

http://www.journals.zju.edu.cn/med

脑表面大体摄影评价小鼠局灶性脑缺血后 24 h 内血脑屏障通透性变化

陈丽萍^{1,2}, 徐慧敏¹, 赵 炜¹, 张世红¹, 朱朝阳¹, 张 琦¹, 余国良¹, 储利胜¹, 魏尔清¹

(1. 浙江大学医学院药理学教研室, 浙江 杭州 310031; 2. 衢州学院医学系药理学教研室, 浙江 衢州 324000)

[摘要] 目的: 建立脑表面大体摄影结合图像分析的方法, 观察小鼠局灶性脑缺血后 24 h 内血脑屏障通透性的变化。方法: 采用线栓法诱导小鼠局灶性脑缺血, 于缺血后 10、30 min 和 1、3、6、12、24 h 取脑, 用数码相机拍摄全脑及脑切片照片, 观察脑表面和切面的出血和伊文思蓝(EB)渗出, 以及血脑屏障通透性变化; 并用荧光法测定脑内 EB 含量, 以干湿重法检测脑水分含量。结果: 脑表面图像分析显示, 缺血后 3 h 开始出现明显的出血和 EB 渗出, 与脑切片的结果一致, 具有较好的相关性; 荧光法显示缺血后 30 min 缺血侧脑组织 EB 含量开始增高, 缺血后 1 h 脑水分含量开始增加。结论: 脑表面大体摄影结合图像分析, 可对局灶性脑缺血后血脑屏障通透性的变化进行半定量评价, 还发现脑缺血后早期血脑屏障的通透性就有增加。

[关键词] 脑缺血; 血脑屏障通透性; 大脑中动脉阻塞; 大体摄影法

[中图分类号] R 743. 31 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-9292(2005)06-0523-06

Photomacrography of brain surface for evaluating blood-brain barrier disruption within 24 h after focal cerebral ischemia in mice

CHEN Li-ping^{1,2}, XU Hui-min¹, ZHAO Wei¹, et al (1. Department of Pharmacology, College of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310031, China; 2. Department of Pharmacology, Medical Faculty, Quzhou College, Quzhou 324000, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a new photomacrographic analysis of morphological changes on brain surface to evaluate blood-brain barrier (BBB) disruption. **Methods:** Permanent focal cerebral ischemia was induced by middle cerebral artery occlusion (MCAO) in mice. Brains were removed 10 min, 0.5, 1, 3, 6, 12 and 24 h after MCAO. The whole brains and brain slices were photographed by a digital camera. BBB disruption was evaluated by hemorrhage and traced Evans blue (EB) on the brain surface. Fluoremetric quantitation of EB and water content in the brains were also performed at various time points. **Results:** Photomacrographic morphological analysis showed that hemorrhage and traced EB on the surface of the brains significantly increased from 3 h after focal cerebral ischemia, which were correlated to the results in the brain slices. EB content in the ischemic hemispheres was significantly increased from 0.5 h after MCAO, and water content was increased from 1 h after MCAO. **Conclusion:** Photomacrographic measurement is a simple and useful method for evaluating BBB disruption semi-quantitatively, and can detect BBB disruption earlier after focal cerebral ischemia in mice.

[Key words] Cerebral ischemia; Blood-brain barrier; Middle cerebral artery occlusion; Photomacrography

[J Zhejiang Univ (Medical Sci), 2005, 34(6): 523-528.]

收稿日期: 2004-12-07 修回日期: 2005-06-06

基金项目: 国家自然科学基金(30271498)资助项目; 浙江省自然科学基金(399090)资助项目。

作者简介: 陈丽萍(1957—), 女, 医学学士, 高级讲师。

通讯作者: 魏尔清(1952—), 男, 博士, 教授, 博导, 从事神经药理学研究工作; E-mail: weiq2001@yahoo.com

脑缺血时脑内毛细血管内皮细胞通透性增加,血浆蛋白渗出,白细胞向血管壁黏附和移位,继而基质降解、基膜破坏、细胞(如红细胞)通透性增加,导致缺血后血脑屏障(brain-blood barrier, BBB)破坏;而血管源性脑水肿和出血性转化(hemorrhagic transformation)是脑缺血早期的主要并发症和致死原因^[1,2]。因此,建立合适的方法研究脑缺血后 BBB 通透性变化,对探索脑损伤机制和治疗药物具有十分重要的意义。

评价 BBB 对血浆白蛋白的通透性增加,最常用的示踪剂是伊文思蓝(Evans blue, EB)。EB 是一种偶氮基荧光染料,可与白蛋白结合,其渗出量可反映脑血管损伤程度^[3]。评价 EB 渗出的方法很多,如 Rapoport 分级计分法^[4],该法虽然操作简便,但分级尺度较难把握,受人为因素影响较大。较精确方法的是提取 EB,进行可见光、紫外、荧光等测定,在这些方法中以荧光法最为灵敏(比可见光比色法敏感 100 倍),但操作较复杂,脑样本不能反复利用,而且不能区分渗出部位和范围;用荧光显微镜检测脑切片 EB 渗出^[5],视野小,不利于区域比较,同样也存在操作复杂,样本不能反复利用的缺点。此外,评价脑缺血后出血,目前多采用肉眼观察出血动物的百分比,也有观察有出血的脑切片数^[6],前者方便但不精确,后者操作相对复杂,两者均为定性方法。最近,有人提出一种测定单一脑片血红蛋白的定量方法^[7],但不能区分出血部位和范围,且不能反复利用脑样本。

本研究利用脑表面大体摄影,同时观察 EB 渗出和出血变化,建立一种简便、半定量评价脑缺血后 BBB 破坏的新方法,并结合经典的定量方法,验证该方法的实用性及脑缺血后 BBB 变化特点。

1 材料和方法

1.1 动物、药品及仪器 成年雄性 ICR 健康小鼠 290 只,体重 20~30 g,由浙江省医学科学院实验动物中心提供,动物合格证号:浙实动单准第 2001001。试剂均为市售分析纯产品。荧光仪为德国 BMG 公司 FLUOstar OPTIMA 413-0412;数码相机为日本富士公司 FinePix S602

Zoom。

1.2 小鼠局灶性脑缺血的诱导和生理指标的检测 小鼠事先编号,实验前按随机表分组,实验分 3 次进行,第 3 次实验按需要将各组动物补充至 20~31 只。参照 Longa 等的方法^[8,9],线栓法阻塞小鼠右侧大脑中动脉造成局灶性脑缺血。以水合氯醛(400 mg/kg, ip)麻醉小鼠后,暴露右侧颈总动脉,结扎近心端,以细尼龙线(直径 0.128 mm)从颈外动脉分叉处插至颈内动脉约 10 mm,直至遇到轻微的阻力。假手术组小鼠按相同方法手术,但不作血管结扎和阻塞。

1.3 神经症状评分 缺血 6 h 以上的小鼠,做神经症状学评分及感觉运动功能(斜板试验)测定。神经症状评分按以下标准^[10]:0:无症状;1:提尾时损伤对侧前肢不能伸直;2:向损伤侧旋转;3:向对侧倾倒;4:无自发活动及意识障碍。4 分者从实验中剔除(6 h 组剔除 1 只,12 h 组剔除 3 只,24 h 组剔除 6 只)。斜板试验测量小鼠在平板倾斜时跌落的角度(holding angle),每只小鼠重复测量 3 次取平均值。行为学及以下的形态学观察,均采用单盲法,即观察者不知实验分组。

1.4 脑表面大体摄影 小鼠处死前 1 h,从小鼠尾静脉注射 2% EB 生理盐水溶液(4 ml/kg),在缺血后 10 min、0.5、1、3、6、12、24 h,断头取脑。取脑后将脑顶面向上置于玻片,用数码相机拍摄脑顶面图像。相机固定于支架上,置于自动拍照模式,焦距为近距离摄影模式,样本两侧以日光灯照明,同时放置定标用标尺,最后,将摄取的图像存入计算机。脑表面出血和 EB 渗出均采用 4 个等级来反映严重程度。

脑表面出血分级:0=未见明显的出血灶;1=可见少量零星出血灶;2=可见散在小片状出血灶;3=可见大量片状出血灶或大片状出血灶(图 1A)。

脑表面 EB 渗出分级:0=未见明显的渗出;1=可见有少量渗出;2=可见大量渗出,但面积小于同侧大脑面积的 1/2;3=可见大量渗出,且面积大于同侧大脑面积的 1/2(图 1B)。

1.5 脑片摄影 将全脑自前额极起(取出嗅球)沿标尺用锋利刀片切成 6 片冠状切面,每片厚约 1 mm,将脑片按切片顺序排列,用数码相机

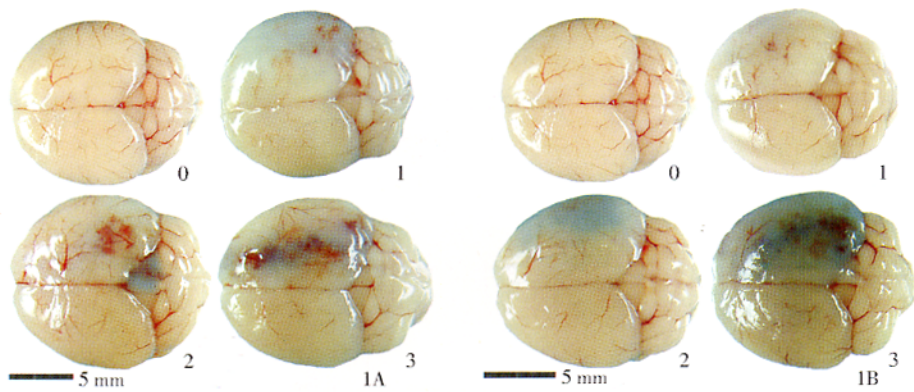


图 1 脑表面出血(1A)和EB 渗出(1B)分级(4 级)

Fig. 1 Scoring (4 grades) of hemorrhage (1A) and traced Evans blue (EB, 1B) on the brain surface

1A; 0=no visible hemorrhagic spots; 1=a sprinkle of small hemorrhagic spots; 2=scattered hemorrhagic spots in fragments; 3=a great quantity of hemorrhage spots. 1B; 0=no visible EB leakage; 1=less EB leakage; 2=deeper EB leakage but smaller than half the hemisphere area; 3=deeper EB leakage area that was larger than half the hemisphere area

机拍摄后存入计算机保存图像。观察每一脑片出血和EB 渗出(标准同上),用其总分值来反映出血和EB 渗出的严重程度。

1.6 脑含水量测定(干湿重法) 将大脑半球分为左右两侧,称湿重,在 110℃ 恒温烤箱中烤 24 h,然后测定干重,含水量百分比=(1-干重/湿重)×100%。采用右侧(缺血侧)含水量增加百分比(IRW, increase percentage of right hemisphere water content),反映脑水肿。

$$IRW = (\text{缺血侧脑含水量百分比} / \text{对侧脑含水量百分比} - 1) \times 100\%$$

1.7 脑梗死体积计算 将脑片置于 0.5%的 TTC 染色液中,于 37℃ 下水浴 30 min,用数码相机将图片摄入计算机。用本实验室自行开发和设计的软件 MedBrain—2 计算每个脑片的左右面积,通过叠加,得到左右脑半球及梗死体积的近似值。

1.8 脑内 EB 含量测定^[11] 另取一批小鼠,制作局灶性脑缺血及假手术模型,处死前 1 h,从小鼠尾静脉注射 2%EB 生理盐水溶液(4 ml/kg),处死时先在麻醉状态下用生理盐水从左心室进行心脏灌流,直至从右心房流出的液体为无色。然后,断头取脑,将大脑半球分为左右两侧,称重,置入 50%三氯乙酸溶液中,匀浆和离心(10 000 r/min, 20 min),取上清按 1:3 比

例用乙醇稀释。通过荧光分光光度计(激发波长 620 nm,发射波长 680 nm)测得荧光值。根据 EB 标准溶液(0.06~4 μg/ml),绘出线形标准曲线,计算脑组织中 EB 含量,并用每 g 组织中的含量来表示。

1.9 统计方法 行为学指标、脑含水量、脑内 EB 含量用 $\bar{x} \pm s$ 表示,分别以 *t* 检验和 one way ANOVA 分析差异的显著性;脑表面出血和渗出分级资料,用中位数和四分位数表示, Mann-Whitney *U* 检验分析差异的显著性;非参数资料相关分析采用 Spearman's correlation。统计分析采用 SPSS 10 软件, $P < 0.05$ 为差异有显著意义。

2 结 果

2.1 局灶性脑缺血后神经症状、脑含水量及梗死体积的变化 脑缺血手术对小鼠平均动脉压、血气、血糖、肛温均无明显影响。缺血组小鼠的神经症状学评分显著增高($P < 0.01$);斜板试验角度显著降低($P < 0.01$);缺血侧的脑含水量在缺血后 1 h 开始显著增加($P < 0.01$),在 24 h 内随着缺血时间延长而加重;梗死体积在缺血后 6 h 和 24 h 均显著增加(表 1)。

2.2 局灶性脑缺血后血脑屏障通透性的变化 脑表面摄影显示,缺血后 3 h 开始,脑表面出

表 1 小鼠脑缺血后不同时间的神经症状和脑含水量及梗死体积的变化

Table 1 Neurological scores, brain water contents and infarct volumes at different times after focal cerebral ischemia in mice ($\bar{x}\pm s$)

Treatment	Neurological scores	Holding angle (°)	IRW (%)	Infarct volume (mm ³)
Sham operation (24 h)	0.00±0.00(27)	65.4±3.11(27)	0.44±0.20(10)	0.00±0.00(13)
After ischemia 10 min	/	/	0.18±0.21(10)	/
30 min	/	/	0.68±0.31(10)	/
1 h	/	/	1.13±0.22(10)**	/
3 h	/	/	1.50±0.31(10)**	/
6 h	2.35±0.71(31)**	46.6±10.2(31)**	3.10±0.16(10)**	95.9±35.4(10)**
12 h	1.90±0.72(20)**	49.4±8.92(20)**	4.39±0.60(14)**	/
24 h	2.14±0.79(29)**	45.8±9.79(29)**	5.63±0.70(11)**	128.7±57.5(10)

** $P<0.01$, compared with sham operation. IRW: increase percentage of right hemisphere water content. Numbers (10~31) in the parentheses are the numbers of mice

血和 EB 渗出明显增加;脑切面摄影显示,脑缺血后 3 h 开始,脑 EB 渗出明显增加,缺血后 6 h 开始脑出血明显增加。出血灶主要分布在缺血区周围。荧光法测定脑内 EB 含量显示,缺血后 0.5 h 开始,缺血侧脑组织 EB 含量明显增高(表 2)。

表 2 不同方法测量小鼠局灶性脑缺血后血脑屏障通透性的变化

Table 2 Permeability changes of the blood-brain barrier measured by different methods after cerebral ischemia in mice

Group	n	Brain surface score		Brain slice score		n	Evans blue(μg/g tissue)	
		Hemorrhage	Evans blue leakage	Hemorrhage	Evans blue leakage		Contralateral hemisphere	Ipsilateral hemisphere
Sham	26	0(0~0)	0(0~0)	0(0~0)	0(0~0)	17	0.192±0.551	0.199±0.567
After ischemia								
10 min	16	0(0~0)	0(0~0)	0(0~1)	0(0~0)	11	0.633±0.753	2.378±1.913
0.5 h	17	0(0~0)	0(0~0)	0(0~0)	0(0~0)	13	0.361±0.697	4.144±2.521*
1 h	19	0(0~0)	0(0~0)	0(0~0)	0(0~0)	11	0.486±0.681	3.950±1.475*
3 h	18	0(0~1)**	0(0~1)**	0(0~0)	0(0~1)*	14	0.166±0.421	3.745±1.867*
6 h	31	1(1~2)**	1(1~2)**	4(4~5)**	0(0~3)**	10	0.294±0.645	5.582±2.957*
12 h	24	1(0~1)**	0(0~2)**	2(0~5)**	3(0~4)**	12	0.399±0.734	5.681±2.260*
24 h	29	1(0~2)**	1(0.5~2)**	4(1~6)**	3(1~5)**	11	0.472±0.665	4.116±1.987

Data are reported as median and quartile range (25%~75%, brain surface and slice scores) or $\bar{x}\pm s$ (Evans blue measurement); n=numbers of mice. * $P<0.05$, ** $P<0.01$, compared with sham operation, Mann-Whitney U test or t test

相关性分析 无论脑表面还是脑切面摄影观察,脑出血和 EB 渗出均有显著相关性($r_s=0.711$ 和 $0.769, n=181, P<0.01$, Spearman's correlation);而对于脑出血和 EB 渗出的评价,脑表面和脑切片摄影观察这两种方法间也均有较好的相关性($r_s=0.810$ 和 $0.736, n=181, P<0.01$)。脑表面出血及 EB 渗出,与神经症状学评分($r_s=0.402$ 和 0.382)及斜板试验($r_s=-0.336$ 和 -0.374)均有较弱的相关性 ($n=107, P<0.01$);与脑含水量增加百分比($r_s=0.534$ 和 $0.520, n=80$)及梗死体积($r_s=0.479$ 和 $0.557, n=27$)也有较好的相关性 ($P<0.01$)。

3 讨 论

本实验建立的数码相机脑表面大体摄影结合图像分析的方法,可以半定量反映脑缺血后血脑屏障通透性的变化。其优点是:操作简便,

图像可保存,样本拍摄后还可用于其他病理、生化等指标的观察,可以在较少的样本获得更多的信息。除了观察脑表面出血、变色,脑表面摄影结合其他图像分析软件,还可测量脑表面积,评价脑缺血后的脑水肿^[12,13]。大体摄影法(photomacrography)是随着数码相机及图像分析技术的发展,而日益受到重视的形态学技术,可以观察较大范围的区域变化,是常用的显微摄影法(photomicrography)的一种补充^[13,14]。

我们采用大体观察脑表面EB渗出范围为指标,评价缺血后BBB通透性增加导致的血浆蛋白渗出,是经典方法的一种改良。Rapoport计分法分4个等级评价EB渗出,0分:无蓝染;1+:局部染色或淡染;2+:中度蓝染;3+:广泛的、暗蓝色^[4],虽有染色深浅的范围的描述,但分级较难把握,受主观影响较大。而EB定量测定存在不能区分变化区域;EB荧光显微镜检查则仅能看到小范围变化,且需要切片等复杂过程。观察脑表面EB渗出,可以显示BBB通透性改变的区域。我们在分级时主要采用渗出范围作为指标,蓝染范围比颜色深浅更容易确定并能更反映渗出的严重程度;在确定分级上,采用脑表面积的1/2作为界线,相对比较客观和容易掌握,受人为因素的影响较小。

缺血后脑血管基膜破坏导致对红细胞的通透性增加,引起梗塞区的出血性转化,据估计,约有30%~40%的缺血性脑卒中患者有自发性出血,这种并发症在溶栓治疗时更加显著^[2]。出血可能是瘀点,也可能是融合的^[1]。相对于只能在显微镜下或一个脑切面上观察瘀点状出血来说,大体观察出血更有临床意义^[15]。以往对全脑表面出血的观察,只判断有或无,没有进行分级,不够精确^[16]。我们建立的脑表面摄影可以客观记录、保存数据;不需要前处理;可以分级来作半定量分析;还可判断区域变化特点,本实验发现出血主要集中在缺血灶的周边(相当于半暗区)。

本实验发现脑表面出血和EB渗出与脑切面观察到的结果一致,这两种方法的相关性较好,且脑表面观察的出血比从切面观察更为敏感(缺血后,脑表面观察3 h后,切面观察6 h后有明显出血);脑表面观察EB渗出虽然没有荧

光法敏感(缺血后,脑表面观察3 h,荧光法0.5 h后有EB渗出增加),但两者的趋势一致;我们也发现,脑表面观察到的出血和EB渗出与脑水肿、脑梗死体积均有较好的相关性,与神经功能的相关性较弱(可能因为动物个体差异大),提示有可能作为评价脑损伤的指标之一。此外,本实验提示在脑缺血早期BBB就有破坏,由此引发血管源性脑水肿及出血性转化等并发症,早期使用降低BBB通透性的药物对脑保护有较大治疗意义。本方法是本实验室应用脑水肿^[12,17]、脑片活性^[18,19]、脑梗死面积分析^[20,21]等基础上,研制的计算机辅助图像分析的又一实用技术,为脑病理形态研究进一步提供了客观、定量或半定量的手段。

脑表面大体摄影在大范围观察脑损伤区域变化,用数码相机可方便地保存脑图像,又可同时客观观察和半定量分析出血和EB渗出,并可重复利用脑样本。但是,目前还不能对病变准确地进行定量,敏感性仍有待提高。

References:

- [1] DEL ZOPPO G J, HALLENBECK J M. Advances in the vascular pathophysiology of ischemic stroke [J]. *Thromb Res*, 2000, 98(3): 73—81.
- [2] WANG X, LO E H. Triggers and mediators of hemorrhagic transformation in cerebral ischemia [J]. *Mol Neurobiol*, 2003, 28(3): 229—244.
- [3] ITO U, KUROIWA T, HANYU S, et al. Temporal profile of experimental ischemic edema after threshold amount of insult to induce infarction—ultrastructure, gravimetry and Evans blue extravasation [J]. *Acta Neurochir*, 2003, 86(Suppl): 131—135.
- [4] RAPOPORT S I, FREDERICKS W R, OHNO K, et al. Quantitative aspects of reversible osmotic opening of the blood-brain barrier [J]. *Am J Physiol*, 1980, 238(5): R421—431.
- [5] ABRAHAM C S, HARADA N, DELI M A, NIWA M. Transient forebrain ischemia increases the blood-brain barrier permeability for albumin in stroke-prone spontaneously hypertensive rats [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2002, 22(4): 455—462.
- [6] FAGAN S C, BOWES M P, LYDEN P D, et al. Acute hypertension promotes hemorrhagic transformation in a rabbit embolic stroke model; effect of labetalol [J]. *Exp Neurol*, 1998, 150(1): 153—158.
- [7] HILALI H M, SIMPKINS A N, HILL W D, et al. Single slice method for quantification of hemorrhagic

transformation using direct ELISA [J]. **Neurol Res**, 2004,26(1):93—98.

[8] LONGA E Z, WEINSTEIN P R, CARLSON S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniotomy in rats [J]. **Stroke**, 1989,20(1):84—91.

[9] MAO Y, YANG G Y, ZHOU L F, et al. Focal cerebral ishchemia in the mouse; Description of a model and effects o f permanent and temporary occlusion [J]. **Brain Res Mol Brain Res**, 1999,63(2):366—370.

[10] BEDERSON J B, PITTS L H, TSUJI M, et al. Rat middle cerebral artery occlusion; Evaluation of the model and development of a neurologic examination [J]. **Stroke**, 1986,17(3):472—476.

[11] BELAYEV L, BUSTO R, ZHAO W, et al. Quantitative evaluation of blood-brain barrier permeability following middle cerebral artery occlusion in rats [J]. **Brain Res**, 1996,739(1-2):88—96.

[12] XU H M, WEI E Q, ZHANG S H, et al(徐慧敏,魏尔清,张世红,等). Macrophotographic measurement of brain surface area for evaluating brain edema after focal cerebral ischemia in mice [J]. **Journal of Zhejiang University: Medical Sciences** (浙江大学学报:医学版), 2003,32(6):492—496.

[13] GE Q F, WEI E Q, PENG G P, et al(葛求富,魏尔清,彭国平,等). An improved quantitative method for evaluation of ischemic injury and neuroprotection in mouse brain slices [J]. **Journal of Zhejiang University: Medical Sciences** (浙江大学学报:医学版), 2003,32(6):486—491. (in Chinese)

[14] TOKUNO H, HATANAKAN, CHIKEN S. Fluorescence digital photomicrography [J]. **J Neurosci Methods**, 2003,125(1-2):7—11.

[15] ZHANG R L, ZHANG L, JIANG Q, et al. Postischemic intracarotid treatment with tnk-tpa reduces infarct volume and improves neurological deficits in embolic stroke in the unanesthetized rat [J]. **Brain Res**, 2000,

878(1-2):64—71.

[16] ZHANG R L, CHOPP M, ZHANG Z G, et al. Early (1 h) administration of tissue plasminogen activator reduces infarct volume without increasing hemorrhagic transformation after focal cerebral embolization in rats [J]. **J Neurol Sci**, 1998,160(1):1—8.

[17] LIANG Z H, Wei E Q, Zhu C Y, et al (梁泽华,魏尔清,朱朝阳,等). An improved imaging analysis for quantitatively measuring brain slice volume [J]. **Journal of Zhejiang University: Medical Sciences** (浙江大学学报:医学版), 2003,32(6):497—501.

[18] YU G L, WEI E Q, HE W (余国良,魏尔清,何巍). A quantitative method for evaluating brain injury and neuroprotective drugs in brain slices of mice [J]. **Journal of Zhejiang University: Medical Sciences** (浙江大学学报:医学版), 2002,31(2):86—90.

[19] HE W, WEI E Q, WUANG M L, et al(何巍,魏尔清,王梦令,等). Protective effect of minocycline on oxygen/glucose deprivation and NMDA-induced neurotoxicity in rat primary neurons and hippocampal slices [J]. **Journal of Zhejiang University: Medical Sciences** (浙江大学学报:医学版), 2004,33(3):219—224. (in Chinese)

[20] ZHANG W P, WEI E Q, ZHU C Y, et al(张纬萍,魏尔清,朱朝阳,等). Quantitative analysis foor evaluating facal brain ischemia in rats. **Journal of Zhejiang University: Medical Sciences** (浙江大学学报:医学版), 2002,31(2):72—76.

[21] YU Y P, XU Q Q, ZHENG M Z, et al (俞月萍,徐秋琴,郑鸣之,等). Light transmission measurement of focal ischemic cerebral infarction in mice [J]. **Journal of Zhejiang University: Medical Sciences** (浙江大学学报:医学版), 2002,31(2):91—93.

[责任编辑 黄晓花]

(上接第 505 页)

References:

[1] WOLF M, SANDLER L, MUNOZ K, et al. First trimester insulin resistance and subsequent preeclampsia;a prospective study [J]. **J Clin Endocrinol Metab**, 2002,87(4),1 563—1 568.

[2] SHARMA A, HALDIYA S. Insulin sensitivity in preeclampsia [J]. **J Assoc Physicians India**, 2002, 50: 1 022—1 027.

[3] BARTHA J, ROMERO-CARMONA R, TORREJON-CARDOSO R, et al. Insulin, insulin-like growth factor -1, and insulin resistance in women with pregnancy

-induced hypertension [J]. **Am J Obstet Gynecol**, 2002, 187(3):735—740.

[4] STEPPAN C M, BAILEY S T, BHAT S, et al. The hormone Resistin links obesity to diabetes [J]. **Nature**, 2001,409(6818):307—312.

[5] YURA S, SAGAWA N, ITOH H, et al. Resistin is expressed in the human placenta [J]. **J Clin Endocrinol Metab**, 2003,88(3):1 394—1 397.

[6] KAAJA R, LAIVUORI H, LAAKSO M et al. Evidence of a state of increased insulin resistance in preeclampsia [J]. **Metab Clin Exp**, 1999,48(7):892—896.

[责任编辑 张荣连]