

## 29例轻微型肝性脑病患者血清中特异性代谢物

钟宇, 姚春, 姚凡, 黄国初, 王萌, 杨小微

### ■背景资料

轻微型肝性脑病 (minimal hepatic encephalopathy, MHE) 发病机制至今仍未阐明, 因此探讨MHE发病机制是目前需要解决的关键问题。代谢组学是一门用于研究生命体代谢物变化的新兴学科, 将此项技术应用于MHE发病机制研究已成为新的研究方向。

钟宇, 杨小微, 广西中医药大学 广西壮族自治区南宁市 530000

姚春, 姚凡, 黄国初, 王萌, 广西中医药大学第一附属医院肝病科 广西壮族自治区南宁市 530000

钟宇, 在读硕士, 主要从事肝性脑病中医药防治的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81160439

**作者贡献分布:** 姚春为课题总负责人; 此课题由姚春与姚凡设计; 病例收集由钟宇、王萌及杨小微完成; 实验过程由钟宇与黄国初依附上海交通大学第六人民医院转化医学中心贾伟代谢组学课题组完成; 数据分析、论文撰写由钟宇与黄国初完成; 论文修改及审阅由姚春、姚凡及黄国初完成。

**通讯作者:** 姚春, 主任医师, 530000, 广西壮族自治区南宁市青秀区东葛路89-9号, 广西中医药大学第一附属医院肝病科。1099464287@qq.com

收稿日期: 2015-09-21

修回日期: 2015-10-27

接受日期: 2015-11-03

在线出版日期: 2015-12-08

### Serum metabolic profiling in 29 patients with minimal hepatic encephalopathy

Yu Zhong, Chun Yao, Fan Yao, Guo-Chu Huang, Meng Wang, Xiao-Hui Yang

Yu Zhong, Xiao-Hui Yang, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Chun Yao, Fan Yao, Guo-Chu Huang, Meng Wang, Department of Liver Diseases, the First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

**Supported by:** the National Nature Science Foundation of China, No. 81160439

**Correspondence to:** Chun Yao, Chief Physician, Department of Liver Diseases, the First Affiliated Hospital of Guangxi

University of Chinese Medicine, 89-9 Dongge Road, Qingxiu District, Nanning 530000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. 1099464287@qq.com

Received: 2015-09-21

Revised: 2015-10-27

Accepted: 2015-11-03

Published online: 2015-12-08

### Abstract

**AIM:** To screen the specific biomarkers for minimal hepatic encephalopathy (MHE).

**METHODS:** Serum samples were collected from 50 normal volunteers and 29 MHE patients from February 2014 to August 2014 and tested using gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry. Principal components analysis and orthogonal partial least square discriminant analysis were performed to detect the specific metabolites of MHE.

**RESULTS:** Sixty different metabolites were found between MHE patients and normal volunteers, including homocysteine, taurine, docosahexaenoic acid, tyrosine, phenylalanine, valine, isoleucine, allo-isoleucine, etc.

**CONCLUSION:** Compared with normal controls, different serum metabolites were found in MHE patients. These metabolites might be specific biomarkers for MHE.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Minimal hepatic encephalopathy; Normal volunteers; Metabolite; Gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry

### ■同行评议者

毛德文, 教授, 主任医师, 广西中医药大学第一附属医院肝病科; 徐洪, 副主任医师, 上海复旦大学附属中山医院

Zhong Y, Yao C, Yao F, Huang GC, Wang M, Yang XH. Serum metabolic profiling in 29 patients with minimal hepatic encephalopathy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(34): 5452-5457 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5452.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i34.5452>

患者血清中特异性代谢物. *世界华人消化杂志* 2015; 23(34): 5452-5457 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5452.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i34.5452>

## ■ 研究前沿

近年来MHE越来越受到国内外学者的关注, MHE的代谢组学研究刚刚兴起, 其发病机制也尚不统一.

## 摘要

**目的:** 以正常人群(normal crowd, NC)为参照, 探索轻微型肝性脑病(minimal hepatic encephalopathy, MHE)患者血清中的差异性代谢物.

**方法:** 纳入于2014-02/2014-08间收集的50名NC和29例MHE患者血清样本, 采用气相色谱-飞行时间质谱仪(gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry, GC-TOFMS)代谢组学方法对所有样本进行检测, 并采用主成份分析(principal components analysis, PCA)和偏最小二乘分析(orthogonal partial least square discriminant analysis, OPLS-DA)方法来进行建模分析, 结合单维 $t$ 检验进行组间比较, 最终确定MHE组血清代谢谱特异性代谢物.

**结果:** 在MHE组血清中有60个与NC组血清相差异的代谢物中, 上调36种, 下调24种, 并且MHE组与NC组的代谢物具有显著差异. 上调的物质包括: 同型半胱氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸、去氧胆酸、别苏氨酸、焦谷氨酸等. 下调的物质包括: 二十二碳六烯酸、牛磺酸、维生素E、神经酸、缬氨酸、别异亮氨酸、异亮氨酸、草酸、甘露糖、4-氨基丁酸等.

**结论:** 与NC组比, MHE组血清中存在差异性代谢物, 这些代谢物可能为MHE患者的特异性生物标志物, 可有助于早期诊断MHE.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 轻微型肝性脑病; 正常人群; 代谢物; 气相色谱-飞行时间质谱

**核心提示:** 本研究通过比较正常人群和轻微型肝性脑病(minimal hepatic encephalopathy, MHE)患者血清中的代谢物, 发现MHE患者血清中存在差异性代谢物, 这些代谢物可能是MHE患者的特异性代谢物, 此有助于早期诊断MHE, 且佐证了血浆氨基酸失衡学说.

## 0 引言

轻微型肝性脑病(minimal hepatic encephalopathy, MHE)是肝性脑病(hepatic encephalopathy, HE)的一个特殊类型, 过去叫亚临床HE<sup>[1]</sup>, 通常无明显HE症状及体征, 需用精细智力或神经电生理检查才可见智力或神经、精神缺陷. MHE患者虽形似正常, 从事高空作业、机械或驾驶等工作时容易发生意外, 增加了道路交通及其他危险事故的发生率<sup>[2,3]</sup>. MHE在肝硬化中患病率为60%-70%, 如不进行治疗10%-30%可发展为HE<sup>[4,5]</sup>, 这将大大增加患者死亡率<sup>[6,7]</sup>. 目前没有单一的测验方法或一组测验方法能精确地排除非MHE患者及诊断MHE患者<sup>[8]</sup>, MHE发病机制迄今也尚未阐明, 因此探讨MHE认知功能障碍机制, 同时为早期临床诊断MHE提供有效可靠的工具, 是目前MHE研究中亟待解决的关键问题. 代谢组学是对某一生物或细胞所有代谢产物进行定性和定量分析的新兴学科, 其技术手段可用于研究生命体所有代谢物及其中间体种类、数量及其变化规律<sup>[9]</sup>. Jiménez等<sup>[10]</sup>运用<sup>1</sup>H-NMR对健康人、肝硬化及HE患者进行血清代谢组学检测, 通过对代谢物谱差异鉴别可以鉴定患者是否患MHE. 雷荣辉等<sup>[11]</sup>研究发现代谢组学分析技术在鉴别药物诱导代谢成分改变方面较传统技术更精确. 张宁等<sup>[12]</sup>运用代谢组学方法探讨逍遥散对大鼠肝纤维化保护作用的机制发现逍遥散抗肝纤维化的机制可能与改善肝功能、调节脂肪酸代谢等有关. 故将代谢组学技术应用于MHE发病机制及其防治作用机制研究已成为新的研究策略. 本文旨在对MHE患者血清中代谢谱的改变进行研究, 寻找出引起MHE的关键性差异代谢物, 从而为MHE认知功能障碍及其机制的阐明提供可能的依据, 同时也为MHE的早期诊断提供一种新的手段. 现将结果报道如下.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 本研究共收集79例受试者空腹血清样本, 其中29例是来源于广西中医药大学第一附属医院肝病科2014-02/2014-08住院期间符合纳入标准MHE<sup>[13]</sup>患者. MHE纳入的患者

钟宇, 姚春, 姚凡, 黄国初, 王萌, 杨小微. 29例轻微型肝性脑病

### ■ 相关报道

本研究结果表明MHE患者存在认知功能障碍, 这之前关于MHE患者形似正常但从事驾驶等工作时容易发生意外而增加交通事故的发生率相一致, 提示MHE患者存在认知功能障碍, 需引起重视。

为乙型肝炎肝硬化Child-Pugh分级为A或B级且NCT及DST同时异常者(乙型肝炎肝硬化诊断标准参照《慢性乙型肝炎防治指南》<sup>[14]</sup>, 肝硬化诊断及其分期标准参考《肝硬化中西医结合诊疗共识》<sup>[15]</sup>); 正常人群(normal crowd, NC)组50例为同期由广西中医药大学第一附属医院体检中心提供的健康人群。两组间(NC组和MHE组)性别、年龄等基线条件差异无统计学意义, 具可比性。气相色谱-飞行时间质谱仪(gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry, GC-TOFMS)购自EI公司; 低温冷冻冰箱购自青岛海尔; Thermo超低温冷冻冰箱购自美国Thermo Fisher Scientific公司; 低温高速离心机购自德国Eppendorf公司; 微型漩涡混合器来自江苏海门其林贝尔仪器制造有限公司; 电子分析天平购自德国Startorius公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 样本处理:** MHE患者与NC均为早晨(6:30-7:30)空腹抽血。获取的全血立即送去广西中医药大学第一附属医院实验室离心(3000 r/min, 离心15 min)获取血清, 取得血清后均第一时间储存于-80 °C冰箱待用。运输过程中以干冰作为冷链。血清溶解, 涡旋混匀后移取100 μL, 加入甲醇溶解的1 mg/mL的十七酸10 μL和水溶解的0.3 mg/mL氯苯丙氨酸10 μL, 混匀后加入混合溶剂(氯仿: 甲醇 = 1: 3)300 μL, 涡旋混匀, -20 °C静置10 min, 4 °C离心(10000 r/min, 离心15 min), 取300 μL上清液于1.5 mL高回收进样瓶中, 室温下真空干燥抽干后用氮气对样品再次干燥, 氮气吹干后加入15 mg/mL吡啶溶解的甲氧胺80 μL, 密封后振荡30 s, 30 °C摇床(220 r/min)反应90 min, 反应结束后, 在反应瓶中加入80 μL的BSFTA(含1%TMCS), 密封后振荡30 s, 70 °C反应60 min。反应结束后, 振荡10 s, 室温下放置1 h后进样分析。样本制备方法与上海交通大学第六人民医院转化医学中心贾伟代谢组学课题组已发表的文章基本一致<sup>[16-18]</sup>。

**1.2.2 样本质量控制与进样:** 本实验所有样本采用混合样本、内标等方式进行质量控制。进样过程中每100针换1次隔垫, 每10针插入1针混合样本, 并频繁插入若干空白, 以监控仪器状态并减少检测误差。

**1.2.3 代谢物质的鉴定:** 所有样本均采用GC-TOFMS平台进行检测, 利用上海交通大学自建的标准代谢物库和商用或公共数据代谢物

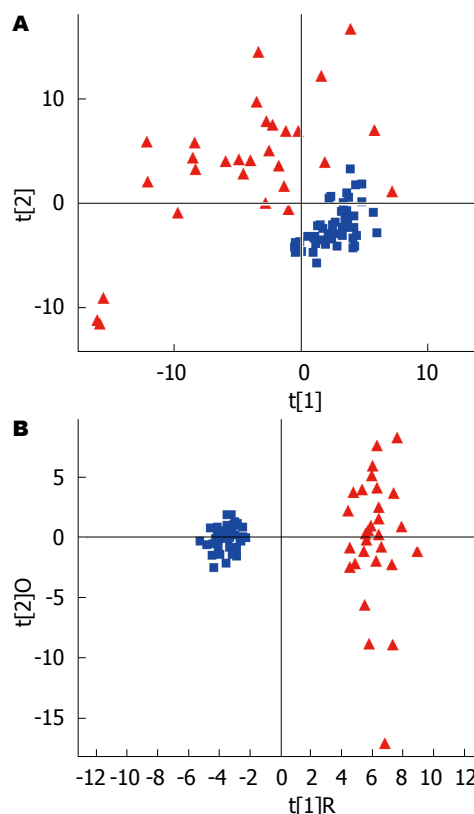


图 1 Score的模型. A: PCA模型; B: OPLS-DA模型. PCA: 主成份分析; OPLS-DA: 偏最小二乘分析。

库相结合进行代谢物质鉴定, 利用可鉴定物质对NC组和MHE组, 分别进行两两比对, 采用主成份分析(principal components analysis, PCA)和偏最小二乘分析(orthogonal partial least square discriminant analysis, OPLS-DA)来进行建模分析。

**统计学处理** 采用单维和多维统计方法相结合的方式对数据进行多角度分析。单维统计方法包括Fold Change(FC)指标、假设检验类等方法; 多维统计方法包括PCA、OPLS-DA等方法, 使用的软件主要有: SPSS(SPSS, Chicago, IL)、SIMCA-P12.0.1+(Umetrics, Umea, Sweden)、Excel(Microsoft, USA)以及上海交通大学自主开发的软件包等。P<0.05为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 NC组和MHE组的建模分析** 基于NC组和MHE组两两比建模分析, 得出各个模型的score图(图1)。其中PCA: 相同形状的符号代表同一症状实验组, 各点越集中说明同一症状个体差异小, 越分散表明个体差异大; OPLS-DA: 不同形状符号在这种建模中分散的特别开, 说

表 1 NC组和MHE组血清中的差异代谢物(60种)

代谢物	VIP	FC	P值
同型半胱氨酸	1.29	2.34	$4.47 \times 10^{-4}$
酪氨酸	2.07	2.17	$1.41 \times 10^{-9}$
苯丙氨酸	1.97	1.59	$1.29 \times 10^{-8}$
腺嘌呤	2.48	2.00	$7.20 \times 10^{-15}$
甘氨酸去氧胆酸	2.44	15.47	$3.85 \times 10^{-14}$
海藻糖	2.34	2.00	$9.45 \times 10^{-13}$
鼠李糖	1.63	3.27	$5.67 \times 10^{-6}$
别苏氨酸	2.33	1.54	$1.31 \times 10^{-12}$
柠檬酸	1.45	1.64	$7.20 \times 10^{-5}$
牛磺胆酸	1.74	7.53	$9.86 \times 10^{-7}$
羟基乙酸	1.84	1.94	$1.66 \times 10^{-7}$
甘氨酸猪胆酸	2.19	11.25	$7.88 \times 10^{-11}$
异亮氨酸-脯氨酸-赖氨酸	1.22	6.16	$1.01 \times 10^{-3}$
牛磺熊去氧胆酸	1.62	8.30	$6.59 \times 10^{-6}$
牛磺鹅脱氧胆酸	2.00	10.38	$7.65 \times 10^{-9}$
甘氨酸熊脱氧胆酸	2.14	15.22	$2.67 \times 10^{-10}$
... <sup>1</sup>	...	...	...
二十二碳六烯酸	1.93	0.51	$2.83 \times 10^{-8}$
鞘氨醇	1.98	0.28	$1.12 \times 10^{-8}$
牛磺酸	1.46	0.57	$6.03 \times 10^{-5}$
神经酸	1.47	0.83	$5.57 \times 10^{-5}$
缬氨酸	2.22	0.61	$3.63 \times 10^{-11}$
异亮氨酸	1.83	0.66	$1.92 \times 10^{-7}$
别异亮氨酸	1.82	0.70	$2.66 \times 10^{-7}$
维生素E	1.53	0.48	$2.51 \times 10^{-5}$
草酸	2.16	0.57	$1.61 \times 10^{-10}$
甲状腺素	1.66	0.25	$3.84 \times 10^{-6}$
肌苷	1.29	0.39	$4.81 \times 10^{-4}$
2-氨基丁酸	1.06	0.72	$4.60 \times 10^{-3}$
4-氨基丁酸	1.14	0.57	$2.21 \times 10^{-3}$
亮氨酸-甘氨酸	1.45	0.52	$7.37 \times 10^{-5}$
... <sup>2</sup>	...	...	...

<sup>1</sup>只列出部分上调代谢物, 其余没有列出; <sup>2</sup>只列出部分下调代谢物, 其余没有列出. NC: 正常人群; MHE: 轻微型肝性脑病.

明两者有明显差异.

2.2 代谢组学技术检测MHE血清 运用GC-TOFMS平台的代谢组学技术, 基于PCA、OPLS-DA模型, 结合 $t$ 检验方法, 血清中可检测到200多种代谢物. 从OPLS-DA模型中获得VIP值, MHE组和正常组血清代谢物质的比值为FC,  $FC \geq 1$ 表明MHE组患者物质上调,  $FC < 1$ 表明MHE组患者物质下调,  $P$ 值从 $t$ 检验中获得, 其中 $4.47 \times 10^{-4} < 0.05$ , VIP值 $> 1$ ,  $P < 0.05$ , 说明对应的成分是差异性成分. 以NC组为参照, 基于GC-TOFMS平台的血清代谢组学技术可检测到MHE血清中60种差异性代谢物(表1),

其中上调36种, 下调24种, 并且MHE组与NC组的代谢物具有显著差异. 上调的物质包括: 同型半胱氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸去氧胆酸、别苏氨酸、焦谷氨酸等. 下调的物质包括: 二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)、牛磺酸、维生素E、神经酸、缬氨酸、别异亮氨酸、异亮氨酸、草酸、甘露糖、4-氨基丁酸等.

### 3 讨论

本研究结果表明, MHE患者存在特异性代谢物, 此有助于研究MHE的发病机制, 可能为MHE的

### 创新盘点

本文通过对MHE患者血清中代谢物检测, 进行分析, 并与NC进行比较, 寻找MHE相关的代谢生物标志物, 观点较新颖.



# 名词解释

**主成份分析:** 将多个变量通过线性变换以选出较少个数重要变量的一种多元统计分析方法;  
**偏最小二乘分析:** 是一种有监督的模式识别方法, 本文用于确定正常人群和MHE血清中的差异性代谢物。

早期诊断提供一种新的手段。例如上调的同型半胱氨酸, 目前已有研究表明同型半胱氨酸水平过高即所谓的高半胱氨酸血症, 可能为认知功能障碍的独立危险因素<sup>[19]</sup>, 通过其神经毒性作用和对脑血管的损害<sup>[20]</sup>, 引起或促进患者认知功能障碍的发展<sup>[21]</sup>。体内同型半胱氨酸主要通过两条途径代谢即甲基化途径和转硫途径, 甲基化途径维生素B12和叶酸是辅酶, 转硫途径维生素B6是辅酶<sup>[22]</sup>。肝脏可储存脂溶性的维生素, 而肝功能障碍时, 肝脏储存的脂溶性维生素代谢发生异常, 从而可能引起血清中同型半胱氨酸代谢发生障碍。其成分在MHE患者血清中上调, 可能与其肝功能受损后脂溶性维生素代谢异常引起患者认知功能障碍有关。再如下调的DHA, 他是目前比较公认大脑神经细胞膜的重要构成成分, 参与许多大脑功能调节的认知功能, 如神经传递和调节信号转导途径<sup>[23,24]</sup>。Fontani等<sup>[25]</sup>研究发现DHA补充剂在年轻健康成人中可以改善大脑高级功能, 例如: 幸福感(活力)、反应、注意力、认知能力和情绪。而DHA人体是不能自行合成的, 只能从食物中获取<sup>[26]</sup>。而肝功能障碍的患者往往会因为胃肠道淤血、消化吸收障碍、肠道菌群失调等因素引起消化不良, 使患者血清中其含量会下降, MHE患者血清中其成分下调, 有可能与其肝功能减退后消化不良造成有关, 而出现记忆力及其反应速度下降。JiLu等<sup>[27]</sup>研究表明在锰积聚引起的慢性神经毒性大鼠动物实验研究中发现, 牛磺酸可提高其学习与记忆能力。在人体内, 牛磺酸主要是由半胱氨酸等含硫氨基酸在肝脏合成<sup>[28,29]</sup>, 而之前提到的同型半胱氨酸在肝功能障碍时代谢发生异常, 使体内分解产生的半胱氨酸减少导致合成牛磺酸减少。MHE患者血清中牛磺酸的含量降低, 可能与MHE患者会出现计算力、记忆力下降和认知功能障碍有关。而代谢物中有很多脂类、糖类上调下调暗示MHE患者肝功能受损时血清中糖、脂肪、蛋白质代谢紊乱。同时在本次研究的MHE患者血清中, 缬氨酸、别异亮氨酸和异亮氨酸水平降低, 而苯丙氨酸及酪氨酸水平升高, 提示MHE患者血清中芳香族氨基酸(aromatic amino acid, AAA)水平增加, 而支链氨基酸(branched chain amino acid, BCAA)水平降低, 导致MHE患者血清中BCAA/AAA比值明显降低, 佐证了MHE的“血浆氨基酸失衡学说<sup>[30]</sup>”。

**志谢:** 非常感谢上海交通大学第六人民医院转化医学中心贾伟代谢组学课题组提供的热情帮助。

## 参考文献

- 1 Ferenci P, Lockwood A, Mullen K, Tarter R, Weissenborn K, Blei AT. Hepatic encephalopathy-definition, nomenclature, diagnosis, and quantification: final report of the working party at the 11th World Congresses of Gastroenterology, Vienna, 1998. *Hepatology* 2002; 35: 716-721 [PMID: 11870389 DOI: 10.1053/jhep.2002.31250]
- 2 Bajaj JS, Saeian K, Schubert CM, Hafeezullah M, Franco J, Varma RR, Gibson DP, Hoffmann RG, Stravitz RT, Heuman DM, Sterling RK, Shiffman M, Topaz A, Boyett S, Bell D, Sanyal AJ. Minimal hepatic encephalopathy is associated with motor vehicle crashes: the reality beyond the driving test. *Hepatology* 2009; 50: 1175-1183 [PMID: 19670416 DOI: 10.1002/hep.23128]
- 3 Wang JY, Zhang NP, Chi BR, Mi YQ, Meng LN, Liu YD, Wang JB, Jiang HX, Yang JH, Xu Y, Li X, Xu JM, Zhang G, Zhou XM, Zhuge YZ, Tian DA, Ye J, Liu YL. Prevalence of minimal hepatic encephalopathy and quality of life evaluations in hospitalized cirrhotic patients in China. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 4984-4991 [PMID: 23946605 DOI: 10.3748/wjg.v19.i30.4984]
- 4 Abram SE, Marsala M, Yaksh TL. Analgesic and neurotoxic effects of intrathecal corticosteroids in rats. *Anesthesiology* 1994; 81: 1198-1205 [PMID: 7978478 DOI: 10.1097/00132586-199510000-00050]
- 5 Bajaj JS. Minimal hepatic encephalopathy matters in daily life. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 3609-3615 [PMID: 18595126 DOI: 10.3748/wjg.14.3609]
- 6 Poordad FF. Review article: the burden of hepatic encephalopathy. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 25 Suppl 1: 3-9 [PMID: 17295846 DOI: 10.1111/j.1746-6342.2006.03215.x]
- 7 Dhiman RK, Kurmi R, Thumburu KK, Venkataramarao SH, Agarwal R, Duseja A, Chawla Y. Diagnosis and prognostic significance of minimal hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis of liver. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 2381-2390 [PMID: 20508990 DOI: 10.1007/s10620-010-1249-7]
- 8 Lauridsen MM, Jepsen P, Vilstrup H. Critical flicker frequency and continuous reaction times for the diagnosis of minimal hepatic encephalopathy: a comparative study of 154 patients with liver disease. *Metab Brain Dis* 2011; 26: 135-139 [PMID: 21484318 DOI: 10.1007/s11011-011-9242-1]
- 9 MacIntyre DA, Jiménez B, Lewintre EJ, Martín CR, Schäfer H, Ballesteros CG, Mayans JR, Spraul M, García-Conde J, Pineda-Lucena A. Serum metabolome analysis by 1H-NMR reveals differences between chronic lymphocytic leukaemia molecular subgroups. *Leukemia* 2010; 24: 788-797 [PMID: 20090781 DOI: 10.1038/leu.2009.295]
- 10 Jiménez B, Montoliu C, MacIntyre DA, Serra MA, Wassel A, Jover M, Romero-Gomez M, Rodrigo JM, Pineda-Lucena A, Felipe V. Serum metabolic

- signature of minimal hepatic encephalopathy by (1)H-nuclear magnetic resonance. *J Proteome Res* 2010; 9: 5180-5187 [PMID: 20690770 DOI: 10.1021/pr100486e]
- 11 雷荣辉, 王青秀, 颜贤忠, 吴纯启, 廖明阳, 肖小河, 王全军. 利用1H-NMR技术研究大霉素染毒后大鼠内源性代谢物的改变. *药物评价研究* 2015; 38: 29-35
  - 12 张宁, 方衡, 王雪, 张春胜, 刘斌, 赵旭, 耿放. 逍遥散对实验性肝纤维化大鼠模型干预作用的代谢组学研究. *药物分析杂志* 2014; 34: 588-594
  - 13 中华医学会消化病学分会, 中华医学会肝病学会. 中国肝性脑病诊治共识意见. *中华消化杂志* 2013; 9: 581-592
  - 14 中华医学会肝病学会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南. *临床肝胆病杂志* 2011; 27: 1-16
  - 15 中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会. 肝硬化中西医结合诊疗共识. *中国中西医结合消化杂志* 2011; 19: 277-279
  - 16 郑海生, 蒋健, 贾伟, 贺敏, 蒋梅先, 阮小芬, 苏明明, 吴建兵. 慢性心力衰竭肾阳虚证患者代谢组学研究. *中华中医药杂志* 2010; 25: 198-201
  - 17 Liu Y, Chen T, Qiu Y, Cheng Y, Cao Y, Zhao A, Jia W. An ultrasonication-assisted extraction and derivatization protocol for GC/TOFMS-based metabolite profiling. *Anal Bioanal Chem* 2011; 400: 1405-1417 [PMID: 21448603 DOI: 10.1007/s00216-011-4880-z]
  - 18 Dai G, Jia W, Hu X, Xu LX. Study of thermal effect on breast tumor metabolism and growth using metabolomics. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 2013; 2013: 1899-1902 [PMID: 24110083 DOI: 10.1109/EMBC.2013.6609896]
  - 19 Kim G, Kim H, Kim KN, Son JI, Kim SY, Tamura T, Chang N. Relationship of cognitive function with B vitamin status, homocysteine, and tissue factor pathway inhibitor in cognitively impaired elderly: a cross-sectional survey. *J Alzheimers Dis* 2013; 33: 853-862 [PMID: 23042212 DOI: 10.3233/JAD-2012-121345]
  - 20 Karamoysoyli E, Burnand RC, Tomlinson DR, Gardiner NJ. Neuritin mediates nerve growth factor-induced axonal regeneration and is deficient in experimental diabetic neuropathy. *Diabetes* 2008; 57: 181-189 [PMID: 17909094 DOI: 10.2337/db07-0895]
  - 21 朱阿娣, 周俊山, 张颖冬. 脑小血管病患者认知功能障碍与血浆同型半胱氨酸的关系. *中华全科医学* 2014; 12: 1745-1747
  - 22 马晓茜, 高允生, 周延萌, 宋立群. 同型半胱氨酸的体内代谢及测定方法. *泰山医学院学报* 2009; 30: 75-77
  - 23 Dyll SC, Michael-Titus AT. Neurological benefits of omega-3 fatty acids. *Neuromolecular Med* 2008; 10: 219-235 [PMID: 18543124 DOI: 10.1007/s12017-008-8036-z]
  - 24 Nilsson A, Radeborg K, Salo I, Björck I. Effects of supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids on cognitive performance and cardiometabolic risk markers in healthy 51 to 72 years old subjects: a randomized controlled cross-over study. *Nutr J* 2012; 11: 99 [PMID: 23173831 DOI: 10.1186/1475-2891-11-99]
  - 25 Fontani G, Corradeschi F, Felici A, Alfatti F, Migliorini S, Lodi L. Cognitive and physiological effects of Omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation in healthy subjects. *Eur J Clin Invest* 2005; 35: 691-699 [PMID: 16269019 DOI: 10.1111/j.1365-2362.2005.01570.x]
  - 26 Calderon F, Kim HY. Docosaheaxaenoic acid promotes neurite growth in hippocampal neurons. *J Neurochem* 2004; 90: 979-988 [PMID: 15287904 DOI: 10.1111/j.1471-4159.2004.02520.x]
  - 27 jiLu CL, Tang S, Meng ZJ, He YY, Song LY, Liu YP, Ma N, Li XY, Guo SC. Taurine improves the spatial learning and memory ability impaired by sub-chronic manganese exposure. *J Biomed Sci* 2014; 21: 51 [PMID: 24885898 DOI: 10.1186/1423-0127-21-51]
  - 28 Park E, Park SY, Dobkin C, Schuller-Levis G. Development of a novel cysteine sulfinic Acid decarboxylase knockout mouse: dietary taurine reduces neonatal mortality. *J Amino Acids* 2014; 2014: 346809 [PMID: 24639894 DOI: 10.1155/2014/346809]
  - 29 赵丽芳, 李芳, 刘敬, 卢祖琳. 牛磺酸及其对中枢神经系统的保护作用. *中华实用儿科临床杂志* 2015; 30: 635-637
  - 30 Ghosh S, van Heel D, Playford RJ. Probiotics in inflammatory bowel disease: is it all gut flora modulation? *Gut* 2004; 53: 620-622 [PMID: 15082574 DOI: 10.1136/gut.2003.034249]

#### 同行评价

本文提出通过对“轻微型肝性脑病患者血清中代谢物”检测, 进行分析, 并与正常人群进行比较, 寻找MHE相关的代谢生物标志物. 观点较新颖, 该文章选题较好, 目的性强, 数据详实, 有一定的科学价值.

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利

