修回日期:** 2016-12-02

通信作者: 赵宝东, E-mail: zhaobaodong2001@163.com

【Key words】 cerebral ischemia-reperfusion; blood-brain barrier; I^{125}-nerve growth factor

Corresponding author: *ZHAO Bao-Dong*, *E-mail*: *zhaobaodong2001@163.com*

缺血性脑血管疾病具有较高的发病率和致死率，严重威胁着人们的健康。脑缺血再灌注（ischemia/reperfusion，I/R）损伤的发生也是困扰临床医师的难题。诸多研究表明，血脑屏障（blood-brain barrier，BBB）结构和功能的改变是I/R的一个重要病理过程，BBB通透性增加将加重缺血脑组织损伤。但是，这些研究大多集中在脑缺血2 h、再灌注2 h以后的时间段，而对脑缺血2 h、再灌注2 h以内的BBB通透性变化还鲜有报道。为探讨大鼠局灶性脑I/R早期BBB通透性的变化，本研究利用I^{125}-神经生长因子（nerve growth factor，NGF）作为示踪剂，检测大鼠局灶性脑I/R模型早期BBB的变化。

1 材料与方法

1.1 动物与材料

SD成年雄性大鼠30只，体质量200～220 g，购于辽宁医学院动物实验中心[合格证号：SCXK（辽）2005-0003]。采用随机数字表法，将大鼠分为6组：假手术（Sham）组，缺血1 h组，缺血2 h组，缺血2 h再灌注0.5 h组，缺血2 h再灌注1 h组和缺血2 h再灌注2 h组，每组5只。

Iodogen由第三军医大学核医学室提供。NGF由大连斯威特制药公司提供。碘化钠（NaI^{125}）购自中国原子能研究所。

1.2 方法

1.2.1 ^{125}I与NGF的结合及分离纯化 在柴彪新等[1]方法的基础上进行适当改良。1 mg Iodogen溶于0.5 ml氯仿中，取100 μl加至试管底部，氮气吹干。另配制含NaCl（0.2 mol/L）的乙酸（0.01 mol/L）缓冲液（pH 5.4），取适量NGF加入缓冲液，使其浓度为3 g/L。取1 ml NGF缓冲液加入Iodogen试管，再加入NaI^{125}（4.0 mCi），20℃反应12 min后，经Sephaeryls-200HR凝胶柱层析（内径1.0 cm，高50 cm），洗脱液为含NaCl（0.2 mol/L）的乙酸（0.01 mol/L）缓冲液（pH 5.4）。收集第1峰的洗脱液，γ计数器（FJ-2003/50）测定已纯化^{125}I-NGF（10 μl）的放射性，然后加入三氯乙酸（200 g/L）200 μl，混匀离心，弃上清，沉降物入γ计数器中测定，行60 s计数，与未离心时计数的比为95.0%～96.0%，即为放化纯度。

1.2.2 大鼠局灶性脑缺血动物模型的制备 采用大脑中动脉线栓法制作局灶性脑缺血模型[2,3]。大鼠称重后以10%水合氯醛麻醉后，沿颈前正中部切开皮肤，钝性分离左侧颈动脉鞘，分离出颈内、颈外动脉，结扎翼腭、颈外动脉。将4-0单线尼龙鱼线自颈总动脉远端切口处向颈内动脉插入约19～22 mm，阻塞大脑中动脉近端血流。Sham组鱼线进入到颈动脉分叉处即可。再灌注时，抽出尼龙绳，使血流再通。

1.2.3 透射电子显微镜观察 取各组大鼠大脑皮质病灶处组织（约1 mm×1 mm），2.5%戊二酸固定4 h，1%锇酸固定2 h（4℃），乙醇梯度脱水，Epon 812环氧树脂浸透包埋聚合，半薄切片甲苯胺蓝染色固定，超薄（60 nm）切片，铀铅双染，透射电镜观察。

1.2.4 ^{125}I-NGF示踪 各组大鼠自尾静脉注入^{125}I-NGF（33 kBq/g），30 min后处死，用生理盐水（压力90～100 cmH_2O）行左心室灌注，直至右心耳流出的液体放射性计数接近0为止。采集大脑组织标本后，将其放入含30%蔗糖的0.1 mol/L磷酸盐缓冲液（phosphate buffer saline，PBS）中，4℃保存2 d。取左侧大脑皮质组织块，用γ计数仪计数，计算100 mg样品的γ计数。

1.2.5 脑组织切片放射自显影 另取固定后的脑组织，浸入制冷剂中，快速冷冻。冷冻后的标本不解冻，在恒温切片机中进行冠状切片，片厚60 μm，冷冻干燥后，移入室温暗室中，在安全灯下将标本平面向上摆正。裁取和玻片等大的X线片，黑纸包好，放入加干燥剂的塑料袋中，封口，置4℃冰箱中曝光，14 d后在暗室中将X线片取下进行显影、定影处理，观察^{125}I-NGF在X线片上的成影部位面积及灰度。

1.3 统计学处理

采用SPSS16.0软件进行数据处理。计量资料以均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，组间比较采用t检验。$P<0.05$为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 透射电子显微镜观察

与Sham组比较，缺血2 h组内皮细胞管腔面的微绒毛数目明显增多，内皮细胞轻度皱缩，胞质中胞饮小泡正在形成，内皮细胞胞质中部分线粒体轻度肿胀，星形胶质细胞足突轻度肿胀，细胞外间隙轻度扩大。缺血2 h再灌注2 h组内皮细胞核明显皱缩，

内皮细胞线粒体肿胀模糊，基质膜增宽，密度变淡，星形胶质细胞足突肿胀，细胞外间隙扩大，水肿液积聚（图 1）。

2.2 ^{125}I-NGF 示踪

Sham 组、缺血 1 h 组，缺血 2 h 组、缺血 2 h 再灌注 0.5 h 组、缺血 2 h 再灌注 1 h 组和缺血 2 h 再灌注 2 h 组脑组织 ^{125}I-NGF 的 γ 计数分别为（243.2 ± 43.2）、（532.8 ± 171.4）、（705.2 ± 245.2）、（796.4 ± 281.6）、（864.8 ± 291.8）和（1028.2 ± 343.6）cpm/100 mg。与 Sham 组相比，其余各组大鼠的 ^{125}I-NGFγ 计数均显著增高，差异具有统计学意义（$P < 0.05$）。

2.3 放射自显影

Sham 组脑室部因 BBB 不完整有少量的 I^{125}-NGF渗入，其他组织未见显影；缺血 2 h 组除脑室外部分皮层损伤中心有 I^{125}-NGF 渗入；缺血 2 h 再灌注 2 h 组除脑室外，损伤侧大脑皮质及皮质下组织均有较多 I^{125}-NGF 渗入（图 2）。

3 讨 论

BBB 是维持中枢神经系统内环境稳定的结构基础，在调节脑微环境稳态和维持中枢神经功能中具有重要作用。构成 BBB 的组织是脑毛细血管内皮细胞及其细胞间的紧密连接、基膜、星形胶质细胞终足形成的胶质膜及极为狭窄的细胞外膜。紧密连接是保持 BBB 完整性的重要因素，由跨膜蛋白（claudin、occludin 和 junctional adlhesion molecule）和

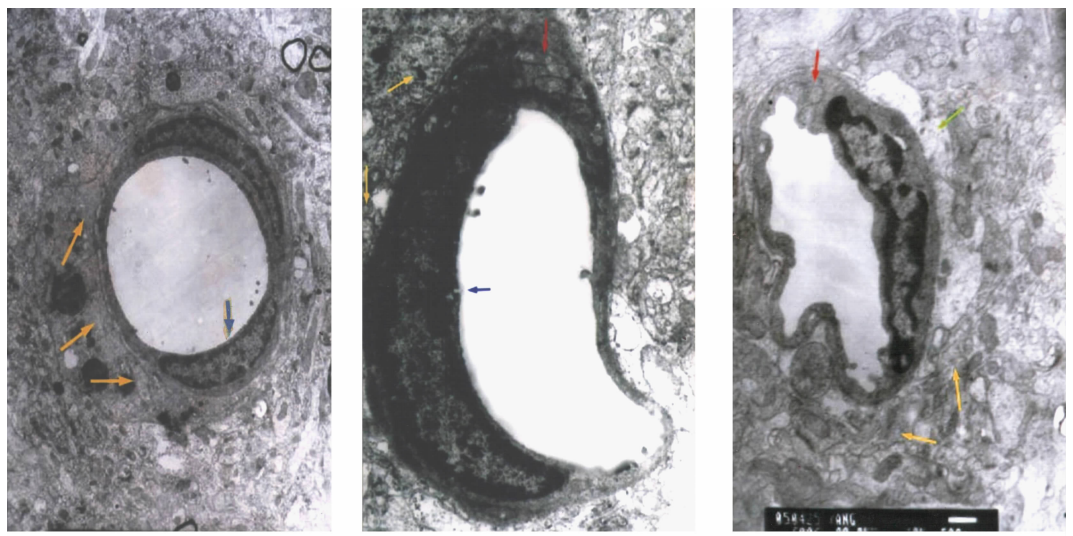


图 1 各组细胞透射电镜观察

Figure 1 Cell under transmission electron microscope (×7500)

A: sham group; B: ischemia for 2 h group; C: ischemia for 2 h + reperfusion for 2 h group. Red arrow indicates mitochondria; blue arrow indicates pinocytotic vesicle; yellow arrow indicates foot processes; green arrow indicates the extracellular space

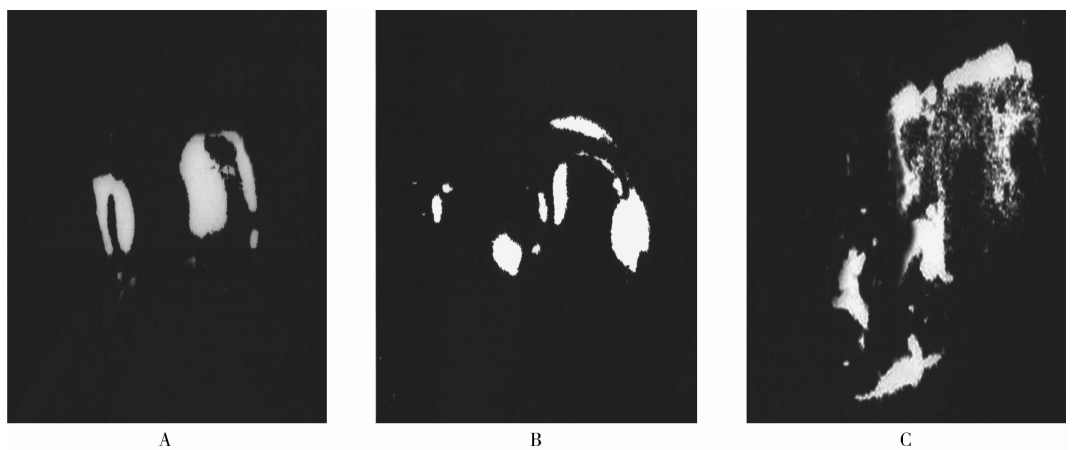


图 2 放射自显影技术观察 I^{125}-NGF 在脑组织中的范围

Figure 2 The distribution of I^{125}-NGF in the involved areas of brain coronal tissues observed by autoradiography

A: sham group; B: ischemia for 2 h group; C: ischemia for 2 h + reperfusion for 2 h group

膜相关蛋白(zonula occludens、cingulin、去唾液酸糖蛋白和7H6)共同组成[3,4]。其结构和功能的破坏将引起BBB通透性增加,甚至发生脑水肿。其中claudin-5和occludin蛋白是调节物质通过细胞紧密连接的最关键成分[5,6]。

本研究利用透射电镜、放射自显影技术和^{125}I-NGF示踪法,通过建立大鼠局灶性脑缺血模型,发现在I/R损伤早期BBB的通透性就发生了显著改变,且随着I/R时间延长,血管周围间隙增宽、毛细血管扩张、开放程度增加、透过BBB的^{125}I-NGF增多。超微结构观察发现[7],I/R 30 min后神经元皱缩成扇形,细胞质肿胀,血管周围水肿,内皮细胞和星形胶质细胞肿胀。I/R损伤与BBB结构和功能的继发性破坏密切相关,BBB的屏障功能减弱及通透性增加可引起严重的血管源性脑水肿和其他并发症[8]。Rapoport等[6]发现脑缺血初期,细胞外液中的谷氨酸可持续高出正常值的数十倍,构成谷氨酸的毒性环境。有研究表明[9,10],在I/R早期脑微血管内皮细胞中claudin-5和occludin分布的连续性和表达情况均发生改变,claudin-5和occludin在缺血1 h后表达显著下调,随I/R时间延长,下调更加显著。同时,缺血1 h后,蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)δ蛋白表达显著升高,且其上调的变化趋势与BBB开放和紧密连接蛋白表达下降的趋势基本一致[10-13]。Amantea等[14]发现脑缺血1 h时,白细胞介素1β和肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)在缺血区免疫反应加强;缺血2 h再灌注2 h时,白细胞介素1β和TNF在缺血和半暗带的表达均明显增加,参与脑缺血急性期BBB的破坏和脑水肿。基质金属蛋白酶系(matrix metallo proteinase system,MMPs)能降解几乎所有细胞外基质,在脑缺血2 h再灌注2 h时,MMPs-2水平增高。本研究发现在脑缺血1 h后,^{125}I-NGF进入脑组织的量就有所增加,并一直持续到再灌注2 h,其变化趋势与上述炎性因子及调节蛋白的变化趋势相一致。因此我们推测在I/R早期,各种炎性因子参与了BBB的破坏,BBB的屏障结构受到损伤,从而引起BBB开放[15,16]。

2002年美国神经疾病和脑卒中研究院在"脑卒中进展的回顾和报道"中提出神经血管单元的概念:神经血管单元由神经元、胶质细胞和微血管组成,在脑组织发育的过程中,这3种成分相互调节、相互作用。在脑卒中发生后,这3种成分也互相影响[17]。近年来研究发现,NGF不仅在发育过程中调节神经元存活,而且能够对抗谷氨酸兴奋毒性作用,促进神经元的修复和轴突再生,调节突触可塑性和神经递质等神经系统功能。所以外源性NGF通过破坏的BBB后,既可以发挥其抑制神经元凋亡和对抗谷氨酸兴奋的毒性作用,又可通过神经元的修复促进BBB功能和结构的恢复,抑制血管性脑水肿的进一步加重。

综上所述,BBB在脑I/R早期已发生了结构和功能的改变。此时,I^{125}-NGF可以通过破坏了的BBB。这为应用NGF早期治疗脑I/R损伤提供了一定的实验基础。

【参考文献】

[1] 柴彪新, 刘秀文, 汤仲明. 药代动力学研究用蛋白多肽药物的放射性标记、分离纯化和鉴定[J]. 中华核医学杂志, 1998, 18(1): 53-54.
Chai BX, Liu XW, Tang ZM. Pharmacokinetic study of radioactive marker with protein polypeptide drugs, isolation, purification and identification[J]. Chin J Nucl Med, 1998, 18(1): 53-54.

[2] Wang Z, Xue Y, Jiao H, *et al*. Doxycycline-mediated protective effect against focal cerebral ischemia-reperfusion injury through modulation of tight junction and PKCδ signaling in rats[J]. J Mol Neurosci, 2012, 47(1): 89-100. DOI: 10.1007/s12031-011-9689-x.

[3] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, *et al*. Reverisible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. Stroke, 1989, 20(1): 84-91. DOI: 10.1161/01.STR.20.1.84.

[4] 姚寅生, 刘家传, 张艳艳, 等. 缺氧预处理对创伤性脑损伤大鼠Claudin-5表达及血-脑屏障通透性的影响[J]. 中国微侵袭神经外科杂志, 2014, 19(4): 180-183. DOI: 10.11850/j.issn.1009-122X.2014.04.014.
Yao YS, Liu JC, Zhang YY, *et al*. Effect of hypoxic preconditioning on claudin 5 expression and blood brain barrier permeability after traumatic brain injury in rats[J]. Chin J Minim Invasive Neurosurg, 2014, 19(4): 180-183. DOI: 10.11850/j.issn.1009-122X.2014.04.014.

[5] Yang Y, Roseberg GA. Blood-brain barrier breakdown in acute and chronic cerebrovascular disease[J]. Stroke, 2011, 42(11): 3323-3328. DOI: 10.1161/STROKEAHA.110.608257.

[6] Rapoport M, Lorberboum-Galski H. TAT-based drug delivery system — new directions in protein delivery for new hopes[J]? Expert Opin Drug Deliv, 2009, 6(5): 453-463. DOI: 10.1517/17425240902887029.

[7] 王静娥, 田国萍, 周 进, 等. 大鼠脑缺血时紧密连接相关蛋白occludin和claudin-5表达的变化[J]. 解剖科学进展, 2010, 16(2): 149-152.
Wang JE, Tian GP, Zhou J, *et al*. Expression change of the tight junction-associated protein occluding and claudin-5 in the microvessel endothelia of cerebral ischemia rat[J]. Prog Anat Sci, 2010, 16(2): 149-152.

[8] Torrente D, Avila MF, Cabezas R, *et al*. Paracrine factors of human mesenchymal stem cells increase wound closure and reduce reactive oxygen species production in a traumatic brain injury *in vitro* model[J]. Hum Exp Toxicol, 2014, 33(7): 673-684. DOI: 10.1177/0960327113509659.

[9] 王振华, 刘云会, 马 腾, 等. 大鼠局灶性脑缺血再灌注早期

血脑屏障通透性变化的研究[J]. 中国医科大学学报, 2012, 41(12): 1073-1076.
Wang ZH, Liu YH, Ma T, *et al*. Modulation of the blood-brain barrier permeability in the early stage of focal cerebral ischemia-reperfusion injury in rats[J]. J China Med Univ, 2012, 41(12): 1073-1076.

[10] 赵春艳, 王建平, 赵源征, 等. 黄体酮对脑缺血再灌注大鼠紧密连接蛋白ZO-1和occludin表达的影响[J]. 中华神经医学杂志, 2011,10(9): 874-878.
Zhao CY, Wang JP, Zhao YZ, *et al*. Effect of progesterone on expressions of tight junction protein zonula occludens-1 and occluding in rats after focal cerebral ischemia-reperfusion[J]. Chin J Neuromed, 2011, 10(9): 874-878.

[11] Zhao L, Liu X, Liang J, *et al*. Phosphorylation of p38 MAPK mediates hypoxic preconditioning-induced neuroprotection against cerebral ischemic injury *via* mitochondria translocation of Bcl-xL in mice[J]. Brain Res, 2013, 1503: 78-88. DOI: 10.1016/j.brainres.2013.01.051.

[12] 何平平, 张 鸿, 孙 淼. 二氮嗪对大鼠脑缺血再灌注后ZO-1、Claudin-5蛋白表达的影响[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2015, 24(2): 124-127. DOI: 10.3870/zgzzhx.2015.02.003.
He PP, Zhang H, Sun M. Effects of diazoxide on the expression of Zo-1 and Claudin-5 after cerebral ischemia-reperfusion in rats[J]. Chin J Histochem Cytochem, 2015, 24(2): 124-127. DOI: 10.3870/zgzzhx.2015.02.003.

[13] 赵 军, 张传福, 张廷芬, 等. CD46在小鼠脑缺血再灌注损伤的表达和意义[J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2013, 12(2): 139-141. DOI: 10.3724/SP.J.1264.2013.00036.
Zhao J, Zhang CF, Zhang TF, *et al*. Expression of CD46 in mouse cerebral ischemia-reperfusion injury and its significance[J]. Chin J Mult Organ Dis Elderly, 2013, 12(2): 139-141. DOI: 10.3724/SP.J.1264.2013.00036.

[14] Amantea D, Bagetta G, Tassorelli C, *et al*. Identification of distinct cellular pools of interleukin-1β during the evolution of the neuroinflammatory response induced by transient middle cerebral artery occlusion in the brain of rat[J]. Brain Res, 2010, 1313: 259-269. DOI: 10.1016/j.brainres.2009.12.017.

[15] 赵 红, 张倩茹, 张海鹏, 等. 高压氧对局灶性脑缺血再灌注大鼠脑组织小窝蛋白-2表达及血脑屏障通透性的影响[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2011, 33(9): 652-655. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2011.09.004.
Zhao H, Zhang QR, Zhang HP, *et al*. Effect of hyperbaric oxygen on the expression of caveolin-2 in brain tissues and the blood brain barrier after focal cerebral ischemia and reperfusion[J]. Chin J Phys Med Rehabil, 2011, 33(9): 652-655. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2011.09.004.

[16] 朱明霞, 董 辉, 路志红, 等. DDR1蛋白在大鼠脑缺血再灌注损伤引起血脑屏障破坏中的作用及机制[J]. 神经解剖学杂志, 2013, 29(6): 620-624. DOI: 10.11670/1000-7547.201306004.
Zhu MX, Dong H, Lu ZH, *et al*. The effect and mechanism of DDR1 on blood-brain barrier impairment after focal cerebral ischemia/reperfusion (I/R) in rats[J]. Chin J Neuroanatom, 2013, 29(6): 620-624. DOI: 10.11670/1000-7547.201306004.

[17] Hawkins BT, Davis TP. The blood-brain barrier/neurovascular unit in health and disease[J]. Pharmacol Rev, 2005, 57(2): 173-185. DOI: 10.1124/pr.57.2.4.

(编辑: 吕青远)

·消 息·

《中华老年多器官疾病杂志》"临床病理讨论"栏目征稿

临床病理讨论(Clinicopathological Conference, CPC)是临床实践中的一个重要环节,是多个学科合作对患者进行个体化诊治的一种形式,尤其对于一些疑难和罕见病例更为重要。综合患者的临床表现、实验室检查、影像学检查和病理检查等各项结果,一方面可以明确疾病的诊断并制定治疗方案,使患者受益,另一方面亦有利于为临床医师提供更好的经验和更开阔的思路,提高医师的诊疗能力。一篇好的临床病理讨论,往往是教科书上找不到的活教材,也是其他文体难以取代的好形式。

"临床病理讨论"一直以来都是本刊的一个特色栏目,深受广大读者喜爱。所刊登的一般多为回顾性的病例讨论与总结,旨在总结经验、吸纳教训和传播知识。在工作实践中,我们根据广大读者和作者的建议,对临床病理讨论文章的格式进行了调整。(1)作者在文题下署名(而非仅在文末注明由何人整理),**作者拥有本文的著作权**。(2)文章正文为中文,正文前有言简意赅的中英文摘要。**论文性质等同于本刊"论著"**。(3)所选病例可以是疑难、罕见病例,也可以是诊断明确、但病情危重或有诸多并发症、治疗上甚为棘手的病例,亦可为其他对临床实践有指导或提示意义的病例。

本刊热忱欢迎广大专家学者为本刊撰写或推荐相关稿件。

具体格式请参考本刊近期发表的"临床病理讨论"文章。

地址: 100853 北京市复兴路28号,《中华老年多器官疾病杂志》编辑部
电话: 010-66936756
网址: www.mode301.cn
E-mail: zhlndqg@mode301.cn