

文章编号:1673-1689(2010)06-0836-06

壳聚糖降低脂质过氧化作用的研究

刘静娜¹, 张家骊², 夏文水^{*3}

(1. 漳州师范学院 生物科学与技术系, 福建 漳州 363000; 2. 江南大学 医药学院, 江苏 无锡 214122; 3. 食品科学与技术国家重点实验室 江南大学食品学院, 江苏 无锡 214122)

摘 要: 通过体外油脂抗氧化试验, 与常规抗氧化剂 VC 进行对照; 大鼠喂养试验, 测定体内脂质过氧化的指标。添加质量分数为 0.02% 的壳聚糖对猪油和粗榨菜油均有抗氧化作用, 但不如等量 VC 效果明显, 但当添加质量分数增大为 0.05% 后, 壳聚糖与 VC 在实验后期抗氧化能力接近; 壳聚糖能显著降低大鼠高脂饮食引起的血清游离脂肪酸浓度上升, 降低脂质过氧化物代谢产物丙二醛的含量, 提高机体主要的抗氧化酶超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和谷胱甘肽过氧化物酶的活性。因此, 壳聚糖能通过调节体内抗氧化酶活性来改善脂质过氧化的状况。

关键词: 壳聚糖; 抗氧化; 脂质

中图分类号: TS 201.2

文献标识码: A

Study on the Reduction of Lipid Peroxidization by Chitosan

LIU Jing-na¹, ZHANG Jia-li², XIA Wen-shui^{*3}

(1. Department of Biological Sciences and Biotechnology, Zhangzhou Normal University, Zhangzhou 363000, China; 2. School of Medicine and Pharmaceutics, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 3. State Key Laboratory of Food Science and Technology, School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: The in vitro and in vivo effect of chitosan on the reduction of lipid peroxidization was studied in this manuscript. The results showed that chitosan at an addition of 0.02% had anti-oxidation effect on the lard and crude rape oil, but the activity was worse than that of ascorbic acid. 0.05% chitosan and ascorbic acid exhibited the similar activity on the lipid peroxidization. And the chitosan significantly reduced the concentrations of serum free fatty acid and Malondialdehyde and but increased the activities of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase. Those results demonstrated that chitosan decreased the lipid peroxidization through regulating the anti-oxidation enzyme activities.

Key words: chitosan, anti-oxidation, lipid

收稿日期: 2009-10-12

基金项目: 国家自然科学基金项目(20571034, 20876068); 食品科学与技术国家重点实验室目标导向项目(SKLF-MB-200805); 江苏省重点成果转化项目(BA2009082); 福建省青年科技人才创新项目(2009J05038); 漳州师范学院博士启动课题项目(L20812)。

作者简介: 刘静娜(1980—), 女, 江苏江阴人, 工学博士, 讲师, 主要从事功能性食品与食品生物技术的研究。

Email: liujingna@yahoo.cn

*** 通信作者:** 夏文水(1958—), 男, 江苏南京人, 工学博士, 教授, 博士生导师, 主要从事功能性食品与食品生物技术的研究。Email: xiaws@jiangnan.edu.cn

油脂是一类极易被氧化的物质,而人体中也存在着大量脂类物质,一旦体内氧自由基数量增多时,会造成脂质过氧化反应增强,机体抗氧化能力下降,产生大量过氧化脂质,氧化低密度脂蛋白,导致血管内皮细胞受损,从而促使脂质沉积,促进动脉粥样斑块的形成^[1],甚至还会刺激机体产生许多细胞因子如生长因子、趋化因子等,导致平滑肌细胞增殖迁移、炎性细胞吞噬氧化的脂质及免疫细胞损伤和迁移等,进一步加重动脉粥样硬化^[2]。氧自由基主要包括超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)和羟自由基($\cdot OH$),均能引起脂质过氧化^[3]。因此,有必要使用抗氧化剂以清除体内氧自由基、维护人体健康。

近年来,壳聚糖及其衍生物的抗氧化活性得到了越来越多的关注^[4-5]。研究者在体外化学体系中已做了一些研究,发现壳聚糖能有效清除超氧阴离子自由基^[6]、羟基自由基^[7]、亚油酸脂类自由基^[8]等活性自由基,具有较高的还原能力,而且不同分子量的壳聚糖显示的抗氧化效果有所差别^[9]。同时,对壳聚糖衍生物的体外抗氧化活性研究也较多,在壳聚糖分子上接上不同的基团^[10-11]或将壳聚糖吸收进入纳米粒子^[12],均表现出了比单一成分更优良的抗氧化能力。在人脐静脉血管内皮细胞^[13]和动物^[14-15]等活体模型内,壳聚糖也能显著抑制氧自由基的产生,减少血清和肝脏中脂质过氧化产物丙二醛(MDA)的含量,增加抗氧化酶如过氧化氢酶(CAT)和超氧化物歧化酶(SOD)的活性,减轻体内脂质过氧化水平,增强抗氧化能力。壳聚糖良好的降脂能力也与其降低体内脂质过氧化水平密切相关,作者所在实验室已在这方面进行了一些初步研究^[16-17]。

本文将壳聚糖加入到食用油脂中测定其延缓油脂氧化的作用,并对大鼠饲喂壳聚糖,探讨其在体内对脂质氧化的调节作用,为壳聚糖在食品中的进一步应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

壳聚糖:作者所在实验室自制,脱乙酰度为90%,粘均相对分子质量为 4.99×10^5 ;游离脂肪酸(FFA)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)测定试剂盒:购自南京建成生物有限公司;猪油:市售;粗榨菜油:市售;其余试剂均为国产分析纯试剂。

1.2 实验动物及饲料

雄性SD大鼠:清洁级,体重(120±10)g,购自浙江省实验动物中心,批号:SCXK(浙)2003-0001。所有动物在适宜的环境中饲喂(自然采光,温度为(22±1)℃,相对湿度为50~60%),适应一周后开始进食受试物。饲料配方见表1,其中,胆固醇购自上海蓝季科技发展有限公司;动物普通饲料、纤维素、胆盐购自上海斯莱克实验动物有限责任公司;蛋黄粉购自南京青龙山实验动物繁殖中心。猪油,市售。

表 1 饲料配方
Tab. 1 Composition of the experimental diets

饲料成分	高脂组质量分数/%	壳聚糖组质量分数/%
普料*	70	70
纤维素	5	
壳聚糖		5
猪油	12	12
蛋黄粉	10	10
胆固醇	3	3
胆盐	0.3	0.3

* 普料成分符合 GB14924.3 实验动物全价营养饲料

1.3 壳聚糖对油脂的抗氧化能力

采用 Schaal 烘箱法:取 50 g 油样,放入 100 mL 烧杯中,敞口,按一定量加入壳聚糖以及对照品 VC,混合均匀,将油样放入(60±0.5)℃恒温培养箱中强化保存,每隔 24 h 搅拌一次,并交换它们在培养箱中的位置,定期测定油样的过氧化值(POV),同时以不加任何抗氧化剂的为空白,作对照比较。POV 值达到 11.8 meq/kg 时即为诱导终点,此时所经历的天数为诱导时间。

POV 的测定参照 GB/T5009.37-1995 的方法。过氧化值(POV: meq/kg) = $(V_1 - V_2) \times N \times 1\,000/W$,其中: V_1 :油样消耗 $Na_2S_2O_3$ 标准溶液的体积(mL); V_2 :空白消耗 $Na_2S_2O_3$ 标准溶液的体积(mL); N : $Na_2S_2O_3$ 标准溶液的物质的量浓度(mol/L); W :油样质量(g)。

1.4 壳聚糖在大鼠体内抗氧化实验

实验动物共分 3 组,每组 8 只,分别为普料对照组(NF)、高脂对照组(HF)和壳聚糖组(CIS),分别饲喂普通饲料、高脂饲料和含质量分数 5%壳聚糖的高脂饲料,饲料由动物自由食用。实验持续 6 周,在结束时,大鼠禁食 18 h,眼球取血,离心得血清,测定血清中游离脂肪酸(FFA)、丙二醛(MDA)

含量以及超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)的活力,测定方法根据试剂盒说明操作。

1.5 数据统计

数据用 SAS 统计软件进行处理,以均值±标准差表示,组间比较再用 Student-Newman-Kuels 法即多个样本均数之间每两个均数之间的比较的 q 检验进行统计处理, $p<0.05$ 视为差异显著。

2 结果与讨论

2.1 壳聚糖对油脂的抗氧化能力

2.1.1 壳聚糖在猪油中的抗氧化作用 以新鲜熬制的猪油为反应体系,研究了壳聚糖的抗氧化能力,结果如图 1 所示。在实验过程的前 6 d,加入 VC 和壳聚糖的油样的 POV 值均与空白几乎相同。从第 8 d 开始,油样的过氧化值有了区别,但还不明显。随后的 2 d 里,POV 值急剧分化,加壳聚糖的油样的 POV 值高于加入 VC 的,但低于空白样,说明壳聚糖具有抗猪油氧化的作用,但不如常规抗氧化剂 VC 效果明显。VC 是一种常见的抗氧化剂,但壳聚糖与 VC 有不同的抗氧化机理。VC 具有极强的还原性,与油脂中的氧发生反应,自身被氧化,从而使油脂中氧浓度降低,减缓油脂的被氧化。壳聚糖主要可能是通过提供 H^+ 以清除自由基^[8],阻断了油脂氧化的反应链,从而发挥抗氧化作用。

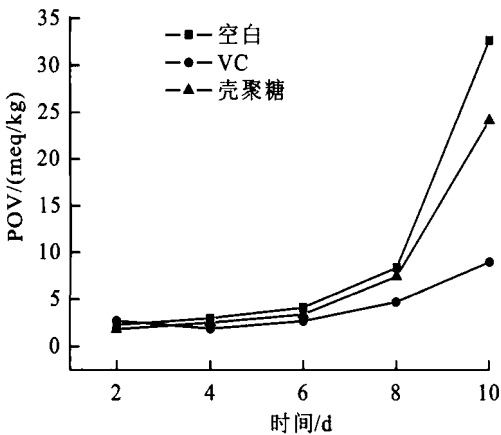


图 1 壳聚糖在猪油中的抗氧化作用

Fig. 1 Antioxidative activity of chitosan in lard

2.1.2 壳聚糖在菜籽油中的抗氧化作用 以市售的粗榨菜油作为反应体系,研究了壳聚糖对植物油的抗氧化作用,结果如图 2 和 3 所示。在图 2 中,实验中期(第 2、3 d),加入壳聚糖与 VC 的油样有相近 POV,均未达到诱导终点。在第 4 d,加壳聚糖的油已达到诱导终点,而加 VC 的油样还略差一点。此结果表明,壳聚糖在植物油中有抗氧化能力,但效果差于 VC。

为了更明显地表现出 2 种添加剂对油样的抗氧化效果,添加剂的质量分数从原先的 0.02% 增加为 0.05%,结果如图 3 所示。增加添加量以后,壳聚糖与 VC 两者之间的抗氧化作用的差异加大了,但在第 3 d 以后,加 VC 的油样的 POV 上升速度较快,这可能是由于在实验前期油中大部分 VC 已被转化。壳聚糖的抗氧化性一直比较平稳,无转折点。

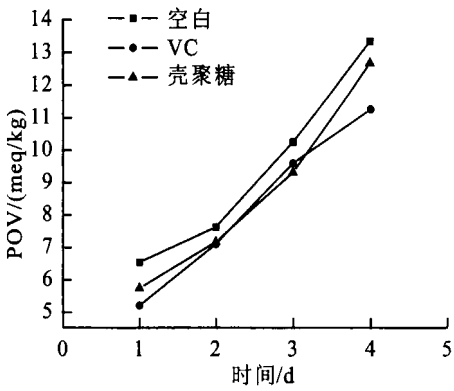


图 2 添加质量分数为 0.02% 的壳聚糖在菜籽油中的抗氧化作用

Fig. 2 Antioxidative activity of 0.02% chitosan in rapeseed oil

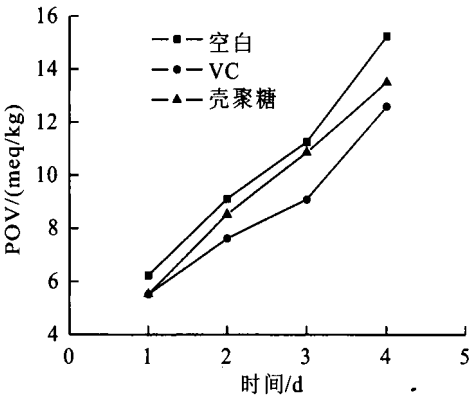


图 3 添加质量分数为 0.05% 的壳聚糖在菜籽油中的抗氧化作用

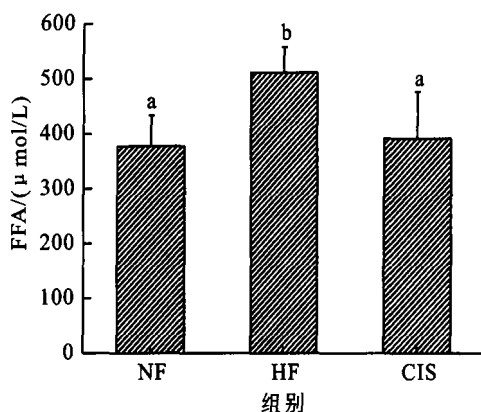
Fig. 3 Antioxidative activity of 0.05% chitosan in rapeseed oil

从以上结果显示,壳聚糖在体外对油脂的抗氧化能力并不明显,量大时效果略显著。这可能与本研究所选用的壳聚糖的性质有关,壳聚糖性质对其活性影响较大,以往的研究表明^[9],分子量较低的壳聚糖抗氧化效果更显著,而本研究中所用壳聚糖分子量偏大,因此,并未表现出优良的体外抗氧化能力。

2.2 壳聚糖对高脂血症大鼠抗氧化作用

2.2.1 壳聚糖对血清游离脂肪酸的影响 血中的游离脂肪酸(FFA)主要由皮下和内脏脂肪脂解产生^[18],血清中 FFA 浓度反映了机体释放和摄取 FFA 之间的平衡^[19]。FFA 和氧自由基均参与了肝脏脂质过氧化损伤,FFA 可导致肝细胞线粒体肿胀

和通透增加、肝细胞变性坏死和炎细胞浸润,不仅有直接细胞毒性,而且可以诱导肝 CYP2E1 的高表达和加强 TNF- α 的毒性^[20]。



注:任意两组间,不含相同小写字母,则 $p < 0.05$,下同。

图 4 大鼠血清游离脂肪酸含量

Fig. 4 Plasma free fatty acid concentration in rats of the NF, HF and CIS group

图 4 为大鼠血清中 FFA 的含量。HF 组大鼠血清 FFA 水平显著高于 NF 组,说明大鼠体内发生了脂肪代谢紊乱,造成了大量 FFA 入血;CIS 组大鼠血清 FFA 含量略高于 NF 组,表明壳聚糖能调整高脂饮食引起的脂肪代谢紊乱,保护血管内皮细胞受损,防止动脉粥样硬化的生成。

2.2.2 壳聚糖对血清 MDA 的影响 自由基造成生物体系损伤的重要因素是产生脂质过氧化物,其中最主要的是 MDA。MDA 作为细胞膜不饱和脂肪酸过氧化反应的最终产物,可反映机体内脂质过氧化的程度,即 MDA 含量的增减代表着脂质过氧化作用的强弱,间接反映出细胞的受损程度。

图 5 为大鼠血清中 MDA 含量。从图可见,HF 组大鼠的血清 MDA 含量显著高于 NF 组,说明高脂饮食诱导大鼠的体内发生了脂质过氧化反应,使得血清中脂质过氧化物的产物 MDA 含量显著升高;CIS 组大鼠血清 MDA 含量水平与 NF 组相近,说明壳聚糖能抑制脂质过氧化。

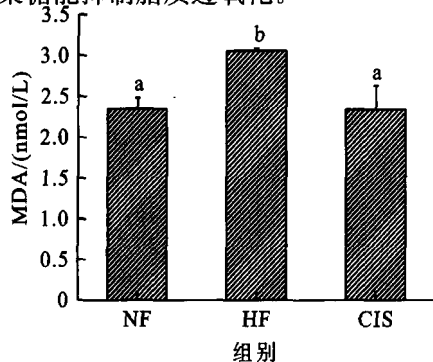


图 5 大鼠血清 MDA 含量

Fig. 5 Plasma MDA concentration in rats of the NF, HF and CIS group

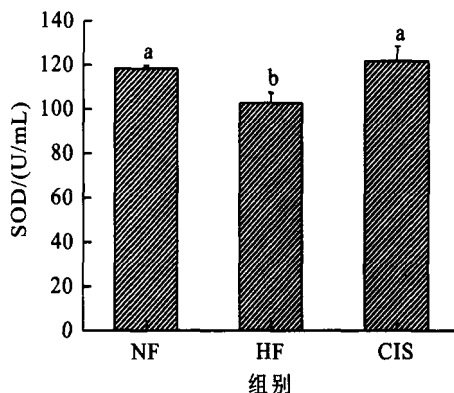


图 6 大鼠血清 SOD 活性

Fig. 6 Plasma SOD activities in rats of the NF, HF and CIS group

2.2.3 壳聚糖对血清过氧化物酶(SOD、CAT、GSH-PX)的影响 超氧化物歧化酶(SOD)是一种广泛存在于生物体内、与细胞氧化代谢密切相关的酶,是体内清除超氧阴离子自由基的主要酶,SOD 活力的高低反映了机体抗氧化的能力。图 6 体现了各组大鼠血清 SOD 活性,HF 组大鼠血清 SOD 活性显著低于 NF 组,表明体内 SOD 清除氧自由基的能力降低,可使氧自由基大量产生;CIS 组大鼠血清 SOD 活性与 NF 组无明显差异,甚至略高,表明壳聚糖能显著增强 SOD 活性,从而增强机体清除自由基能力。

过氧化氢酶(CAT)是机体内广泛存在的一种重要的催化过氧化氢分解的酶,能清除氧自由基反应生成的过氧化氢,使其成为无毒的水,保护机体组织免受损害。CAT 属于机体抗氧化系统中酶系统的重要组成部分之一,在清除自由基的过程中,与 SOD 具有协同作用。因而 CAT 含量的多少,亦为衡量机体抗氧化能力大小的重要因素。图 7 为各组大鼠血清 CAT 活性,HF 组大鼠血清 CAT 活性显著低于 NF 组,表明机体清除过氧化氢的能力减弱;CIS 组大鼠血清 CAT 活性在 NF 组和 HF 组之间,表明壳聚糖能适当增强 CAT 活性。

谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)是机体存在的一种含硫清除自由基和抑制自由基反应的酶系统,可将过氧化氢分解,并可清除 MDA 和其它过氧化产物,阻止体内自由基引起的膜脂质过氧化,属于体内较为主要的抗氧化酶之一。图 8 为各组大鼠血清 GSH-PX 活性,HF 组大鼠血清 GSH-PX 活性显著低于 NF 组,表明机体对氧化产物清除能力的减弱;CIS 组大鼠血清 GSH-PX 活性与 NF 组相近,表明壳聚糖能增强 GSH-PX 活性,减少过氧化对机体的伤害。

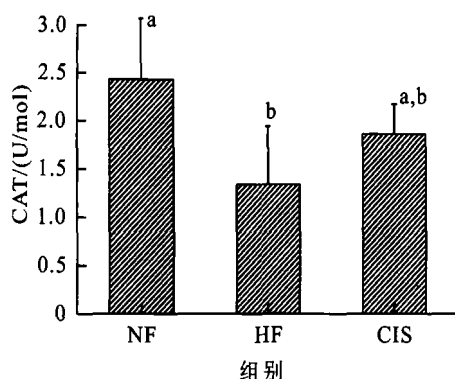


图 7 大鼠血清 CAT 活性

Fig. 7 Plasma CAT activities in rats of the NF, HF and CIS group

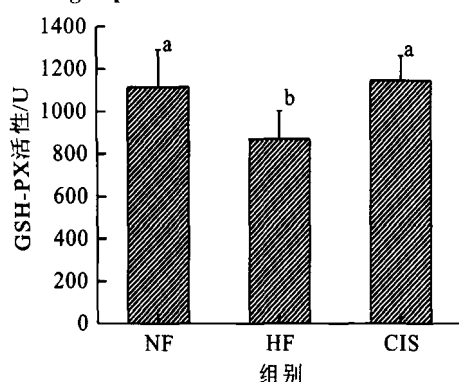


图 8 大鼠血清 GSH-PX 活性

Fig. 8 Plasma GSH-PX activities in rats of the NF, HF and CIS group

正常生理情况下,机体内自身的抗氧化系统与体内不断产生的活性氧保持着动态平衡,使组织免受损伤。当机体受到损伤时,体内活性氧自由基增多,脂质过氧化反应加剧;脂质过氧化产物如丙二醛等醛类,可损伤组织细胞的膜性结构,使细胞膜的流动性和通透性发生障碍,引起细胞功能失调甚至破裂、死亡,从而导致组织细胞功能的损伤。高脂饮食、肥胖等因素可导致 FFA 的摄入、产生增多和利用减少,FFA 加强脂质过氧化反应损伤肝细胞。血脂代谢异常可引起自由基代谢紊乱,当血脂

升高时,过多脂质沉积于血管内皮,使内皮产生的抗氧化酶含量下降,机体清除自由基能力下降。当体内抗氧化能力增强,抗氧化酶活性增高时,可阻止脂质过氧化或降低脂质过氧化产物的含量。体内抗氧化系统由酶促体系和非酶体系组成,酶促体系包括 SOD、CAT 以及 GSH-PX。从以上结果可以看出,高脂饲料诱导高脂血症大鼠体内氧自由基增多,机体内处于氧化应激状态,脂质过氧化反应加剧,致使其反应产物 MDA 增多;而肝脏脂肪变性又使得机体抵抗力降低,抗自由基能力减弱, SOD、CAT、GSH-PX 活性下降。在饲料中添加壳聚糖后,机体抗氧化能力有所增强,脂质过氧化产物 MDA 含量降低,表明壳聚糖抑制了脂质过氧化反应;3 大抗氧化酶活性升高,表明壳聚糖增强了体内抗氧化损伤能力。总的来说,壳聚糖具有清除机体自由基,增强抗氧化能力的作用,可以调节和改善自由基代谢的平衡,从而改善脂质过氧化状况。

3 结 语

1)对壳聚糖体外抗氧化能力的研究显示,添加质量分数为 0.02%的壳聚糖具有抗猪油氧化的作用,但不如等量的常规抗氧化剂 VC 效果明显;同等添加量的壳聚糖对粗榨菜油也有类似的作用;而当添加剂的量增大后,壳聚糖与 VC 在实验后期抗氧化能力接近。结果表明,壳聚糖具有体外抗氧化能力,但效果不是很明显,可能与壳聚糖的性质有关。

2)壳聚糖对高脂血症大鼠体内抗氧化能力的研究显示,它能显著降低高脂饮食引起的血清 FFA 浓度上升,降低脂质过氧化物代谢产物 MDA 的含量,提高机体主要的抗氧化酶 SOD、CAT 和 GSH-PX 的活性。结果表明,壳聚糖在体内的抗氧化能力可能是由于其对抗氧化酶活性的调节。

参考文献(References):

- [1] 刘应柯. 脂脉宁胶囊对高脂血症患者脂质代谢、抗氧化及血液流变学影响的临床研究[J]. 新中医, 2005, 37(10): 30—32.
- LIU Ying-ke. The clinical study of zhimaing capsule on lipid metabolism, antioxidative and blood rheology of hyperlipidemia[J]. *New Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2005, 37(10): 30—32. (in Chinese)
- [2] 蒋挺大. 甲壳素[M]. 北京:化学工业出版社, 2003: 502.
- [3] 金惠铭. 病理生理学[M]. 上海:复旦大学出版社, 2005: 81—83.
- [4] Lin H Y, Chou C C. Antioxidant activities of water-soluble disaccharide chitosan derivatives [J]. *Food Research International*, 2004, 37(9): 883—889.
- [5] Xing R, Yu H, Liu S, et al. Antioxidative activity of differently regioselective chitosan sulfates in vitro[J]. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 2005, 13(4): 1387—1392.

- [6] Xing R, Liu S, Guo Z, et al. Relevance of molecular weight of chitosan and its derivatives and their antioxidant activities in vitro[J]. **B ioorg Med Chem**, 2005,13(5):1573—1577.
- [7] Yena M T, Tsengb Y H, Lia R C, et al. Antioxidant properties of fungal chitosan from shiitake stipes[J]. **LWT—Food Science and Technology**, 2007,40(2): 255—261.
- [8] 蒋焜,薛培华,陈士明,等. 壳聚糖对超氧阴离子自由基和亚油酸脂类自由基的抑制作用[J]. **科学通报**, 2002,47(3):182—184.
- JIANG Xuan, XUE Pei-hua, CHEN Shi-ming, et al. Inhibitory effects of chitosan on superoxide anion radicals and lipid free radicals[J]. **Chinese Science Bulletin**, 2002, 47(3): 182—184. (in Chinese)
- [9] 刑荣娥,刘松,于华华,等. 不同分子量壳聚糖和壳聚糖硫酸酯的抗氧化活性[J]. **应用化学**, 2005,(9):958—961.
- XING Rong-e, LIU Song, YU Hua-hua, et al. Antioxidant activity of chitosans with different molecular weight (DMW) and chitosan sulfates[J]. **Chinese Journal of Applied Chemistry**, 2005,(9):958—961. (in Chinese)
- [10] 沈巍,王建新,赵成英. 壳聚糖季铵盐合成及其抗氧化性能研究[J]. **天然产物研究与开发**, 2007, 19: 465—469.
- SHEN wei, WANG Jian-xin, ZHAO Cheng-ying. Synthesis and antioxidative activity of quaternized chitosan[J]. **Natural Product Research and Development**, 2007, (19): 465—469. (in Chinese)
- [11] 孙涛,周冬香,朱颖娜,等. 羧甲基壳聚糖的降解及其抗氧化性能的研究[J]. **食品科学**, 2007,28(1):54—57.
- SUN Tao, ZHOU Dong-xiang, ZHU Ying-na, et al. Study on degradation of carboxymethy chitosan and their antioxidant activity[J]. **Food Science**, 2007, 28(1):54—57. (in Chinese)
- [12] Esumi K, Takei N, Yoshimura T. Antioxidant-potentiality of gold—chitosan nanocomposites[J]. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 2003,32(2):117—123.
- [13] 王春明,董磊,刁华佳,等. 壳聚糖抑制高糖诱导的脂质过氧化及血管内皮细胞与单核细胞黏附[J]. **中国药理学通报**, 2006,22(9):1054—1058.
- WANG Chun-ming, DONG Lei, DIAO Hua-jia, et al. Chitosan inhibits high glucose—induced peroxidation and monocytes adhesion to vascular endothelial cells[J]. **Chinese Pharmacological Bulletin**, 2006, 22(9):1054—1058. (in Chinese)
- [14] Jeon T, Hwang S G, Park N G, et al. Antioxidative effect of chitosan on chronic carbon tetrachloride induced hepatic injury in rats[J]. **Toxicology**, 2003,187(1): 67—73.
- [15] 彭圆,吴勇,尤行宏,等. 低分子壳聚糖对营养性肥胖大鼠脂类代谢、脂质过氧化反应的影响[J]. **湖北中医学院学报**, 2006,8(1):19—21.
- PENG Yuan, WU Yong, YOU Xing-hong, et al. The effect of low molecular chitosan on lipids, lipid peroxidation in nutritional obesity rats [J]. **Journal of Hubei College of TCM**, 2006, 8(1):19—21. (in Chinese)
- [16] Liu JN, Zhang JL, Xia WS. Hypocholesterolaemic effects of different chitosan samples in vitro and in vivo[J]. **Food Chemistry**, 2008, (107):419—425.
- [17] Zhang JL, Liu JN, Li L, et al. Dietary chitosan can effectively improve hypercholesterolemia in rats fed high-fat diets[J]. **Nutrition Research**, 2008, (28):383—390.
- [18] Griffin M E, Marcucci M J, Cline G W, et al. Free fatty acids—induced insulin resistance is associated with activation of protein kinase C theta and alterations in the insulin signaling cascade[J]. **diabetes**, 1999,48(6): 1270—1274.
- [19] 李红艳,李静,宋腾耀,等. 超重及肥胖患者血浆游离脂肪酸浓度、血糖、血脂水平及其关系分析[J]. **陕西医学杂志**, 2007, 36(8):993—995.
- LI Hong-yan, LI Jing, SONG Teng-yao, et al. Research between on correccation serum FFA and glucose, lipid in the gor-relative overweight and obesity subjects[J]. **The Journal of Shanxi Medicine**, 2007, 36(8):993—995. (in Chinese)
- [20] Diehl A M. Nonalcoholic steatohepatitis[J]. **Semin Liver Dis**, 1999,(19): 221—229.

(责任编辑:杨萌)