

大鼠心脏二价金属转运体 1 表达量的不同发育期变化及其调节

陈莹莹¹, 夏 强¹, 钱忠明²

(1. 浙江大学医学院, 浙江 杭州 310031; 2. 香港理工大学应用生物学与化学技术系, 香港)

[摘要] 目的: 研究二价金属转运体 1 (divalent metal transporter 1, DMT1) 在大鼠心脏中的表达及其受膳食铁调节的情况。方法: 采用 RT-PCR 和 Western blot 技术, 观察 DMT1 在雄性 Sprague-Dawley 大鼠心脏中的表达。结果: 两种亚型的 DMT1 mRNA (non-IRE 形式和 IRE 形式) 在不同年龄 (7、21、63 和 196d) 的大鼠心脏中均有表达, 随着大鼠年龄的增加, DMT1 mRNA 的表达量增加, 并且其表达量与心脏中的铁含量呈正相关。出生 21 d 的大鼠用高铁或低铁饲料喂养 6 周后, 分别造成心脏铁超载和铁缺乏模型。高铁组、低铁组与对照组相比, 心脏 DMT1 mRNA 的表达量没有明显变化; Western blot 分析结果显示, DMT1 蛋白 (non-IRE 形式和 IRE 形式) 在铁缺乏的心脏中含量分别增加 21% 和 40% ($P < 0.01$), 在铁超载的心脏中其含量降低 26%~28% ($P < 0.01$)。结论: DMT1 在心脏中的表达受膳食铁和心脏铁含量的调节, 其调节方式与转铁蛋白受体不同, 是一种转录后调节。

[关键词] 铁/代谢; 心; 载体蛋白质类; 二价金属转运体 1; 大鼠

[中图分类号] R 541.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-9292(2003)02-0131-06

Developmental expression and regulation of divalent metal transporter 1 in rat heart

CHEN Ying-Ying¹, XIA Qiang¹, Qian Zhong-Ming² (1. College of Medical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310031, China; 2. Department of Applied Biology and Chemical Technology, Hong Kong Polytechnic University, Hong Kong, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression of divalent metal transporter 1 (DMT1) mRNA in male Sprague-Dawley rat heart of different ages and the expression of DMT1 regulated by dietary iron. **Methods:** Reverse transcriptase (RT)-PCR and Western blot were used in this study. **Results:** (1) Two isoforms of DMT1 mRNA [with and without iron-responsive element (IRE)] were both detected in rat heart, which were correlated with heart iron content. During development, both of two isoforms of DMT1 mRNA expression were the lowest at the age of PND 7, and increased at PND 21, 63 to 196. (2) After fed with a high iron diet or low iron diet for 6 weeks, the rats developed iron overload or iron deficiency respectively. No significant differences in DMT1 mRNA expression were detected among iron overload, iron deficient and control rats. By using Western blot analysis, a 21% and 40% reduction in DMT1 protein non-IRE form and IRE form respectively were found in iron overload rat ($P < 0.01$, vs control). Increases (26%~28%) in the levels of two isoforms of DMT1 protein were also observed in iron deficient rat ($P < 0.01$, vs control). **Conclusion:** The level of DMT1 mRNA expression in heart is age dependent; the two isoforms of DMT1 protein may be both regulated by iron on the posttranscriptional mechanism.

[Key words] Iron/matab; Heart; Carrier proteins; Divalent metal transporter 1; Rats

[J Zhejiang Univ (Medical Sci), 2003, 32(2): 131-136.]

研究发现, 在心肌缺血-复灌性损伤和冠脉粥样硬化等心血管疾病中, 心脏铁超载是导致心肌损伤的主要原因之一^[1]。在正常生理情况下, 心肌细胞通过转铁蛋白受体 (transferrin receptor, TfR) 途径从血液中摄取铁。在病理情况下, 心肌铁的摄取和转运可能主要是由非转铁蛋白受体依赖途径介导的^[2]。二价金属转运体 1 (divalent metal transporter 1, DMT1) 是于

1995 年发现的哺乳动物体内第一种非血红蛋

收稿日期: 2002-04-01 修回日期: 2002-10-08

基金项目: 浙江省自然科学基金青年人才专项基金 (No. RC99038) 和 The Hong Kong Polytechnic University and Zhejiang University Joint Supervision of PhD Program (A/C; G-S966) 资助项目

作者简介: 陈莹莹 (1970—), 女, 讲师, 从事生理学研究。

通讯作者: 夏 强, 博士, 教授, 博导。E-mail: xiaqiang@zjuem.zju.edu.cn

白铁转运体^[3]。DMT1 基因存在两种形式(即 IRE 和 non-IRE),前者在 3'-端的非翻译区(untranslated region,UTRs)含有一个与 TfR 相似的铁反应元件(iron responsive element,IRE),后者则缺乏 IRE^[4]。实验证明,DMT1 不仅参与十二指肠细胞膜摄取铁的过程,还参与铁在细胞内转运过程^[5,6]。1997 年,有文献报道 DMT1 在大鼠心脏表达^[7],但是否 DMT1 的两种形式在心脏中均有仍不清楚。两者的比例如何,以及在心脏中的分布情况目前知之甚少。本研究将着重观察不同年龄大鼠心肌 DMT1 mRNA 表达,分析膳食铁变化造成心肌铁水平的改变对心肌组织 DMT1 mRNA 的表达和蛋白合成的影响。

1 材料与方法

1.1 动物和试剂 雄性 Sprague-Dawley 大鼠由香港理工大学动物中心提供。铁和总铁结合容量试剂盒, bathophenanthrolinedisulfonic acid 均从 Sigma 公司购买。Taq DNA 聚合酶购自 Gibco BRL 公司。Advantage (RT-for-PCR) 试剂盒从 Clontech 公司购买。RNeasy Mini 试剂盒购自 QIAGEN 公司。SDS, 丙烯酰胺, bisacrylamide 和琼脂糖购自 Bio-Rad 公司。高铁、正常铁和低铁饲料从 PMI 公司购买。兔抗大鼠 DMT1 (non-IRE) 抗血清和兔抗大鼠 DMT1 (IRE) 抗血清购自 ADI 公司。

1.2 实验分组 A 大组选用出生 7、21、63、196 d 的雄性 SD 大鼠(正常铁饲料喂养,共 28 只,每年龄组各 7 只),观察不同年龄组心肌 DMT1 mRNA 的表达量。B 大组选用出生 21 d 的 SD 大鼠(刚断奶,共 15 只),分别用高铁(25000 mg 铁/kg 饲料, $n=5$)、正常铁(60 mg 铁/kg 饲料, $n=5$)和低铁(10 mg 铁/kg 饲料, $n=5$)饲料喂养 6 周后,观察铁对 DMT1 mRNA 表达和蛋白合成的调节作用。所有的动物均自由进食,并给予足量的饮用水。实验结束,SD 大鼠用 1% 戊巴比妥钠(40 mg/kg, ip)麻醉。收集血液样本,测定血红蛋白(Hb)浓度和血清铁。打开胸腔,心脏用 PBS 液灌流后,切除,吸干,称重^[8]。一部分左心室立即用于提取总 RNA 和蛋白。剩余部分用于测定非血红蛋白铁^[9]。

1.3 反转录 PCR (Reverse Transcription-PCR) 扩增大鼠 DMT1 cDNA 序列 根据 RNeasy Mini 试剂盒说明提取左心室总 RNA。取 1 μ g 总 RNA 用 Advantage RT-for-PCR 试剂盒反转录为 cDNA。根据 GenBank 中大鼠两种 DMT1 基因(IRE 和 non-IRE)序列(#AF008439 和 #AF029757),分别设计相应的引物: 5'-CTGAGCGAAGATACCAGCG-3'; 5'-GGAGCCATCACTTGACCACAC-3' 和 5'-GTCTTCCAAGATGTGGAGCA-3', 5'-ATCTTACCCAAACTGGCAGC-3'。扩增产物分别为 838 bp 和 750 bp 的片段。PCR 反应条件: 94℃ 预变性 3 min; 94℃ 45 s, 60℃ 45 s, 72℃ 2 min, 循环 25 次; 最后 72℃ 延伸 7 min。 β -actin 引物(上游 5'-GGTCACCCACACTGTGCCCACTTA-3'; 下游 5'-GACCGTCAGGCAGCTCACATAGCTCT-3')作为内对照同时扩增。PCR 产物 1.8% 琼脂糖凝胶电泳后,用 Lumi-Analyst 图象分析软件(Roche 公司),对电泳条带作分析,将 OD DMT1/OD β -actin $\times 100$ 表示 DMT1 基因的表达量。PCR 产物用 QIAEX II gel extraction kit (Qiagen 公司)回收纯化后,用 ABI Prism™ 310 Genetic Analyzer (PE 公司)对 PCR 产物作鉴定。

1.4 Western Blot 左心室肌在含 1% Triton X-100 的 RIPA 缓冲液 (radioimmuno-prepeiption assay buffer) 中匀浆后,10 000 $\times$ g (4℃) 离心 30 min,收集上清液。用 Bradford 法测定样品蛋白质含量。取含 10 μ g 心脏裂解液经 10% SDS-PAGE 电泳分离后,电转移至 PVDF 膜。用 1% 丽春红染色,以证实加入等量的样本。滤膜用 5% 脱脂奶粉室温封闭 2 h 后,与 1:5 000 兔抗大鼠 DMT1 (non-IRE) 抗血清和兔抗大鼠 DMT1 (IRE) 抗血清 4℃ 孵育过夜。TBS-T 洗膜 3 次后,与 1:5 000 辣根过氧化物酶标记的二抗室温孵育 1 h。用 ECL 检测试剂检测滤膜上 DMT1 蛋白质,并用 LumiAnalyst 图象分析软件,根据光密度定量分析。

1.5 统计处理 各组数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 one-way ANOVA 以及 Student-Newman-Keuls test 进行统计学分析, $P < 0.05$ 认为有显著差异。

2 结 果

2.1 DMT1 mRNA 在不同年龄大鼠心脏中的表达 出生 7、21、63、196 d 的雄性 SD 大鼠的心肌中 DMT1 (non-IRE) mRNA 和 DMT1 (IRE)mRNA 表达量用 RT-PCR 测定(图 1A 和 1B)。在各年龄组中,两种形式的 DMT1 均有表达,且 IRE 形式的 mRNA 表达量明显高于 non-IRE 形式的 mRNA。同一种 DMT1 mRNA,不同年龄组之间比较显示,DMT1 mRNA 表达量均在出生 7 d 时最低,以后逐渐增加。DMT1(non-IRE)mRNA 表达量在出生 196 d 时达到最大,而 DMT1(IRE)mRNA 表达量在出生 63 d 时达最大,之后不再增加。同时发现,心肌 DMT1(non-IRE 和 IRE)的表达量与心肌中铁的含量呈正相关($P<0.01$,图 2)。

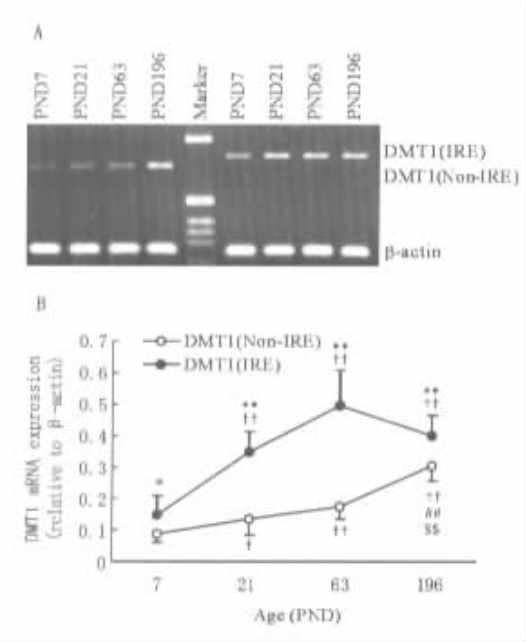


图 1 不同年龄心肌 DMT1 mRNA 的表达 (每年龄组 $n=7$,共 28 只)

Fig. 1 RT-PCR for detecting the expressions of two isoforms of the DMT1 mRNA in rat hearts of different ages ($n=7$)

PND: postnatal day. * $P<0.05$, ** $P<0.01$ compare to non-IRE form of the same age, + $P<0.05$, ++ $P<0.01$ compare to PND7 rats. # $P<0.05$, ## $P<0.01$ compare to PND21 rats. \$ $P<0.01$ compare to PND63 rats.

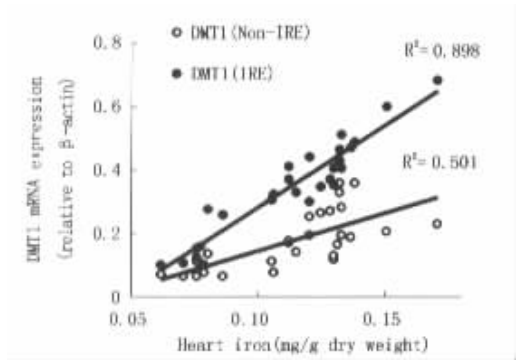


图 2 心肌 DMT1 mRNA 表达量与心肌组织内铁含量相关关系分析

Fig. 2 Correlation between expressions of two isoforms of the DMT1 mRNA and iron content in myocardium

2.2 低铁和高铁膳食对各生化指标的影响 低铁饲料喂养后 6 周,与 B 大组对照组相比,大鼠体重、血红蛋白(Hb)、血清铁和心肌铁含量明显下降($P<0.01$,表 1)。相反,在高铁组 Hb 和血清铁明显高于 B 大组对照组($P<0.01$,表 1),心肌铁含量达对照组的 6 倍。这表明,经过 6 周的喂养低铁或高铁饲料,大鼠已经出现铁缺乏和铁超载的现象。

2.3 铁缺乏和铁超载对 DMT1 mRNA 表达和蛋白合成的影响 见图 3 和图 4。从图 3 的结果显示,铁缺乏和铁超载的心肌中两种形式的 DMT1 mRNA 表达量与对照组相比均无明显差异。而 Western blots 分析发现,与对照组相比,低铁组心肌 DMT1 蛋白的合成增加,其中 non-IRE 形式的蛋白增加了(26 ± 9)%,IRE 形式的蛋白增加了(28 ± 8)%。相反,高铁组 non-IRE 形式的蛋白降低至正常组的(79 ± 8)%,IRE 形式的蛋白降低至正常组的(60 ± 3)%($P<0.01$)。Western blots 分析显示,在铁缺乏和铁超载的心肌中,两种 DMT1 变化的趋势一致,提示 3'-UTR 的结构不同对 DMT1 蛋白合成受铁的调节并无差别。本实验中测得的 DMT1 分子量为 54 kD,比预期的 63 kD 要小,结果与 Su 等人的研究相似^[10]。此现象可能与 DMT1 在 SDS-PAGE 上的高电泳迁移率有关。

表 1 高铁、低铁和对照组大鼠体重、Hb、血清铁和心肌铁含量的变化

Table 1 Body weight, Hb, Serum iron and heart non-heme iron concentrations in control rats (CN), iron deficient rats (LF) and iron overload rats (HF)

B Group	<i>n</i>	Body weight (g)	Hb (g/L)	Serum iron (mmol/L)	Heart non-heme iron (mg/g dry weight)
CN	5	333.00±18.15	178.9±6.8	25.28±2.54	0.067±0.009
LF	5	272.14±11.96**	58.3±8.9**	3.18±1.20**	0.030±0.003**
HF	5	336.43±18.49	195.0±7.6**	48.31±4.90**	0.388±0.032**

** *vs* control $P<0.01$; ** $P<0.01$ compared with control group

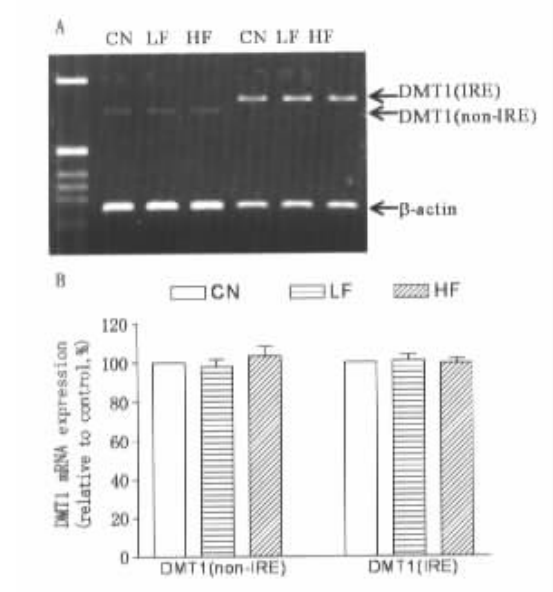


图 3 高铁、低铁和对照组心肌 DMT1 mRNA 表达量的变化($n=5$)

Fig. 3 The expressions of two isoforms of the DMT1 mRNA in hearts of control rats (CN), iron deficient rats (LF) and iron overload rats (HF) ($n=5$)

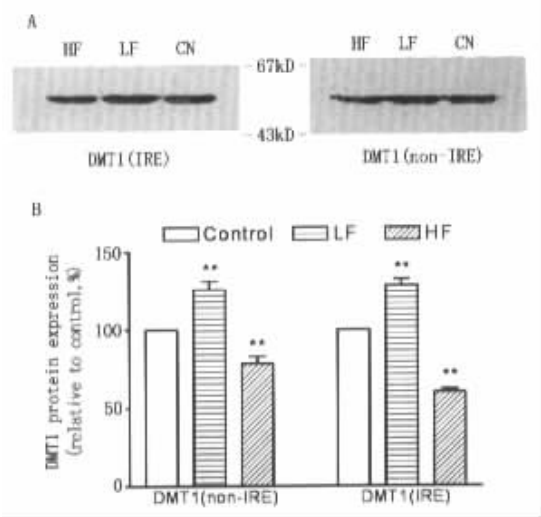


图 4 高铁、低铁和对照组心肌 DMT1 蛋白质合成量的变化($n=5$)

Fig. 4 The expressions of two isoforms of the DMT1 protein in hearts of control rats (CN), iron deficient rats (LF) and iron overload rats (HF) ($n=5$)

** *vs* control $P<0.01$
** $P<0.01$ compared with control group

3 讨 论

3.1 DMT1 在不同年龄大鼠心脏中的表达

本研究发现,两种 DMT1 基因在心脏中均有表达,且其表达量具有年龄依赖性,其中 DMT1 IRE 基因表达明显高于 DMT1 non-IRE。最近的研究发现,IRE 和 non-IRE 克隆数在不同组织中的比例不尽相同。从小肠 cDNA 文库看,每 7 个 IRE 克隆有 1 个 non-IRE 克隆;而卵巢和胸腺 cDNA 文库中 IRE 和 non-IRE 的比例为 2 : 4^[4]。两种 DMT1 表达的不同比例可能归因于组织特异性。本实验发现,心肌 DMT1 基

因的表达量随着年龄的增加而增加,提示具有年龄依赖性。且心肌 DMT1 mRNA 的表达同时又和心肌中铁含量成正比,推测心肌 DMT1 基因的表达可能参与心肌铁的转运。Gunshin 等人利用爪蟾卵母细胞表达系统研究发现,DMT1 参与 Zn^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} 和 Pb^{2+} 等二价阳离子的转运,以铁离子为优先选择对象;DMT1 中介的主动转运是质子耦联的,并依赖于细胞膜电位^[7]。现已证明小肠铁转运必须依赖细胞膜上的 DMT1,且 Fe^{3+} 必须先被膜上的高铁还原酶(ferrireductase)还原为 Fe^{2+} ^[11]。

3.2 铁对 DMT1 表达和蛋白合成的影响 不同组织中 DMT1 mRNA 和蛋白的调节表现不同。在小肠 Caco-2 细胞中 DMT1 基因的表达和翻译受机体铁的调节,将 Caco-2 细胞在富含铁的培养基中培养 5 d 后,DMT1 mRNA 水平下降,DMT1 蛋白量减少 2 倍。mRNA 和蛋白的表达减少使 Caco-2 细胞摄铁功能降低了 30%^[12]。然而在肝脏细胞中,铁超载使 DMT1 蛋白合成量增高,相反铁缺乏导致 DMT1 蛋白合成量明显低于正常^[13]。LMTK 细胞(一种小鼠纤维原细胞系)在使用铁螯合剂去铁敏或铁的供体孵育 20 h 后,DMT1 的表达无明显改变^[14]。本实验结果显示,心脏 DMT1 蛋白的合成在铁超载情况下下降,铁缺乏时合成增加。提示,与 Caco-2 细胞相似,心脏 DMT1 蛋白的合成受心脏铁水平的调节。由于 DMT1 mRNA 的表达并不受心脏铁水平的影响,说明心肌 DMT1 受铁水平的转录后调节。

许多编码铁代谢的相关蛋白(如 TfR),因其 mRNA 含有 IRE,可通过 IRE-IRP (iron regulatory protein)机制受细胞铁水平的调节。本实验中,DMT1 (non-IRE)蛋白与心肌 DMT1 (IRE)一样都受到铁水平的调节。这与在 COS-7 和 HEK-293T 细胞上的结果相似^[11]。据报道,不含 IRE 的 mRNA(如组织转化生长因子 $\beta 1$ mRNA, I 型胶原酶 mRNA)的表达和翻译亦可受铁水平高低的调节^[15],其机制可能是通过产生氧自由基(如 H_2O_2 等)影响这些基因的表达和合成^[16, 17]。因此在铁对基因的调节过程中,可能存在非 IRE-IRP 依赖机制,即铁可直接或间接通过氧自由基,参与对心肌 DMT1 (non-IRE)蛋白合成的调节。

总之,心肌 DMT1 的表达是年龄依赖性的。心肌铁水平通过转录后机制调节 DMT1 蛋白,其途径可能涉及 IRE-IRP 依赖和非依赖两条途径。

(本课题得到香港理工大学常彦忠和柯亚博士的技术支持,特致谢意。)

References:

[1] Horwitz L D, Rosenthal E A. Iron-mediated cardiovascular injury [J]. Vasc Med, 1999, 4(2): 93—99.

- [2] Link G, Pinson A, Hershko C. Heart cells in culture: a model of myocardial iron overload and chelation [J]. J Lab Clin Med, 1985, 106(2): 147—153.
- [3] Gruenheid S, Cellier M, Vidal S, et al. Identification and characterization of a second mouse Nramp gene [J]. Genomics, 1995, 25(2): 514—525.
- [4] Lee P L, Gelbart T, West C, et al. The human Nramp2 gene: characterization of the gene structure, alternative splicing, promoter region and polymorphisms [J]. Blood Cells Mol Dis, 1998, 24(2): 199—215.
- [5] Fleming M D, Trenor C C, Su M A, et al. Microcytic anaemia mice have a mutation in Nramp2, a candidate iron transporter gene [J]. Nat Genet, 1997, 16(4): 383—386.
- [6] Garrick M D, Scott D, Kulju D, et al. Evidence for and consequences of chronic heme deficiency in Belgrade rat reticulocytes [J]. Biochim Biophys Acta, 1999, 1449(2): 125—136.
- [7] Gunshin H, Mackenzie B, Berger U V, et al. Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter [J]. Nature, 1997, 388(6641): 482—488.
- [8] Zaman A K, Fujii S, Sawa H, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition attenuates hypofibrinolysis and reduces cardiac perivascular fibrosis in genetically obese diabetic mice [J]. Circulation, 2001, 103(25): 3123—3128.
- [9] Torrance J D, Bothwell T H. A simple technique for measuring storage iron concentrations in formalinised liver samples [J]. S Afr J Med Sci, 1968, 33(1): 9—11.
- [10] Su M A, Trenor C C, Fleming J C, et al. The G185R mutation disrupts function of the iron transporter Nramp2 [J]. Blood, 1998, 92(6): 2157—2163.
- [11] Zhang L, Lee T, Wang Y, et al. Heterologous expression, functional characterization and localization of two isoforms of the monkey iron transporter Nramp2 [J]. Biochem J, 2000, 349(Pt 1): 289—297.
- [12] Tandy S, Williams M, Leggett A, et al. Nramp2 expression is associated with pH-dependent iron uptake across the apical membrane of human intestinal Caco-2 cells [J]. J Biol Chem, 2000, 275(2): 1023—1029.
- [13] Trinder D, Oates P S, Thomas C, et al. Localisation of divalent metal transporter 1 (DMT1) to the microvillus membrane of rat duodenal enterocytes in iron deficiency, but to hepatocytes in iron overload [J]. Gut, 2000, 46(2): 270—276.
- [14] Wardrop S L, Richardson D R. The effect of intracellular iron concentration and nitrogen monoxide on Nramp2 expression and non-transferrin-bound iron uptake [J]. Eur J Biochem, 1999, 263(1): 41—49.

- [15] Parkes J G, Liu Y, Sirna J B, et al. Changes in gene expression with iron loading and chelation in cardiac myocytes and non-myocytic fibroblasts [J]. J Mol Cell Cardiol, 2000,32(2):233-246.
- [16] Valen G, Erl W, Eriksson P, et al. Hydrogen peroxide induces mRNA for tumour necrosis factor alpha in human endothelial cells [J]. Free Radic Res, 1999,31(6):503-512.

- [17] Nieto N, Greenwel P, Friedman S L, et al. Ethanol and arachidonic acid increase alpha 2(I) collagen expression in rat hepatic stellate cells overexpressing cytochrome P450 2E1. Role of H₂O₂ and cyclooxygenase -2 [J]. J Biol Chem, 2000,275(26):20136-20145.

[责任编辑 张荣连]

体外循环下清除肾癌伴下腔静脉癌栓伸至右房一例

钱林锋,施丽萍,陈英莲

(浙江大学医学院附属第一医院,浙江 杭州 310003)

1 病例摘要

患者男性,80岁,70 kg,双下肢浮肿 20 余天入院。尿蛋白+++。超声、CT、MRI 提示:右肾肿瘤伴右肾静脉、下腔静脉及右房癌栓。全麻下行胸骨正中切口延长至腹部正中切口,游离肾蒂,结扎肾动脉,切除病肾。全身肝素化,肝素 3 mg/kg,维持 ACT>480 s。升主动脉插入 24 Fr 供血管,上腔静脉插入 32 Fr 引流管,右髂静脉插入 26 Fr 引流管,应用 Sarns 7400 型人工心肺机,Terumo sx18 膜式氧合器,建立体外循环。并行循环后降温,维持鼻咽温 34℃左右,流量 3.5 L/min。阻断上、下腔静脉。因癌栓游离端膨大,不能经下腔静脉拉出,分别打开右心房和下腔静脉,将癌栓离断后从右心房和下腔静脉取出。缝合右房及下腔静脉切口。复温至鼻咽温 37℃,停体外循环并拔管。术中维持平均动脉压 65 mmHg 以上。鱼精蛋白 1:1 中和肝素。术后 4 h 清醒。胸腹引流量第 1 d 60 ml,第 2 d 110 ml,肾功能良好。术后第 3 d 拔气管插管,恢复良好。

2 讨论

肾癌伴右房及下腔静脉癌栓形成,用常规外科技术很难处理。应用体外循环技术清除来

自肾癌的癌栓,能良好地暴露手术视野,防止不能控制的出血,为完全切除肿瘤提供必要的条件。国内王加利等(1993 年)采用体外循环并深低温停循环的方法清除下腔静脉癌栓。本例患者高龄,停循环对患者重要脏器保护、内环境稳定、凝血功能等影响较大。应用浅低温并行循环下取癌栓获得了良好的手术效果。操作中有几个问题值得注意:①保证降温过程平稳,维持鼻咽温 34℃左右,防止体温下降过快引起心律失常。②保护健侧肾脏至关重要,体外循环中应维持一定的平均动脉压,下半身引流充分,必要时应用人工肾减轻肾脏负荷。③浅低温下低流量的灌注方法(大约 50 ml/kg·min⁻¹),可以满足组织的灌注要求,同时避免高流量使回血增加而影响手术视野暴露。④体外循环中,癌细胞有可能通过手术野血液回收再循环入体内,在离断和清除癌栓过程中,血液不再回收,尽量避免癌细胞吸入。

[责任编辑 黄晓花]

收稿日期:2002-04-19 修回日期:2002-09-17

作者简介:钱林锋(1976—),男,技师,从事体外循环工作。