

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2019.08.032

亮氨酸和 α -酮戊二酸对小鼠体重、血清及脏器的影响

Effects of leucine and α -ketoglutarate on the weight, serum, visceral organ of mice

金顺顺^{1,2,3} 姚康¹ 印遇龙^{1,2,3}

JIN Shun-shun^{1,2,3} YAO Kang¹ YIN Yu-long^{1,2,3}

康宝聚⁴ 黎育颖^{1,2,3} 王鹏^{1,2,3}

KANG Bao-ju⁴ LI Yu-ying^{1,2,3} WANG Peng^{1,2,3}

(1. 中国科学院亚热带农业生态研究所, 湖南长沙 410125; 2. 中国科学院亚热带农业生态过程重点实验室, 湖南长沙 410125; 3. 中国科学院大学, 北京 100049;

4. 湖南农业大学动物科学技术学院, 湖南长沙 410128)

(1. Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Science, Changsha, Hunan 410125, China;

2. Key Lab Agro-Ecology Processing Subtropical Region, Chinese Academy of Science, Changsha,

Hunan 410125, China; 3. University of Chinese Academy of Science, Beijing 100049, China;

4. College of Animal Science and Technology, Hunan Agriculture University, Changsha, Hunan 410128, China)

摘要:选取 40 只 4 周龄 C57BL/6 雄性小鼠, 随机分为 4 组。对照组正常饮水, 其他组小鼠分别在水瓶中加入 1.0% 的 α -酮戊二酸(I 组)、1.8% 的亮氨酸(II 组)、1.8% 的亮氨酸和 1.0% 的 α -酮戊二酸(III 组)。试验期为 35 d。结果表明: ① III 组的体重比对照组、I 组和 II 组分别降低了 8.7%, 10.1%, 10.4%; ② III 组的血清白蛋白含量比对照组、I 组和 II 组显著提高($P < 0.05$); ③ III 组的脏器指数比对照组、I 组和 II 组分别提高了 19.3%, 13.6%, 15.2%; ④ III 组的腹部脂肪指数比对照组、I 组和 II 组分别降低了 24.1%, 10.0%, 6.7%, III 组的腓肠肌横截面积比对照组、I 组和 II 组分别提高了 46.9%, 20.2%, 27.9%。说明亮氨酸和 α -酮戊二酸两者联合能减轻小鼠体重, 加强器官对脂肪的利用, 增加腓肠肌纤维横截

面积。

关键词: α -酮戊二酸; 亮氨酸; 小鼠; 体重; 血清生化指标; 脏器指数; 肌肉指数; 腓肠肌横截面积

Abstract: Forty male C57BL/6 mice aged 4 weeks were selected and randomly divided into 4 groups. Mice in control groups drank normal water, while those in the experimental groups were treated 1.0% α -ketoglutarate acid (group I), or 1.8% leucine (group II), or 1.8% leucine and 1.0% α -ketoglutarate acid (group III) via drinking water. The experimental lasted 35 days. The results showed as follows: ① The growth performance of group III was 8.7%, 10.1%, and 10.4% lower than that of the groups control, I and II, respectively; ② Serum albumin in group III was significantly higher than that of the groups control, I and II ($P < 0.05$); ③ The cardiac index of group III increased by 19.3%, 13.6%, and 15.2%, respectively, compared with groups control, I and II; ④ The abdominal fat index of group III was 24.1%, 10.0%, and 6.7% lower than that of groups control, I and II, the cross-sectional area of the gastrocnemius muscle of group III was 46.9%, 20.2%, 27.9% higher than that of groups control, I and II, respectively. In summary, the combination of leucine and α -ketoglutaric acid can reduce the body weight of mice, strengthen the use of fat by organs, and increase the cross-sectional area of gastrocnemius muscle fibers.

Keywords: α -ketoglutarate acid; leucine; mice; weight; serum

基金项目:中科院百人计划项目(编号:Y451022111);国家自然科学基金面上项目(编号:31472107);湖南“湖湘青年科技创新人才”项目(编号:2015RS4053);湖南“湖南省杰出青年基金”项目(编号:2016JJ1015);中国科学院亚热带农业生态过程重点实验室开放基金项目(编号:ISA2016101)

作者简介:金顺顺,男,中国科学院亚热带农业生态研所在读硕士研究生。

通信作者:姚康(1981—),中国科学院亚热带农业生态研究所研究员,博士生导师,博士。E-mail:yaokang@isa.ac.cn

收稿日期:2019-01-21

biochemical parameters; organ index; muscle index; cross sectional area of gastrocnemius muscle

α -酮戊二酸(α -ketoglutarate, AKG)是三羧酸循环的关键中间体^[1],也是谷氨酰胺脱氨(谷氨酰胺水解)的产物。其在临床和动物营养方面发挥着有益的作用,能改善动物生长性能、调节能量代谢、提高动物免疫力、促进骨骼肌蛋白质合成等^[2]。体外研究^[3]发现,AKG能通过促进猪肠道上皮细胞蛋白质的合成和降低蛋白质的分解来促进猪肠道上皮细胞蛋白质的合成。亮氨酸(leucine, LEU)是必需氨基酸,也是支链氨基酸之一^[4],还能在动物体内影响脂质代谢,主要是通过抑制脂肪的合成^[5-7]以及促进脂肪的分解^[8-10]来发挥作用。据报道^[11],亮氨酸能调节哺乳动物骨骼肌蛋白质的代谢,从而达到促进动物生长的作用。肖定福等^[12]研究表明,在动物体内谷氨酰胺向AKG转化的过程中,首先谷氨酰胺由磷酸盐活化谷氨酰胺酶反应产生谷氨酸,再通过线粒体中谷氨酰胺脱氢酶的作用或通过转胺作用在细胞溶胶或线粒体中产生AKG,这个代谢过程中,亮氨酸是谷氨酸脱氢酶的激活剂,因此,在生物体的代谢过程中亮氨酸和AKG存在协同作用。这预示着亮氨酸和AKG可能对机体内骨骼肌蛋白质的合成代谢有协同作用。而加强骨骼肌蛋白质的合成是解决肌肉萎缩的重要一步^[13]。骨骼肌蛋白的合成已被证明受到不同营养和生理因素的影响,如氨基酸^[14]、葡萄糖^[15]、运动^[16]、胰岛素样生长因子-1(insulin like growth factor -1, IGF-I)和胰岛素^[17]等。综上所述,亮氨酸和AKG两者都对小鼠的生长性能和骨骼肌产生影响,且两者在生物体内代谢过程中存在协同作用,然而联合使用AKG和亮氨酸对健康小鼠生长以及骨骼肌的影响,目前未见报道。因此试验探讨了亮氨酸和AKG联合使用对小鼠的体重,血清生化指标、器官指数和骨骼肌纤维的影响,以期运用亮氨酸和AKG改善蛋白质降解引起的肌肉萎缩提供数据支持。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

AKG:有效成分含量为99.5%,武汉远成共创科技有限公司;

亮氨酸:有效成分含量为98%,上海源叶生物科技有限公司。

1.1.2 仪器与设备

冷冻型大容量离心机:4K15型,德国Sigma公司;

生化分析仪:cobas c311型,瑞士罗氏公司;

电子天平:GL124-1SCN型,深圳市盛美仪器有限公司。

1.1.3 试验动物与饲料

试验动物:4周龄的雄性C57BL/6小鼠,体重(12.76 \pm 0.67)g,湖南斯莱克景达实验动物有限公司;

小鼠专用饲料:主要营养水为粗蛋白质(CP)20.50%、粗脂肪(EE)4.62%、钙(Ca)1.23%、磷(P)0.91%、赖氨酸(Lys)1.30%、蛋氨酸+胱氨酸(Met+Cys)0.68%、亮氨酸(Leu)1.40%,湖南斯莱克景达实验动物有限公司。

1.2 试验设计

将40只C57BL/6小鼠于21~25℃、相对湿度60%的饲养房中饲养1周后,随机分为4组,每组10只。对照组:水瓶中加入正常的饮水;I组:水瓶中加入1.0%的AKG(每千克水中加入10g AKG,并调节pH值至7.4);II组:水瓶中加入1.8%的亮氨酸(每千克水中加入18g亮氨酸);III组:水瓶中加入1.8%的亮氨酸和1.0%的AKG(每千克水中加入18g亮氨酸和10g AKG,并调节pH值至7.4)。试验期35d。

1.3 样品的采集

试验结束后,各组小鼠禁食(自由饮水)12h,对所有小鼠进行眼球摘除采血,将采集的血液置于离心管中,低温(4℃)下静置30min,离心10min(4℃、3000r/min),于-20℃保存备用。采血后,对小鼠采用颈椎脱臼法处死,迅速取出心脏和肝脏。将心脏和肝脏用预冷生理盐水漂洗,滤纸吸干水分后称重;取腹部脂肪、肩周脂肪、肾周脂肪、皮下脂肪、趾伸长肌、腓肠肌称重并留用。

1.4 测定指标与方法

1.4.1 体重 在正式试验开始和结束时利用电子天平对每只小鼠分别进行称重,分析体重变化。

1.4.2 器官指数的测定 在试验结束后屠宰小鼠,取心脏、肝脏、腹部脂肪、肾周脂、皮下脂肪、腓肠肌、趾长伸肌称重并记录。心脏、肝脏、腹部脂肪、肾周脂、皮下脂肪指数的计算参照丁晓东等^[18]的方法,腓肠肌和趾伸长肌指数的计算参照石鹤坤等^[19]的方法。

1.4.3 血清生化指标的测定 采用全自动血液生化分析仪对总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、谷丙转氨酶(ALT)、碱性磷酸酶(ALP)、谷草转氨酶(AST)、尿素氮(BUN)、尿酸(UA)、葡萄糖(GLU)、血氨(BA)进行分析。每组10个重复。

1.4.4 腓肠肌横截面积的测定 腓肠肌横截面积的测定于腓肠肌统一位置切取组织块(0.6cm \times 0.6cm \times 0.6cm)浸入10%中性福尔马林溶液中固定,经脱水、透蜡、包埋,切片后,进行HE染色,光学显微镜进行观察,每个切面选取10张图片,然后用Image-Pro plus 6.0软件分析肌纤维的横截面积(Cross Section Area, CSA)。

1.5 数据分析和处理

试验结果用(平均值 \pm 标准误差)表示,采用SPSS

20.0 进行单因素方差分析,模型显著时采用 Duncan 氏多重比较检验。P<0.05 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 AKG 和亮氨酸对小鼠体重变化的影响

由表 1 可知,在连续饲喂 35 d 中,各组小鼠均未出现任何异常反应。在试验结束第 1 周,3 个处理对小鼠的体重均未产生显著影响(P>0.05);在第 14 天和第 21 天时, I 组小鼠体重显著高于 III 组(P<0.05),其他各组之间无显著性差异(P>0.05);试验第 28 天时, III 组小鼠体重显著低于 I 和 II 组(P<0.05),其他各组之间无显著差异(P>0.05);试验第 35 天时, III 组小鼠的体重显著低于 I 组、II 组和对照组(P<0.05),其他各组之间无显著差异(P>0.05)。小鼠饮水中添加亮氨酸和 AKG 较其他 3 组体重有降低的趋势。原因可能是动物机体内由磷酸盐活化谷氨酰胺酶反应所产生的谷氨酸能通过线粒体中谷氨酸脱氢酶的作用或通过转氨作用在细胞溶胶或线粒体中产生 AKG,在这个代谢过程中,亮氨酸是谷氨酸脱氢酶的激活剂,因此可以强化 AKG 的作用。另外 AKG 也可参与脂质代谢和肉碱的形成^[20]。而肉碱是一种作为脂肪酸载体进入细胞线粒体的分子,在线粒体中可以进行适当的脂肪分解代谢从而起到降低体重的作用。

2.2 AKG 和亮氨酸对小鼠血清生化指标的影响

由表 2 可见,与对照组相比, III 组血清 TP、ALB 和 ALP 含量显著升高(P<0.05),BUN 和 UA 含量显著降低(P<0.05), II 组血清 BUN 和 UA 含量显著降低(P<0.05), I 组血清 BUN 和 UA 含量显著降低(P<0.05);与 I 组相比, III 组血清 ALB 含量显著提高(P<0.05), II 组血清 UA 含量显著增加(P<0.05);与 II 组相比, III 组血清 ALB 含量显著升高(P<0.05),BUN 和 UA 含量显著降低(P<0.05)。各组间其他血清生化指标均无显著性差异(P>0.05)。血清中 TP 的含量可直接反映蛋白质的吸收情况以及机体体液免疫的健康状况,从而间接反映机体对外界不良因素的抵抗能力,血清 TP 含量高说明蛋白质合成作用、氮沉积及机体对外界不良因素的抵抗能力增强^[21]。联合运用亮氨酸和 AKG 能显著升高血清 ALB 和 TP 的含量,表明两者可提高机体的体液免疫能力及肝脏对蛋白质的合成作用。ALP 是遗传标记的同工酶,其活性的高低能反映骨组织生长、钙磷代谢、脂肪代谢状况^[22]。联合运用两者能显著提高血清 ALP 的活性,可能与 AKG 可显著提高粗蛋白、钙和磷的表观消化率有关^[23]。同时联合运用两者有利于氨基酸平衡,促进蛋白质代谢以及降低血清中尿素和 UA 的含量^[24]。

表 1 试验期间各组小鼠体重的变化[†]

Table 1 Change of body weight of mice from different groups during the whole experimental period (n=10)

组别	第 1 天	第 7 天	第 14 天	第 21 天	第 28 天	第 35 天
对照组	12.77±0.13	19.10±0.31	20.07±0.39 ^{ab}	20.90±0.29 ^{ab}	21.79±0.41 ^{ab}	23.21±0.44 ^a
试验组 I	12.76±0.26	19.12±0.48	20.72±0.29 ^a	21.16±0.24 ^a	22.99±0.37 ^a	23.55±0.41 ^a
试验组 II	12.76±0.23	19.00±0.32	20.16±0.33 ^{ab}	21.08±0.43 ^{ab}	22.83±0.32 ^a	23.63±0.28 ^a
试验组 III	12.75±0.23	18.77±0.32	19.12±0.20 ^b	20.05±0.35 ^b	20.84±0.90 ^b	21.18±1.10 ^b

† 同列字母不同表示差异显著(P<0.05)。

表 2 AKG 和亮氨酸对小鼠血清生化指标的影响[†]

Table 2 Effect of AKG and leucine on serum biochemical parameters of mice (n=10)

血清生化指标	单位	对照组	试验组 I	试验组 II	试验组 III
总蛋白 TP	g/L	55.09±1.30 ^b	57.78±0.94 ^{ab}	57.51±0.62 ^{ab}	59.44±1.02 ^a
白蛋白 ALB	g/L	34.49±0.79 ^b	35.96±0.52 ^b	36.20±0.62 ^b	38.33±0.69 ^a
谷丙转氨酶 ALT	U/L	53.57±4.82	63.83±11.56	53.20±5.70	48.98±2.23
碱性磷酸酶 ALP	U/L	177.78±3.20 ^b	183.56±3.08 ^{ab}	186.67±4.28 ^{ab}	195.56±5.96 ^a
谷草转氨酶 AST	U/L	203.75±16.52	254.00±38.69	222.89±28.88	228.89±31.62
尿素 BUN	mmol/L	16.20±0.89 ^a	13.56±0.70 ^{bc}	14.62±0.74 ^b	11.44±0.47 ^c
尿酸 UA	mg/dL	3.04±0.12 ^a	0.20±0.00 ^c	2.38±0.17 ^b	0.20±0.00 ^c
葡萄糖 GLU	mmol/L	8.80±0.27	8.58±0.42	9.67±0.42	8.80±0.41
血氨 BA	μmol/L	546.56±23.05	586.87±41.10	580.09±27.96	527.60±37.26

† 同行字母不同表示差异显著(P<0.05)。

2.3 AKG和亮氨酸对小鼠器官指数的影响

由表3可知,Ⅲ组心脏指数显著高于对照组、I组和II组($P<0.05$)。其他各组间器官指数均无显著性差异($P>0.05$)。联合运用亮氨酸和AKG能显著提高心脏指数,表明两者联合运用能减少外界不良因素对心脏的损伤,促进心脏的生长^[25]。

表3 AKG和亮氨酸对小鼠器官指数的影响[†]

Table 3 Effect of AKG and leucine on organ index of mice ($n=10$) %

组别	心脏指数	肝脏指数
对照组	0.623±0.022 ^b	5.154±0.198
试验组 I	0.654±0.022 ^b	5.260±0.210
试验组 II	0.645±0.030 ^b	5.302±0.114
试验组 III	0.743±0.015 ^a	5.583±0.117

† 同列字母不同表示差异显著($P<0.05$)。

表4 AKG和亮氨酸对小鼠脂肪指数和肌肉指数的影响[†]

Table 4 Effect of AKG and leucine on fat index and muscle index of mice ($n=10$) %

组别	腹部脂肪指数	肾周脂指数	肩周脂指数	皮下脂肪指数	腓肠肌指数	趾长伸肌指数
对照组	1.617±0.096 ^a	0.262±0.021	0.401±0.040	0.677±0.064	0.427±0.022 ^c	0.057±0.004 ^b
试验组 I	1.390±0.080 ^{ab}	0.250±0.007	0.110±0.035	0.737±0.043	0.500±0.036 ^b	0.063±0.004 ^b
试验组 II	1.317±0.089 ^b	0.253±0.014	0.386±0.034	0.562±0.073	0.501±0.010 ^b	0.067±0.004 ^b
试验组 III	1.228±0.092 ^b	0.258±0.014	0.487±0.038	0.695±0.094	0.679±0.021 ^a	0.093±0.007 ^a

† 同列字母不同表示差异显著($P<0.05$)。

表5 AKG和亮氨酸对小鼠腓肠肌横截面积的影响[†]

Table 5 Effect of AKG and leucine on cross sectional area of gastrocnemius muscle of mice ($n=10$)

组别	腓肠肌横截面积/ μm^2
对照组	1 873.08±124.16 ^c
试验组 I	2 289.84±101.02 ^b
试验组 II	2 151.39±78.89 ^b
试验组 III	2 751.94±81.13 ^a

† 字母不同表示差异显著($P<0.05$)。

他各组间小鼠腓肠肌横截面积均无显著性差异($P>0.05$)。具体的原因可能是:① AKG能促进骨骼肌蛋白质的合成和抑制骨骼肌蛋白质的降解,从而使得肌纤维的横截面积增大;② 亮氨酸也能促进骨骼肌蛋白质的合成,从而使得肌纤维的横截面积增大;③ 在谷氨酰胺、谷氨酸和AKG的相互转化过程中,亮氨酸促进谷氨酸向AKG的转换,而两者之间存在的协同作用加速了肌纤维蛋白质的合成,从而使得肌纤维的横截面积增加。

3 结论

试验通过对C57BL/6雄性小鼠研究,比较亮氨酸和AKG对小鼠体重和骨骼肌发育的影响,结果表明亮氨酸

2.4 AKG和亮氨酸对小鼠脂肪指数和肌肉指数的影响

由表4可见,与对照组相比,II组和III组腹部脂肪指数显著降低($P<0.05$),I组、II组和III组腓肠肌指数显著增加($P<0.05$),III组趾长伸肌指数显著增加($P<0.05$);与I组相比,III组腓肠肌指数和趾长伸肌指数显著增加($P<0.05$);与II组相比,III组腓肠肌指数和趾长伸肌指数显著增加($P<0.05$)。其他各组间脂肪指数和肌肉指数均无显著性差异($P>0.05$)。联合运用亮氨酸和AKG能显著提高腓肠肌指数和趾伸长肌指数,说明1.0% AKG和1.8%亮氨酸联合添加在促进骨骼肌生长方面有协同作用。

2.5 AKG和亮氨酸对小鼠腓肠肌横截面积的影响

由表5可知,与对照组相比,I组、II组和III组的小鼠腓肠肌横截面积显著增加($P<0.05$);与I组相比,III组的小鼠腓肠肌横截面积显著增加($P<0.05$);与II组相比,III组的小鼠腓肠肌横截面积显著增加($P<0.05$)。其

和AKG联合运用具有抑制小鼠体重增加,促进心脏生长,加强器官对脂肪的利用和增加腓肠肌纤维的重量和横截面积的作用。研究为提高肌纤维横截面积预防肌肉萎缩提供了新的思路,然而其调节骨骼肌代谢的作用机理还有待进一步研究。

参考文献

- [1] DIBBLE CC, CANTLEY L C. Regulation of mTORC1 by PI3K signaling[J]. Trends Cell Biol, 2015, 25(9): 545-555.
- [2] 刘坚,侯永清,丁斌鹰,等. α -酮戊二酸对脂多糖应激仔猪肠黏膜能量代谢的影响[J]. 动物营养学报, 2009(6): 892-896.
- [3] YAO Kang, YIN Yu-long, LI Xi-long, et al. Alpha-ketoglutarate inhibits glutamine degradation and enhances protein synthesis in intestinal porcine epithelial cells[J]. Amino Acids, 2012, 42(6): 2 491-2 500.
- [4] 张世海. 支链氨基酸调节仔猪肠道和肌肉中氨基酸及葡萄糖转运的研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2016: 2-3.
- [5] ZEMEL M B, BRUCKBAUER A. Effects of a leucine and pyridoxine-containing nutraceutical on fat oxidation, and oxidative and inflammatory stress in overweight and obese subjects[J]. Nutrients, 2012, 4(6): 529-541.

- [6] SUN Xiao-cun, ZEMEL M B. Leucine and calcium regulate fat metabolism and energy partitioning in murine adipocytes and muscle cells[J]. *Lipids*, 2007, 42(4): 297-305.
- [7] CHEN Qi-xuan, REIMER R A. Dairy protein and leucine alter GLP-1 release and mRNA of genes involved in intestinal lipid metabolism in vitro [J]. *Nutrition*, 2009, 25 (3): 340-349.
- [8] QUALMANN B, KESSELS M M, KELLY R B. Molecular links between endocytosis and the actin cytoskeleton[J]. *The Journal of cell biology*, 2000, 150(5): F111.
- [9] PICARD F, KURTEV M, CHUNG N, et al. Sirt1 promotes fat mobilization in white adipocytes by repressing PPAR- γ [J]. *Nature*, 2004, 429(6 993): 771-776.
- [10] OTABE Shuichi, YUAN Xiao-hong, FUKUTANI Tomoka, et al. Overexpression of human adiponectin in transgenic mice results in suppression of fat accumulation and prevention of premature death by high-calorie diet[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2007, 293(1): 210-218.
- [11] SUGAWARA T, ITO Y, NISHIZAWA N, et al. Regulation of muscle protein degradation, not synthesis, by dietary leucine in rats fed a protein-deficient diet[J]. *Amino Acids*, 2009, 37(4): 609-616.
- [12] XIAO Ding-fu, ZENG Li-ming, YAO Kang, et al. The glutamine- α -ketoglutarate (AKG) metabolism and its nutritional implications [J]. *Amino Acids*, 2016, 48 (9): 2 067-2 080.
- [13] FANZANI A, CONRAADS V M, PENNA F, et al. Molecular and cellular mechanisms of skeletal muscle atrophy: An update[J]. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, 2012, 3(3): 163-179.
- [14] SURYAWAN A, DAVIS T A. Regulation of protein degradation pathways by amino acids and insulin in skeletal muscle of neonatal pigs[J]. *J Anim Sci Biotechnol*, 2014, 5 (1): 8.
- [15] GLASS D J. Skeletal muscle hypertrophy and atrophy signaling pathways[J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2005, 37(10): 1 974-1 984.
- [16] JEYAPALAN A S, ORELLANA R A, SURYAWAN A, et al. Glucose stimulates protein synthesis in skeletal muscle of neonatal pigs through an AMPK- and mTOR-independent process[J]. *Am J Physiol-Endoc M*, 2007, 293 (2): E595-E603.
- [17] SUGDEN P H, FULLER S J. Regulation of protein turnover in skeletal and cardiac muscle[J]. *The Biochemical Journal*, 1991, 273(Pt 1): 21-37.
- [18] 丁晓东, 范建高, 王国良, 等. 二甲双胍干预大鼠非酒精性脂肪性肝炎疗效观察[J]. *肝脏*, 2005, 10(2): 79-81.
- [19] 石鹤坤, 陈开杰, 林小凤, 等. 不同跑台坡度对 SD 大鼠运动疲劳指标的影响[J]. *实验动物与比较医学*, 2017(6): 455-459.
- [20] COOPER A J, KRISTAL B S. Multiple roles of glutathione in the central nervous system[J]. *Biol Chem*, 1997, 378 (8): 793.
- [21] 位莹莹, 徐奇友, 李晋南, 等. 不同蛋白质水平饲料中添加 α -酮戊二酸对松浦镜鲤生长性能、体成分和血清生化指标的影响[J]. *动物营养学报*, 2013(12): 2 958-2 965.
- [22] 易学武, 唐晓玲, 刘振湘, 等. 糖萜素对早期断奶仔猪血液生化指标及免疫机能的影响研究[J]. *湖南环境生物职业技术学院学报*, 2005, 11(3): 239-243.
- [23] 刘少娟, 陈家顺, 康保聚, 等. α -酮戊二酸和大蒜素对生长猪生长发育及养分表观消化率的影响[J]. *动物营养学报*, 2017(9): 3 193-3 201.
- [24] 李忠荣, 陈婉如, 叶鼎承, 等. 低蛋白质补充氨基酸饲料对北京鸭生长性能、血清生化指标及粪氮含量的影响[J]. *动物营养学报*, 2013, 25(2): 319-325.
- [25] 韩杰, 张飞, 边连全. 刺五加多糖对免疫应激断奶仔猪免疫器官指数、粪便微生物菌群数量和胃肠道 pH 的影响[J]. *动物营养学报*, 2014(8): 2 314-2 319.

(上接第 166 页)

- [10] TSENG S H, SUNG H C, CHEN L G, et al. Effects of velvet antler with blood on bone in ovariectomized rats[J]. *Molecules*, 2012, 17(9): 10 574-10 585.
- [11] 付程浩, 蒋春莹, 郑可欣, 等. 鹿茸血提取物改变乳腺癌荷瘤小鼠免疫细胞比例并抑制移植瘤生长[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2017, 33(12): 1 615-1 621.
- [12] 卫生部. 保健食品检验与评价技术规范[S]. 2003 版. 北京: 中华人民共和国卫生部, 2003: 87-93.
- [13] 刘鑫, 卢文倩, 蔡广胜, 等. 小牛排提取物注射液对小鼠的抗疲劳活性研究[J]. *中国现代应用药学*, 2018, 35(11): 1 613-1 617.
- [14] SURHIO Maheen Mahwish, WANG Yu-fen, FANG Shi, et al. Anti-fatigue activity of a Lachnum polysaccharide and its carboxymethylated derivative in mice[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2017, 27(20): 4 777-4 780.
- [15] 范治云, 谭会萍, 李志坤, 等. 三七参芪胶囊安全性评价及缓解体力疲劳功能的研究[J]. *食品研究与开发*, 2018, 39 (19): 180-184.
- [16] 白晨, 王淑珍, 周晓望, 等. 鹿茸血酒抗疲劳活性实验研究[J]. *食品科学*, 2008, 29(11): 575-578.
- [17] 马立芹, 乐国伟, 钱佳, 等. 马鹿茸血免疫活性肽的制备及其活性研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2009, 21(1): 125-128, 182.
- [18] 权石范, 张秀莲, 常忠娟. 梅花鹿三种茸片和鹿角盘性激素含量测定[J]. *特产研究*, 2014, 36(1): 10-11.