

长期游泳运动对非酒精性脂肪肝大鼠血清 氨基酸谱的影响及分析

叶 春¹, 何执静²

(1. 南京师范大学体育科学学院, 江苏 南京 210023)
(2. 南京大学生物医药国家重点实验室, 江苏 南京 210093)

[摘要] 本文旨在探讨长期游泳运动对非酒精性脂肪肝(NAFLD)大鼠血清中氨基酸谱的影响。30 只大鼠随机分为高脂组、高脂运动组和正常组。高脂组和高脂运动组采用高脂饲料喂养。高脂运动组喂养 4 周后, 进行 20 周的游泳运动。24 周后, 对 3 组大鼠取肝脏作病理分析, 取血测定血清中 ALT、AST、GLU、Chol、TG、HDL、LDL、CP, 并采用 HPLC 测定血清中氨基酸谱, 3 组进行对照分析。结果显示, 高脂运动组较高脂组肝脏的脂肪变性明显好转, 血清中 ALT、AST、GLU、Chol、TG、LDL、CP 均趋向于正常。高脂运动组血清中天冬氨酸、丝氨酸、丙氨酸、鸟氨酸、酪氨酸、蛋氨酸、赖氨酸、精氨酸较高脂组显著下降, 有统计学意义($P < 0.001$)。高脂运动组血清中谷氨酸、天冬酰胺、苏氨酸、甘氨酸、缬氨酸、苯丙氨酸较高脂组降低, 有显著性差异($P < 0.05$)。高脂运动组较高脂组支链氨基酸(BCAA)略有上升, 芳香族氨基酸(AAA)明显下降, Fischer 值(支/芳)明显上升($P < 0.05$)。研究发现, 长期耐力运动通过消耗多余的脂肪使非酒精性脂肪肝肝功能明显好转, 血清中氨基酸谱的变化提示长期耐力运动在一定程度上能够纠正蛋白质代谢的紊乱。

[关键词] 非酒精性脂肪肝, 运动, 氨基酸

[中图分类号] G804.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1001-4616(2015)02-0122-06

Effect of Long-Term Exercise on Aminogram in Serum in a Rat Model of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease

Ye Chun¹, He Zhijing²

(1. School of Sport Sciences, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China)
(2. Biochemical Department of Nanjing University, Nanjing 210093, China)

Abstract: The purpose of this paper was to study the changes of aminogram in plasma after long-term exercise in non-alcoholic fatty liver disease(NAFLD) rats. Thirty healthy male SD rats were randomly and equally divided into following 3 groups: normal control group(C, fed with standard diet), high fat diet fed control group(HC) and long-term exercise(HE). The rats in group HC were fed with high-fat diet without exercise for 4 weeks, then with 90 min unloaded swimming 5 times per week. The whole duration of the study were 24 weeks, the serum concentration of free amino-acids and ALT, AST, Glu, Chol, TG, HDL, LDL, CP, the morphological changes of liver was detected. Results: ALT, AST, Glu, Chol, TG, HDL, LDL, CP were increased in HC group, while AST, GLU, LDL decreased, and ALT, CHOL, TG decreased significantly($P < 0.05$ and $P < 0.01$) respectively in HE group. HDL was increased in HE group comparing with HC group. The steatosis was higher in HC group, but was lower in HE group($P < 0.05$). The Asp, Cir, Ser, Ala, Tyr, Met, Lys, Arg in the serum of HE group were significantly lower than that in HC group($P < 0.01$), while Glu, Asn, Thr, Gly, Val, Phe in serum lower than that($P < 0.05$). The levels of most other amino acids tended to decreased in HE group although there was no significant difference compared with HC group($P > 0.05$). The content of branched-chain amino acid(BCAA) was little lower($P > 0.05$) but aromatic amino acid(AAA) was lower in HE group($P < 0.05$) than that in HC group, Fisher ratio was reduced($P < 0.05$). Our result indicate that increased fat oxidation during long-term exercise could benenif for liver

收稿日期: 2013-05-07.

基金项目: 江苏省高校自然科学研究面上专案(09KJB340001).

通讯联系人: 叶春, 博士, 讲师, 研究方向: 运动生化. E-mail: 12144@njnu.edu.cn

function. The changed of serum aminogram show long-term can correct the disorder of protein metabolism in some degree.

Key words: non-alcoholic fatty liver disease, exercise, amino-acids

近年来,随着人们生活水平的提高和生活方式的改变,非酒精性脂肪肝(Non-Alcoholic Fatty Liver Disease, NAFLD)患病率明显增加。据报导,西方发达国家 20%~30% 的成年人罹患非酒精性脂肪肝^[1]。NAFLD 是指由肝细胞脂肪性病变发展到炎症、纤维化的一种疾病^[2]。流行病学研究结果显示,作为遗传-环境-代谢应激相关的一种疾病,NAFLD 通常与肥胖、高脂血症、Ⅱ型糖尿病、心肌梗塞、脑卒中乃至癌症有很强的相关性^[3]。因此,防治 NAFLD 成为肝病治疗中的一项重要课题。

当前,针对 NAFLD 的防治,主要采取纠正危险因素如饮食结构、服用药物以及运动治疗等方式^[4]。其中,长时间有氧运动治疗因其操作简单、无副作用等优点,受到医学界和体育科学界的重视^[5]。学术界针对运动防治 NAFLD 的机制开展了大量研究,其中大部分研究集中在运动纠正机体脂肪代谢紊乱方面^[6],而关于运动影响 NAFLD 蛋白质代谢的研究甚少。本实验通过观察分析长期游泳运动对 NAFLD 大鼠血清中氨基酸谱的改变,初步探讨长期运动对 NAFLD 机体蛋白质代谢的影响及其机制。

1 材料与方法

1.1 动物饲养和管理

实验采用纯系雄性 SD 大鼠 30 只,体重 180 g~210 g,由南京中医药大学实验动物中心提供,随机分为正常组、高脂组和高脂运动组,每组 10 只。正常组采用国家标准啮齿类动物混合饲料喂养;高脂组和高脂运动组采用高脂饲料喂养,高脂饲料配比为标准饲料加 10% 的猪油和 1.5% 的胆固醇。

大鼠喂养 4 周之后,高脂运动组进行 20 周的游泳运动。在 100 cm×50 cm×50 cm 的塑料箱内放入干净的自来水,水温保持在(30±2)℃,每周中有 5 d 进行游泳运动^[7],每天一次,每次 90 min。各组分笼饲养,自由摄食与饮水,每周称取体重,动物造模共进行 24 周。高脂运动组最后一次游泳后 24 h,且空腹 12 h 后,以 3% 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉,留取血清和肝脏标本。同时,正常组和高脂组采取同样方法留取血清和肝脏样本。

1.2 指标测定

1.2.1 大鼠各指标测定

测定体重和肝指数(肝湿重/体重×100%)。采用日立 7600-020 全自动生化仪测定血清中 ALT、AST、GLU、Chol、TG、HDL、LDL 和 CP。肝组织经甲醛固定,石蜡包埋,切片,常规 HE 染色,在光镜下观察。以肝小叶内未见脂滴肝细胞为阴性,脂滴肝细胞占肝细胞总数<1/3 为(+),1/3~2/3 为(++),>2/3 为(+++)。几乎均呈脂滴肝细胞为(++++)。

1.2.2 血清氨基酸测定方法

第一步:样品去蛋白,离心取上清液待用。第二步:采用邻苯二甲醛进行柱前自动衍生化,自动进样 1 μL,用 C18 色谱柱分离,紫外波长 338 nm 检测,用 Agilent 提供的混合对照品进行定性及外标法定量。仪器为 Agilent 1200 液相色谱仪,包含 G1367C 自动进样器、G1312B 二元梯度泵、G1316B 柱温箱、G1315C 型号 DAD 检测器。色谱柱为 Agilent ZORBAX Eclipse AAA 3.0×150 mm 3.5 μm。

1.2.3 统计学处理

所有资料均以(均数±标准差)表示,采用 SPSS 10.0 统计软件进行统计学处理,按 *t* 检验分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠的体重和肝指数

如表 1 所示,高脂运动组体重和肝指数与高脂组相比显著下降($P<0.01$ 和 $P<0.05$)。结果提示,长期有氧运动使高脂饲料喂养的大鼠体重明显下降,肝脏肿大明显好转。

表 1 大鼠体重和肝指数的变化

Table 1 The changes of weight and coefficient of live

	体重/g	肝指数/%
正常组	556.44±29.04	2.36±0.39
高脂组	647.00±54.16	3.60±0.53
高脂运动组	554.44±44.89**	3.13±0.40*

注:与高脂组比较 ** $P<0.01$, * $P<0.05$ 。

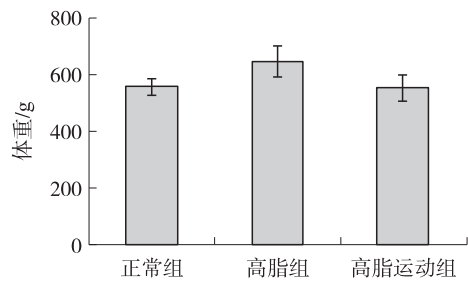


图 1 大鼠体重的变化
Fig.1 The changes of weight

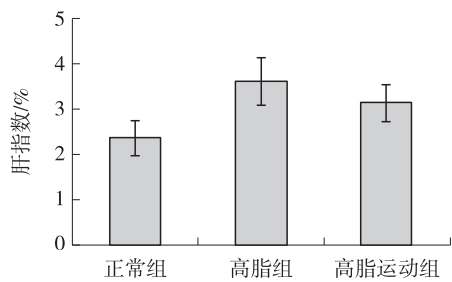


图 2 大鼠肝指数的变化
Fig.2 The changes of coefficient of live

2.2 血清中 ALT、AST、GLU、Chol、TG、HDL、LDL 和 CP 的变化

如表 2 所示,高脂运动组血清中 ALT、CHOL、TG 显著下降,与高脂组相比有显著性差异($P<0.01$);高脂运动组血清中 AST、GLU、LDL 显著下降,与高脂组有显著性差异($P<0.05$);高脂运动组血清中 CP 略有下降,与高脂组没有显著性差异($P>0.05$);高脂运动组血清中 HDL 显著升高,与高脂组有显著性差异($P<0.05$).结果提示,长期有氧运动对高脂喂养大鼠肝功能、脂肪代谢和糖代谢紊乱有明显的改善.

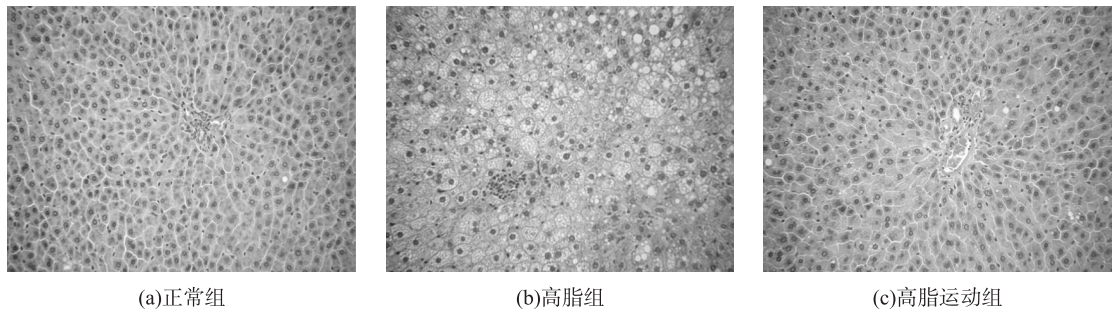
表 2 血清中 ALT、AST、GLU、Chol、TG、HDL、LDL 和 CP 水平
Table 2 Levels of ALT、AST、GLU、Chol、TG、HDL、LDL and CP in serum

	正常组	高脂组	高脂组运动
ALT	28.670 0±5.200	33.400±6.02	24.500±5.93 **
AST	147.000 0±34.340	193.00±20.83	160.560±29.26 *
GLU	3.380 0±0.383	4.350±0.30	3.920±0.29 *
Chol	2.288 9±0.410	3.190±0.60	1.240±0.31 **
TG	1.810 0±0.300	2.000±0.45	1.087±0.19 **
HDL	0.940 0±0.280	0.986±0.22	1.258±0.25 *
LDL	0.350 0±0.100	0.607±0.18	0.400±0.11 *
CP	0.346 0±0.060	0.417±0.06	0.387±0.60

注:与高脂组比较 ** $P<0.01$, * $P<0.05$.

2.3 肝脏的病理学变化

正常组肝脏未见明显病理学变化.高脂组肝脏均见弥散性肝细胞脂肪变性(+++),汇管区可见少量炎性细胞(+),脂肪变性程度与正常组有显著性差异($P<0.01$).高脂运动组肝脏见弥散性肝细胞脂肪变性(++),毛细血管及汇管区内胆管未见胆汁淤积,汇管区未见炎细胞浸润.结果提示,长期有氧运动对大鼠肝脏的脂肪性病变有明显改善作用.



a: control group, b: HC group, c: HE group(×100)

图 3 大鼠肝脏的超微结构
Fig.3 Light microscopy of liver

2.4 血清中氨基酸谱的变化

高脂运动组血清中天冬氨酸(aspartic acid, Asp)、丝氨酸(serine, Ser)、丙氨酸(alanine, Ala)、鸟氨酸(ornithine, Orn)、酪氨酸(tyrosine, Tyr),蛋氨酸(methionine, Met),赖氨酸(lysine, Lys)、精氨酸(arginine, Arg)较高脂组显著下降,有统计学意义($P<0.001$).高脂运动组血清中谷氨酸(glutamic acid, Glu)、天冬酰胺(asparagine, Asn)、苏氨酸(threonine, Thr)、甘氨酸(glycine, Gly)、缬氨酸(valine, Val)、苯丙氨酸(phenylalanine, Phe)较高脂组降低,有显著性差异($P<0.05$).高脂运动组血清中支链氨基酸(branched chain amino acid, BCAA)较高脂组略有下降,芳香族氨基酸(aromatic amino acid, AAA)明显下降($P<0.05$),Fischer(支/芳)明显上升($P<0.05$),结果如表 3 所示.

表 3 血液中游离氨基酸、支链氨基酸、芳香氨基酸和 Fischer(支/芳) 的浓度

	Table 3 Levels of serum free amino acids、BCAA、AAA and Fisher			$\mu\text{mol/L}$
	正常组	高脂组	高脂运动组	
天冬氨酸 Asp	175.41 \pm 21.59	179.20 \pm 13.54	125.13 \pm 15.56	
谷氨酸 Glu	333.23 \pm 93.62	440.84 \pm 143.8	314.98 \pm 58.58 *	
天冬酰胺 Asn	100.12 \pm 10.78	116.56 \pm 14.94	86.04 \pm 11.7 ***	
丝氨酸 Ser	374.78 \pm 38.68	430.74 \pm 62.88	349.30 \pm 48.01 ***	
组氨酸 His	42.23 \pm 8.32	49.24 \pm 10.52	68.44 \pm 20.21	
甘氨酸 Glu	453.64 \pm 57.85	517.17 \pm 72.21	514.35 \pm 52.5 *	
苏氨酸 Thr	376.79 \pm 42.72	400.89 \pm 57.24	310.94 \pm 42.59 *	
鸟氨酸 Orn	73.26 \pm 8.48	105.48 \pm 7.6	78.03 \pm 13.42 ***	
精氨酸 Arg	270.79 \pm 31.26	288.37 \pm 53.74	213.22 \pm 27.03 ***	
谷氨酰胺 Gln	780.18 \pm 84.78	857.39 \pm 135.15	879.03 \pm 117.78 *	
丙氨酸 Ala	712.93 \pm 51.09	721.92 \pm 99.99	512.97 \pm 69.67 ***	
牛磺酸 Tau	642.67 \pm 57.49	508.99 \pm 34.26	499.26 \pm 54.09	
酪氨酸 Tyr	112.06 \pm 11.66	143.34 \pm 19.26	95.45 \pm 12.32 ***	
缬氨酸 Val	241.34 \pm 38.22	275.45 \pm 48.39	239.19 \pm 40.85 *	
蛋氨酸 Met	97.46 \pm 7.55	95.80 \pm 14.19	67.25 \pm 9.89 ***	
色氨酸 Trp	106.58 \pm 18.83	159.73 \pm 27.71	154.32 \pm 22.17	
苯丙氨酸 Phe	102.27 \pm 8.27	125.89 \pm 22	104.34 \pm 12.87 *	
异亮氨酸 Ile	148.41 \pm 16.09	154.31 \pm 27.21	153.56 \pm 17.79	
瓜氨酸 Cit	49.82 \pm 7.33	85.75 \pm 16.74	77.96 \pm 14.2	
亮氨酸 Leu	173.25 \pm 19.74	191.51 \pm 24.81	197.21 \pm 31.4	
赖氨酸 Lys	442.73 \pm 41	503.37 \pm 98.01	352.95 \pm 56.61 ***	
支链氨基酸 BCAA	563.00 \pm 22.4	621.27 \pm 33.54	589.96 \pm 30.01	
芳香氨基酸 AAA	312.91 \pm 12.95	419.96 \pm 22.90	354.11 \pm 15.79 *	
Fischer(支/芳)	1.8	1.48	1.6 *	

注:与高脂组比较 *** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$.

3 讨论与分析

通过 24 周的高脂饲料喂养诱导大鼠形成 NAFLD,大鼠肝细胞出现明显的脂肪变性和炎症细胞浸润,体重和肝指数相较于正常组明显升高.血清中 AST 和 ALT 升高,进一步说明肝脏功能已经损伤.血清中有关糖和脂肪代谢的指标以及胰岛素的间接指标均明显升高,提示高脂组大鼠出现代谢综合症.

本实验中,高脂运动组大鼠经过 20 周的游泳运动,肝细胞脂肪变性明显减轻,体重和肝指数明显下降,血清中肝功能指标、糖和脂肪代谢的相关指标有明显好转,此结果与有关文献报导一致^[8].

3.1 高效液相法测定高脂运动组大鼠最后一次运动结束 24 h 后血清中氨基酸谱的变化

结果显示,高脂运动组血清中绝大部分氨基酸较高脂组下降,少数氨基酸甚至低于正常组.大量研究证明,在正常饮食情况下,长期耐力性运动会导致血清中氨基酸浓度增加^[9-11].关于高脂饮食情况下运动对血清中氨基酸谱影响的报导甚少,仅查到一篇相关文献,该文献报导肥胖者运动后血清中氨基酸浓度升高^[12].本实验结果与上述研究报导均不一致,分析原因可能有以下几点:

(1) 长期耐力性运动缓解大鼠 NAFLD 代谢紊乱的症状

越来越多的研究证实,NAFLD 是代谢综合症在肝脏的一种病理表现,NAFLD 同时会伴有肥胖、胰岛素抵抗等^[2].胰岛素抵抗会严重影响机体的能量代谢,使机体处于以分解代谢为主的状态. Armstrong^[13]等研究发现,禁食后血液中的氨基酸主要来源于骨骼肌分解.本实验中,高脂组大鼠血清除了牛磺酸以外其余的氨基酸浓度均升高,表明此时骨骼肌处于蛋白质分解状态,这可能是由于胰岛素抵抗的因素.经过长时间运动,大鼠肝脏的病理和血液生化指标出现明显好转,血清中游离氨基酸浓度明显下降,提示胰岛素抵抗有了一定缓解,从而抑制骨骼肌蛋白质的分解.

(2) 取血样的时间不同

长期运动可以促进骨骼肌蛋白质的合成.运动即刻到 24 h 骨骼肌主要以分解代谢为主,24 h 后骨骼肌处于旺盛的合成代谢^[14].本实验大鼠取血时间为运动结束 24 h 后,此时血清中大部分氨基酸趋于降低,可能是因为骨骼肌合成代谢旺盛,从血清中摄取氨基酸量增加所致.

酪氨酸是一种半必需氨基酸,骨骼肌中没有酪氨酸转氨酶,骨骼肌中既不能合成也不能分解酪氨酸,所以血清中的酪氨酸浓度反映了骨骼肌蛋白质代谢状态^[15]。本实验结果显示高脂运动组血清中酪氨酸明显下降,也证实了此时大鼠骨骼肌合成代谢明显增强。

(3)长期低强度运动使骨骼肌分解脂肪的能力增加

Henriksson^[16]的实验发现,6名被测试者用自行车测力计训练2个月后,骨骼肌中的丁二酸脱水素酶(SDH)活性约增加27%,对FFA的摄取也明显增多。本实验发现,高脂运动组大鼠血清中胆固醇和甘油三酯的浓度不仅低于高脂组,甚至低于正常组,同时血清中有8种氨基酸不仅低于高脂组,甚至明显低于正常组。提示这8种氨基酸可能与运动过程中机体利用脂肪有关。

本实验中的运动模型属于有氧运动,运动主要依靠脂肪供能。脂肪降解必须以消耗草酰乙酸作为引物,而草酰乙酸主要来自于糖,所以脂肪降解必然消耗部分糖。然而,高脂膳食会减少骨骼肌和肝脏中糖原的储量,所以当机体大量降解脂肪时,更容易耗尽糖原储备^[17]。当糖原耗尽时,机体就开始动员起生糖氨基酸或生酮氨基酸进行糖异生。例如,丙氨酸能通过转化为丙酮酸进而转化为草酰乙酸,天冬氨酸则可直接转化为草酰乙酸。

3.2 临床上通常采用Fischer值(即支链氨基酸/芳香族氨基酸的值)作为判断慢性肝病肝损伤程度的指标^[18]

本实验中,经过20周的游泳运动,高脂运动组大鼠血清中支链氨基酸略有下降,其原因可能是有氧运动主要依靠脂肪供能,蛋白质供能所占的比例很小,所以血清中支链氨基酸的变化不大;高脂运动组大鼠血清中芳香族氨基酸较高脂组明显下降,表明肝脏对芳香族氨基酸的降解能力明显上升;Fischer值较高脂组明显上升,说明肝功能有明显改善,这一点与其血清中肝功能指针相一致^[19]。分析原因,可能是由于长期有氧运动消耗了多余的脂肪,有效减少了脂肪在肝细胞中的沉积,从而减轻了脂肪对肝细胞的毒性作用^[3]。

3.3 高脂运动组血清中鸟氨酸较高脂组明显下降,而瓜氨酸略有下降

分析原因可能是长期耐力运动缓解了NAFLD所导致的尿素循环障碍,提高了尿素循环中氨甲酰磷酸合酶I和鸟氨酸转氨甲酰酶的活性^[20,21],但是对精氨酸琥珀酸合酶活性的影响不大,所以导致高脂运动组大鼠血清中鸟氨酸明显下降,与正常组相似,而瓜氨酸略有下降,不过比正常组要高,精氨酸则低于正常组。

总之,非酒精性脂肪肝大鼠通过长期耐力运动消耗掉多余的脂肪,能够促使肝功能明显好转,且在一定程度上纠正了糖、脂肪和蛋白质代谢的紊乱。不过,本实验结果提示,仅仅依靠运动并不能完全纠正非酒精性脂肪肝大鼠三大能量物质代谢的紊乱。

[参考文献]

- [1] Yu A S, Keefe E B. Nonalcoholic fatty liver disease[J]. Rev Gastroenterol Disord, 2002(2): 11-19.
- [2] Howard C T. Non-alcoholic fatty liver disease: a massive problem[J]. Clinical Medicine, 2011, 11(2): 176-178.
- [3] Madhusudana G. The blind men "see" the elephant—the many faces of fatty liver disease[J]. World Journal of Gastroenterol, 2008, 14(6): 831-844.
- [4] Busetto L, Tregnaghi A. Liver volume and visceral obesity in women with hepatic steatosis undergoing gastric banding[J]. Obes Res, 2002(10): 408-411.
- [5] Fujikawa K, Ohata K. Nonalcoholic steatohepatitis with improved hepatic fibrosis after weight reduction[J]. Intern Med, 2004, 43: 289-294.
- [6] Kate H, Gulnar F, Kieren G H. Resistance exercise reduces liver fat and its mediators in onalcoholic fatty liver disease independent of weight loss[J]. Gut, 2011(60): 1 278-1 283.
- [7] 潘志军, 李丽, 符谦, 等. 有氧耐力训练对高脂饮食大鼠肥胖及糖代谢的影响[J]. 沈阳体育学院学报, 2009, 28(6): 77-81.
- [8] St George A, Bauman A, Johnston A, et al. Independent effects of physical activin patients with nonalcoholic fatty liver disease[J]. Hepatology, 2009, 50: 68-76.
- [9] Jan H. Effect of exercise on amino acid concentrations in skeletal muscle and plasma[J]. Exp Biol, 1991, 160: 149-165.
- [10] Anders H F, Leif H. Inverse relationship between protein intake and plasma free amino in healthy men at physical exercise[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2000, 278: E857-E867.

- [11] Margolis L M, Pasiakos S M, Karl J P. Differential effects of military training on fat-free mass and plasma amino acid adaptations in men and women[J]. *Nutrients*, 4(12) : 2 035–2 046.
- [12] Holm G, Sullivan L, Jagenburg R. Effects of physical training and lean body mass of plasma amino acids in man[J]. *Journal of Applied Physiology*, 1978, 45(2) : 177–181.
- [13] Armstrong M D, Stave U. Emergency care for acute poisoning with phosphororganic compounds[J]. *Metabolism*, 1973, 22(4) : 571–578.
- [14] 张蕴琨, 王斌, 蒋晓玲. 长期游泳训练后小鼠肝脏和骨骼肌游离氨基酸的变化及其机理的探讨[J]. *南京体育学院学报: 自然科学版*, 2002, 1(1) : 1–4.
- [15] Goldberg A L, Tischler M, DeMartino G. Hormonal regulation of protein degradation and synthesis in skeletal muscle[J]. *Fed Proc*, 1980, 39(1) : 31–36.
- [16] Svedenhag J, Henriksson J. Beta-adrenergic blockade and training in human subjects; effects on muscle metabolic capacity[J]. *American of Physiology Endocrinology and Metabolism*, 1984, 247(3) : E305–E311.
- [17] 沈同, 王镜岩. 生物化学[M]. 2 版. 北京: 高等教育出版社, 1995: 129–130.
- [18] Rose H M, Yoshimura N. Plasma amino acid patterns in hepatic encephalopathy of differing etiology[J]. *Gastroenterology*, 1977, 72: 483–489.
- [19] 曾凡星, 韦俊文. 定量负荷时血清氨基酸和支/芳变化的研究[J]. *荆州师专学报*, 1990(2) : 80–82.
- [20] 杨芊, 李兰娟. 慢性重型肝患者氨基酸谱研究[J]. *浙江医学*, 2000, 22: 586–588.
- [21] 杨艳玲, 孙芳, 钱宁, 等. 尿素循环障碍的临床和实验室筛查研究[J]. *中华儿科杂志*, 2005, 43(5) : 331–334.

[责任编辑: 黄 敏]