文章编号:1000-5404(2010)19-2075-05

论著

维生素 A 缺乏对大鼠肾脏 ABCA1 介导的脂质外流途径的影响

阳海平[1],陈 科[2],张 萱[2],王 莉[3],李翠萃[3],王莉佳[3],李 秋[1] (400014 重庆,重庆医科大学附属儿童医院:肾脏免疫科[1],营养研究室[2],免疫研究室[3])

【摘要】 目的 探讨维生素 A 缺乏(vitaminA deficiency,VAD)大鼠模型肾脏脂质代谢状况及相关分子机制。方法 从孕期开始,给予 Wistar 大鼠正常饮食(正常对照组,维生素 A 含量为 4000 IU/kg 的饲料),VAD 饮食(VAD 组,维生素 A 含量为 400 IU/kg 的饲料),持续至 8 周后 VAD 组继续补充维生素 A (VAS 组,维生素 A 含量为 6500 IU/kg 的饲料) 15 d,每组 6 只。免疫组化分析肾脏载脂蛋白 B100 (Apo-B100)、三磷酸腺苷结合盒转运体 A1(adenosine triphosphate binding cassette A1,ABCA1)表达,Real-time PCR 技术检测肾脏 ABCA1、过氧化物酶体增殖物激活受体 α(PPARα)、肝 X 受体 α(LXRα)、视黄醇 X 受体 α/β (RXRα/β) mRNA 水平。结果 免疫组化分析,第 8 周 VAD 组肾脏 Apo-B100 水平(14.27 ± 0.05)明显高于正常对照组(8.25 ± 0.49)($P < 0.05$);与第 8 周正常对照组(37.44 ± 0.46)比较,VAD 组肾脏 ABCA1 表达(24.53 ± 0.86)降低($P < 0.05$)。Real-time PCR 检测,与正常组比较,第 8 周 VAD 组肾脏 ABCA1 表达上调,VAD 组 RXRα/β、LXRα mRNA 水平降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),而 PPARα mRNA 水平无明显改变($P > 0.05$);以上改变随维生素 A 补充即恢复至正常水平。结论 VAD 可致 PPARα/RXRs-LXRα/RXRs-ABCA1 介导的脂质外流途径受损而导致大鼠肾脏脂质沉积增多,但及时补充维生素 A 能有效使肾脏脂质代谢恢复正常。

【关键词】 维生素 A 缺乏;三磷酸腺苷结合盒转运体 A1;脂质代谢;肾脏;大鼠
【中图法分类号】 R591.41;R322.61;R589.2 【文献标志码】 A

Effect of vitamin A deficiency on ABCA1-mediated lipid efflux pathway in rat kidneys

Yang Haiping[1], Chen Ke[2], Zhang Xuan[2], Wang Li[3], Li Cuicui[3], Wang Lijia[3], Li Qiu[1] ([1]Department of Renal Immunology, [2]Department of Nutrition Nuritional Research Laboratory, [3]Department of Nutrition Immunology, Children's Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 400014, China)

【Abstract】 Objective To study the effect of vitamin A deficiency (VAD) on lipid metabolism in a rat kidney model and its related molecular mechanism. Methods Wistar rats were divided into normal control group ($n = 6$), VAD group ($n = 6$), and vitamin A supplement (VAS) group ($n = 6$). Rats in normal control group were fed with a diet containing 4 000 IU/kg of vitamin A, rats in VAD group were fed with a diet containing 400 IU/kg of vitamin A, and rats in VAS group were fed with a diet containing 400 IU/kg of vitamin A for 8 weeks followed by a diet containing 6 500 IU/kg of vitamin A for 15 d. Apolipoprotein B100 (Apo-B100) was analyzed with immunohistochemistry. Expression levels of adenosine triphosphate (ATP) binding cassette A1 (ABCA1) in kidneys, peroxime proliferator activated receptor α (PPARα), liver X receptor α (LXRα), and retinoid X receptor-α/β (RXRα/β) mRNA were measured by real-time PCR. Results Immunohistochemistry analysis showed that the Apo-B100 expression level was significantly higher in VAD group than in normal control group (14.27 ± 0.05 *vs* 8.25 ± 0.49, $P < 0.05$) while expression level of ABCA1 was significantly lower in VAD group than in normal control group 8 weeks after treatment with vitamin A (24.53 ± 0.86 *vs* 37.44 ± 0.46, $P < 0.05$). Real-time PCR showed that the expression level of ABCA1 was higher and the expression level of LXRα, RXRα/β mRNA was lower in VAD group than in normal control group ($P < 0.05$). No difference was found in expression of ABCA1 and LXRα, RXRα/β mRNA between the two groups. The above changes returned to their normal level after treatment with vitamin A. Conclusion VAD can lead to ABCA1-

【基金项目】 重庆市科委重点项目(CSTC2009BA5080);重庆市卫生局重点项目(2009-1-34)
【通信作者】 李 秋,E-mail:liqiu809@126.com

mediated lipid efflux pathway injury of PPARα/RXRs-LXRα/RXRs, resulting in lipid accumulation in rat kidneys, which would return to its normal level after treatment with vitamin A.

【Key words】 Vitamin A deficiency; adenosine triphosphate binding cassette A1; lipid metabolism; kidney; rat

Supported by the Key Program of Natural Science Foundation of Chongqing Science and Technology Commission (CSTC2009BA5080) and the Key Program of Medical Science Foundation of Chongqing Municipal Health Bureau (2009-1-34). Corresponding author: Li Qiu, E-mail: liqiu809@126.com

维生素A及其衍生物在胚胎形成、细胞分化、增殖及凋亡等众多方面发挥重要作用[1-3]。近年研究表明其在能量代谢、脂肪细胞分化及脂质代谢方面也起到重要作用[4-6]。维生素A的生物学效应主要通过其在体内的代谢产物视黄酸(retinoic acid,RA),与其特异性的受体—视黄酸受体(retinoic acid receptors,RARs)和视黄酸X受体(RXRs)结合。研究表明RXRs作为一系列核受体包括参与脂质代谢过程的过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferator-activated receptors,PPARs)、肝X受体(liver X receptors,LXRs)、法尼酯X受体(FXRs)等的配偶体,通过与其结合形成异二聚体发挥一系列生物学效应[7]。维生素A缺乏(vitaminA deficiency,VAD)必然影响其体内代谢及代谢产物的形成。本研究旨在探讨大鼠VAD对肾脏脂质代谢的影响及其相关的分子机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物模型的建立与实验设计

成年Wistar雌性大鼠20只,由第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心提供,SPF级环境中饲养,亮/暗周期保持在7:00/19:00,室温22~24 ℃,湿度50%~70%,自由进食和饮水。先将成年大鼠分为正常对照组(12只,予正常饮食:每千克饲料中含6500 IU视黄醇)和VAD组(12只,予VAD饮食:每千克饲料中含400 IU视黄醇),饲养3周;通过受孕分别产生76、71只幼鼠,简单随机抽样法选取产下的幼鼠,分别对应予正常饮食(每千克饲料中含4000 IU视黄醇)和VAD饮食,持续至8周后简单随机抽样选取1组VAD组予补充维生素A饮食(维生素A补充组,即VAS组,每千克饲料中含6500 IU视黄醇)喂养15 d,分别于第2、4、8周及第71天观察幼鼠肾脏脂质代谢状况,每组、每个观察时间点观察6只。正常及VAD饮食以AIN-76号配方为基础结合既往相关研究改良[8]。

1.2 主要试剂与仪器

羊抗大鼠的载脂蛋白B100(Apo-B100)多克隆抗体(SC12332,Santa Cruz, USA),兔抗大鼠三磷酸腺苷结合盒转运体A1(adenosine triphosphate binding cassette A1,ABCA1)多克隆抗体(NB-400-105, Novus, USA),免疫组化二步法检测试剂盒(PV-6001,PV6002,北京中山公司),核酸提取试剂盒(R6311-01,Genemega,USA),逆转录试剂盒(DRR037S,TaKaRa公司),SYBR Green Ⅰ荧光染料(DRR081A, TaKaRa公司), Real-time PCR用ABI Prism 7500 thermocycler (Applied Biosystems),高效液相色谱柱(安捷伦,TC-C18, 150 mm×4.6 mm×5 mm,USA)。

1.3 标本的采集和保存

1.3.1 血清 分别于第2、4、8周第71天,以10%水合氯醛腹腔注射麻醉大鼠后,心脏采血,分离血清,分装后于-20 ℃保存。

1.3.2 组织 采血后用冷生理盐水30~40 ml原位灌洗肾脏,至双侧肾脏发白,取下双肾,剥离肾包膜,肾上极1/3置于10%中性甲醛中固定24 h,经梯度酒精脱水、二甲苯透明、浸蜡后,石蜡包埋;肾中段1/3肾组织分离肾髓质后,肾皮质立即放入液氮中保存;肾下极1/3肾组织分离肾髓质后,在避光下,肾皮质用0.9%生理盐水制成5%的匀浆,4 ℃,2500 r/min离心15 min,收集上清,-20 ℃保存备用。

1.4 血清及肾脏组织维生素A的检测

取血0.5~1.0 ml,静置后,3000 r/min离心,收集200 μl血清;取组织匀浆上清100 μl,先加100 μl饱和硫酸铵,再依次加入无水乙醇、正己烷提取维生素A,氮气吹干,流动相(甲醇:水,97:3)溶解后,用Waters高效液相色谱仪(746积分仪、501泵、440紫外线检测仪)检测维生素A浓度。检测波长315 nm,流速1.4 ml/min,保留时间4 min。所有操作避免在强光下进行。

1.5 免疫组化分析肾脏Apo-B100和ABCA1

肾组织石蜡切片3 μm厚,常规脱蜡至水。3% H_2O_2室温处理10 min,灭活内源性过氧化物酶,蒸馏水洗3次。将切片浸入0.01 mol/L枸橼酸盐缓冲液(pH 6.0),微波加热至沸腾后,间隔10 min,重复1次以修复抗原;分别滴加1:200稀释的兔抗大鼠ABCA1多克隆抗体,和1:200稀释羊抗大鼠Apo-B100多克隆抗体;4 ℃孵育过夜;分别滴加辣根过氧化物酶标记的抗兔和抗羊多聚体,37 ℃孵育30 min,各步骤间均用PBS(pH 7.2)洗3次。最后用DAB显色,显微镜下观察,适时终止,自来水充分冲洗,苏木精复染后脱水、透明、封片。采用PBS代替Apo-B100,ABCA抗体作为阴性对照,光镜下观察染色结果,阳性表达呈棕褐色;同时用积分光密度值(IOD,阳性面积×平均光密度值)半定量分析Apo-B100、ABCA1的表达水平,棕色面积为阳性区域,用IPP软件自动分析计算IOD。

1.6 Real-time PCR检测肾脏RXRα/β、LXRα、ABCA1、PPARα mRNA的表达

Real-time PCR引物由上海英骏生物公司合成。取液氮冻存肾脏50~100 mg,用Genemega核酸提取试剂盒提取总RNA(具体步骤参见试剂说明书)。取2 μl总RNA逆转录成20 μl DNA。扩增目的基因和管家基因(反应参数:93 ℃ 2 min,93 ℃ 5 s,60 ℃ 20 s,72 ℃ 20 s,40个循环),其产物梯度稀释,用于标准曲线绘制及优化反应条件。按照SYBR Green Ⅰ试剂盒说明书进行荧光定量扩增目的基因和管家基因(扩增条件:95 ℃ 30 s,95 ℃ 5 s,延伸15 s,72 ℃ 20 s,共40个循环)。相对表达

水平用公式 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算，ΔΔCt =（实验组 $Ct_{目的基因}$ - 实验组 $Ct_{管家基因}$）-（对照组 $Ct_{目的基因}$ - 对照组 $Ct_{管家基因}$）。

Real-time PCR 引物由上海英骏生物公司合成。LXR-α 上游 5′-GACCAGCTCCAAGTAGAGAGACTGC-3′，下游 5′-TCATTAGCATCCGTGGGAACATC-3′，产物长度为 109 bp；RXR-β 上游：5′-TCATACTGTTTAACCCAGACGCC-3′，下游：5′-GCTGCTCAGGATACTTCTGCTTG-3′，产物长度为 136 bp；RXR-α 上游：5′-TCATACTGTTTAACCCAGACGCC-3′，下游：5′-CTTGTTGTCACGGCAGGTGTAGG-3′，产物长度为 117 bp；PPAR-α 上游 5′-TTTCCACAAGTGCCTGTCCGTC-3′，下游 5′-CTTCAGGTAGGCTTCGTGGATTCC-3′，产物长度为 1178 bp；ABCA1 上游：5′-AGGAAACCCAATCCCAAACACTC-3′，下游：5′-GAGGACACACAGGCAGCATCTTC-3′，产物长度为 176 bp；β-actin 上游：5′-CCGTAAAGACCTCTATGCCAACA-3′，下游：5′-CTAGGAGCCAGGGCAGTAATCTC-3′，产物长度为 115 bp。

1.7　统计学分析

采用 SPSS 16.0 统计软件，计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，多组资料间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用 LSD 法。

2　结果

2.1　血清及肾脏组织维生素 A 水平

成年雌性大鼠经过 3 周实验前期饲养后，正常组维生素 A 水平（1.24 ± 0.10）μmol/L 明显高于 VAD 组（0.72 ± 0.03）μmol/L（$P < 0.01$）；血清、肾脏组织维生素 A 水平在第 2、4、8 周时，VAD 组明显低于正常组（$P < 0.01$）；第 8 周，VAS 组明显高于 VAD 组（$P < 0.01$），而与正常组比较无明显差别（$P > 0.05$，表 1）。

表 1　不同时间各组间血清及肾脏组织维生素 A 水平（$n = 6$，$\bar{x} \pm s$）

组别	血清（μmol/L）			肾脏组织（nmol/g）		
	2 周	4 周	8 周	2 周	4 周	8 周
正常组	1.21 ± 0.09	1.32 ± 0.12	1.28 ± 0.11	1.76 ± 0.14	1.84 ± 0.21	1.97 ± 0.24
VAD 组	0.62 ± 0.11[a]	0.56 ± 0.12[a]	0.39 ± 0.07[ab]	1.02 ± 0.21[a]	0.93 ± 0.16[a]	0.87 ± 0.15[ab]
VAS 组	-	-	1.04 ± 0.16	-	-	1.57 ± 0.19

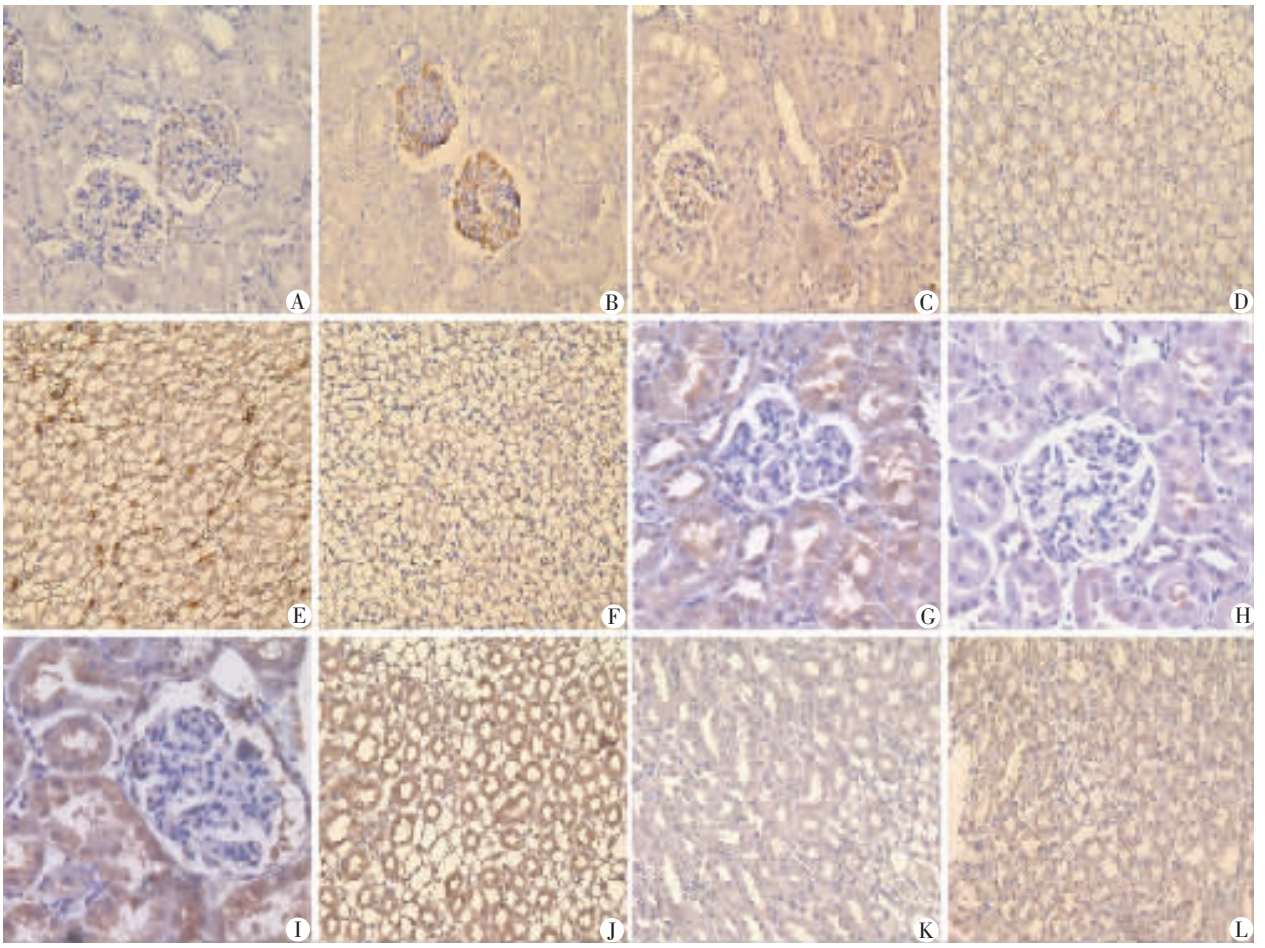
a：$P < 0.01$，与正常组比较；b：$P < 0.01$，与 VAS 组比较

2.2　肾脏 Apo-B100 的定位与表达

第 8 周时 VAD 组 Apo-B100 在肾小球和肾小管均有沉积，而正常组及 VAS 组 Apo-B100 未见明显沉积（图 1A ~ F）。进一步半定量分析，Apo-B100 在第 2、4 周时，VAD 组与正常组比较，表达水平无明显差别（$P > 0.05$）；但在第 8 周时，VAD 组明显高于正常组及 VAS 组（$P < 0.05$，图 2A）。

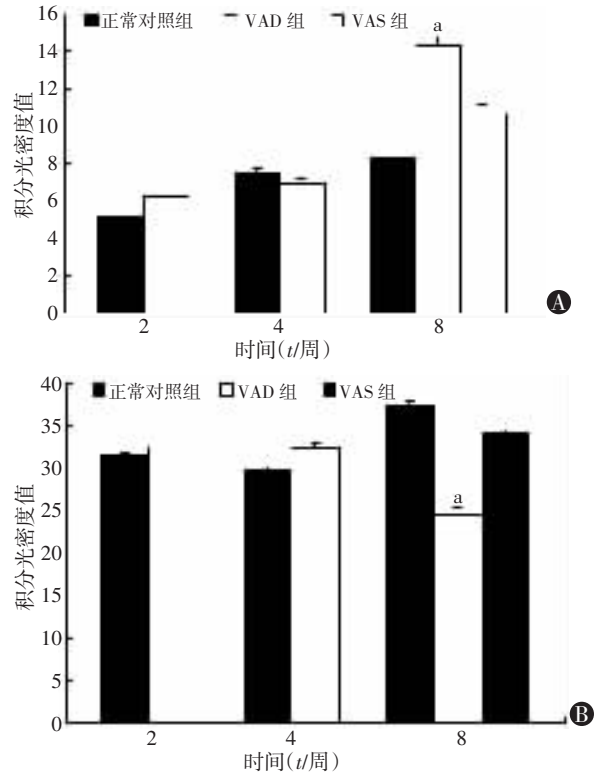
2.3　肾脏 ABCA1 的定位与表达

ABCA1 主要在肾小管表达（图 1G ~ L）。第 8 周 VAD 组 ABCA1 表达明显减少，而正常组及 VAS 组表达明显增多（$P < 0.05$，图 2B）。



A ~ F：Apo-B100；G ~ L：ABCA1；A、D、G、J：正常组；B、E、H、K：VAD 组；C、F、I、L：VAS 组；A、B、D、E、G、H、J、K：第 8 周；C、F、I、L：第 71 天

图 1　免疫组化染色检测肾组织内 Apo-B100 及 ABCA1 的定位及表达



A:Apo-B100;B:ABCA1;a:$P<0.05$,与正常组及VAS组比较

图2 免疫组化半定量分析各组Apo-B100和ABCA1的表达

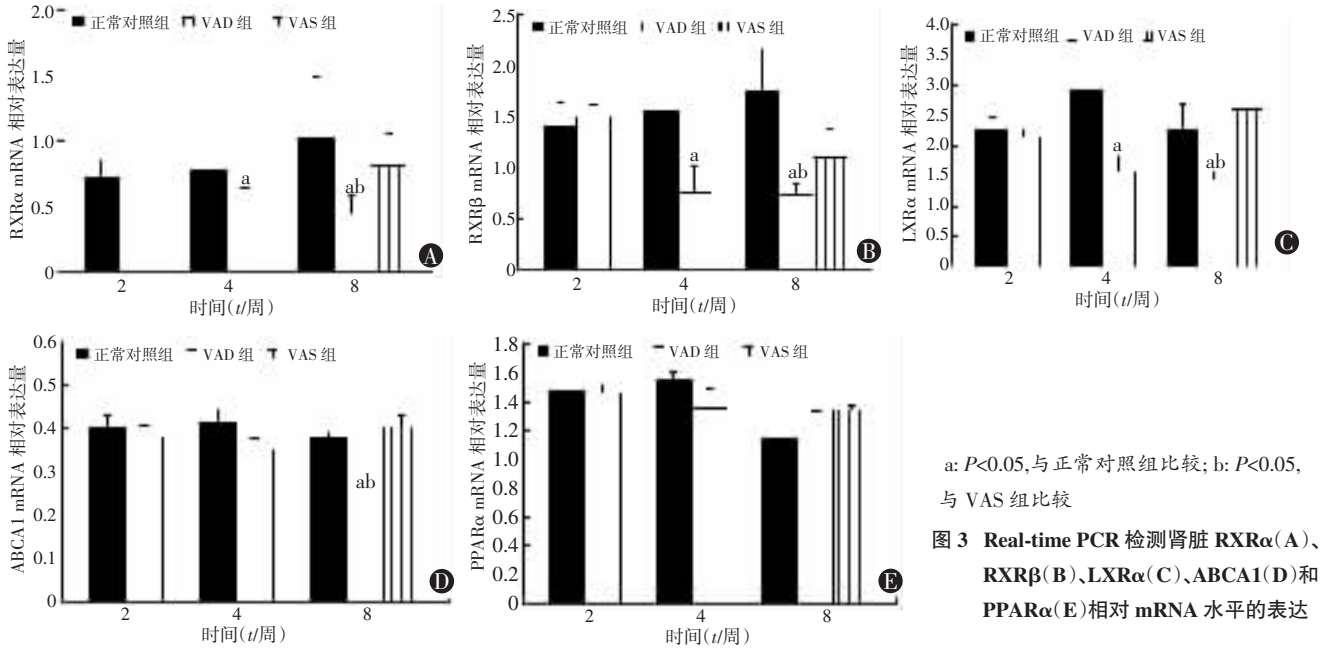
2.4 肾脏ABCA1、PPARα、LXRα、RXRα、RXRβ mRNA的表达

如图3所示,在第4、8周时,VAD组肾脏LXRα、RXRα、RXRβ mRNA表达水平明显较正常组及VAS组下调($P<0.05$)。同时,ABCA1 mRNA水平与上述免疫组化分析结果相符,即第8周VAD组表达水平明显低于正常组($P<0.05$)。但3组PPARα mRNA表达水平在第2、4周及8周均无明显差异($P>0.05$)。第8周VAS组与正常组比较,LXRα、RXRα/β、ABCA1 mRNA水平无明显差异($P>0.05$)。

3 讨论

1982年Moorhead等[9]首先提出脂质肾毒性学说,此后大量研究[10,11]也证实脂质代谢紊乱能够诱发、加重或加速肾脏疾病发生、发展,促使其进展至终末期肾病。同时有研究表明肾脏固有细胞能模拟血管壁细胞在动脉粥样硬化发生、发展过程中的特点而在肾脏脂质沉积、血管硬化发生中起作用[12],因此任何可致动脉粥样硬化的因素均可以致肾脏损伤。近年研究发现在维生素A缺乏大鼠模型中,尽管其血总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白(HDL)水平降低,但其在肝脏、心脏及血管脂质沉积反而增多[5-7]。本研究进一步探讨了VAD大鼠肾脏脂质代谢状况。发现VAD大鼠肾脏Apo-B100沉积增多,而Apo-B100是由致动脉粥样硬化脂蛋白主要包括极低密度脂蛋白(VLDL)、低密度脂蛋白(LDL)、中密度脂蛋白(IDL)构成的载脂蛋白。同时研究表明Apo-B100在预测动脉粥样硬化发生时优于LDL[13]。本研究证实VAD可致大鼠肾脏脂质代谢紊乱,致动脉粥样硬化相关脂蛋白沉积增多。

既往研究发现巨噬细胞、肾脏系膜细胞等细胞中,PPARα/RXRs-LXRα/RXRs-ABCA1通路在介导脂质外流中起着至关重要的作用[14,15];而PPARα/RXRs及LXRα/RXRs作为可允许性二聚体,其不仅可以被PPARα及LXRα激动剂激活,同时可以被RXR激动剂激活[7],从而也可以诱导ABCA1表达上调,促进脂质外流。本研究发现在维生素A缺乏条件下,尽管大鼠肾脏PPARα mRNA表达水平无明显改变,但是LXRα、



a: $P<0.05$,与正常对照组比较; b: $P<0.05$,与VAS组比较

图3 Real-time PCR检测肾脏RXRα(A)、RXRβ(B)、LXRα(C)、ABCA1(D)和PPARα(E)相对mRNA水平的表达

RXRα/β mRNA 下调，故 PPARα/RXRs-LXRα/RXRs 信号通路必然受损。本研究进一步发现在 VAD 大鼠肾脏 ABCA1 表达水平降低，这可能正是本研究发现肾脏 Apo-B100 沉积增多的重要原因；同时这也可能是既往研究发现的为什么维生素 A 缺乏的大鼠，虽然其血脂水平降低，但是肝脏、心脏及血管中反而沉积增多及发生脂质代谢紊乱的原因。此外本研究还发现，在 VAD 情况下，及时补充维生素 A 可以纠正已发生的肾脏脂质代谢紊乱。

新近研究发现，肾脏体积减少可导致残余肾脂质代谢紊乱及脂质沉积增多[16]，维生素 A 缺乏可致大鼠肾脏肾单位减少[17]。除上述本研究发现的脂质代谢外流通路受损外，维生素 A 缺乏可能还可以通过致肾单位减少或发育不良，进而致脂质代谢紊乱及脂质沉积，但是其具体发生机制尚待进一步研究。

志谢 感谢重庆医科大学附属儿童医院李廷玉教授，以及组织病理研究室张晓萍老师予以的帮助及支持

参考文献：

[1] Ross S A, McCaffery P J, Drager U C, *et al*. Retinoids in embryonal development[J]. Physiol Rev, 2000, 80(3): 1021 - 1054.

[2] 江伟，瞿平，陈科，等. 多种营养素佐治新生儿肺炎疗效影响因素的多元分析[J]. 重庆医科大学学报，2008，30(6)：450 - 453.

[3] 刘星，李廷玉，张德文，等. 孕期和生后维生素 A 缺乏及干预对幼鼠胫骨生长的影响[J]. 第三军医大学学报，2006，28(24)：2437 - 2439.

[4] Vega V A, Anzulovich A C, Varas S M, *et al*. Effect of nutritional vitamin A deficiency on lipid metabolism in the rat heart: Its relation to PPAR gene expression[J]. Nutrition, 2009, 25(7/8): 828 - 838.

[5] Oliveros L B, Domeniconi M A, Vega V A, *et al*. Vitamin A deficiency modifies lipid metabolism in rat liver[J]. Br J Nutr, 2009, 97(2): 263 - 272.

[6] Gatica L V, Vega V A, Zirulnik F, *et al*. Alterations in the lipid metabolism of rat aorta: effects of vitamin A deficiency[J]. J Vasc Res, 2006, 43(6): 602 - 610.

[7] Shulman A I, Mangelsdorf D J. Retinoid x receptor heterodimers in the metabolic syndrome[J]. N Engl J Med, 2005, 353(6): 604 - 615.

[8] Wei H, Huang H M, Li T Y, *et al*. Marginal vitamin A deficiency affects lung maturation in rats from prenatal to adult stage[J]. J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo), 2009, 55(3): 208 - 214.

[9] Moorhead J F, Chan M K, El-Nahas M, *et al*. Lipid nephrotoxicity in chronic progressive glomerular and tubulo-interstitial disease[J]. Lancet, 1982, 2(8311): 1309 - 1311.

[10] Dalrymple L S, Kaysen G A. The effect of lipoproteins on the development and progression of renal disease[J]. Am J Nephrol, 2008, 28(5): 723 - 731.

[11] Ruan X Z, Varghese Z, Moorhead J F. An update on the lipid nephrotoxicity hypothesis[J]. Nat Rev Nephrol, 2009, 5(12): 713 - 721.

[12] Wheeler D C, Chana R S. Interactions between lipoproteins, glomerular cells and matrix[J]. Miner Electrolyte Metab, 1993, 19(3): 149 - 164.

[13] Carmena R, Duriez P, Fruchart J C. Atherogenic lipoprotein particles in atherosclerosis[J]. Circulation, 2004, 109(23 Suppl 1): Ⅲ 2 - Ⅲ 7.

[14] Nishimaki-Mogami T, Tamehiro N, Sato Y, *et al*. The RXR agonists PA024 and HX630 have different abilities to activate LXR/RXR and to induce ABCA1 expression in macrophage cell lines[J]. Biochem Pharmacol, 2008, 76(8): 1006 - 1013.

[15] Ruan X Z, Moorhead J F, Fernando R, *et al*. PPAR agonists protect mesangial cells from interleukin 1beta-induced intracellular lipid accumulation by activating the ABCA1 cholesterol efflux pathway[J]. J Am Soc Nephrol, 2003, 14(3): 593 - 600.

[16] Kim H J, Moradi H, Yuan J, *et al*. Renal mass reduction results in accumulation of lipids and dysregulation of lipid regulatory proteins in the remnant kidney[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2009, 296(6): F1297 - F1306.

[17] Bhat P V, Manolescu D C. Role of vitamin A in determining nephron mass and possible relationship to hypertension[J]. J Nutr, 2008, 138(8): 1407 - 1410.

（收稿：2010-03-15 修回：2010-06-12）

（编辑 邓强庭）

（上接 2074 页）

不佳，是导致晕厥的主要诱因。因此，术前除了行常规的检查和准备外，医务人员应多与患者交流，了解患者的思想顾虑，针对患者担心的问题给予耐心解答，让患者在术前就了解手术的过程，减轻术前思想顾虑[3]。术后应及时巡视、观察患者，宣教术后应注意预防因体位的改变引起的体位性低血压[4]，指导患者平躺后应稍坐休息，等稳定后再下床活动。对于术后用绷带加压包扎伤口的治疗，应给患者讲解其作用原理，并宣教出现呼吸困难应及时报告医师处置。若术后需换药处理，最好在患者进食后进行，并告诉患者换药只做消毒等处理，并无任何创伤刺激，使患者减轻对换药的恐惧。我们在临床中应高度重视乳腺疾病局麻术后出现晕厥的现象，护理人员应有高度的责任心和观察能力，在做好临床工作的同时，全面提高自己的综合素质，发现问题应及时处理，确保患者的安全，提高护理质量。

参考文献：

[1] 谢强，刘彩云. 晕厥 140 例临床分析[J]. 中国社区医师：综合版，2007，9(6)：20.

[2] Cooper E R, Ferrara M S, Broglio S P. Exertional heat illness and environmental conditions during a single football season in the southeast[J]. J Athl Train, 2006, 41(3): 332 - 336.

[3] 卢兰玲. 手术病人麻醉期的心理护理[J]. 护士进修杂志，2000，15(6)：471.

[4] 陈先华. 军事医学综合演练学员 42 例晕厥原因分析及防治措施[J]. 第三军医大学学报，2009，31(8)：757 - 758.

（收稿：2010-07-01 修回：2010-07-19）

（编辑 龙 亮）