

肝豆状核变性的腹部肌肉病理及铜染色研究

喻绪恩¹, 胡纪源¹, 王 训¹, 程 楠¹, 于庆生², 胡文彬¹, 韩咏竹¹, 杨任民¹
(¹安徽中医学院神经病学研究所附属医院 230061; ²安徽中医学院第一附属医院普外科 230001)

关键词 肝豆状核变性; 肌肉病理; 线粒体; 铜染色

摘要 **目的** 探讨肝豆状核变性(HLD)患者的腹部肌肉病理特点及铜染色技术在 HLD 的诊断价值。**方法** 21 例 HLD 患者因脾脏功能亢进需行脾脏切除术为 HLD 组, 其中肝型 HLD 11 例, 脑-内脏型 HLD 10 例。另选择 5 例外伤致脾破裂行急诊脾脏切除术的非 HLD 患者为对照组。两组患者均留取腹部手术切口处少许肌肉标本, 经液氮-异戊烷处理后作厚度为 10 μm 的冰冻切片, 分别进行苏木精-伊红、改良 Gomori(MGT)、还原型辅酶 I 四氮唑还原酶(NADH-TR)、琥珀酸脱氢酶(SDH)、细胞色素 C 氧化酶(CCO)等组织病理染色, 以及红氨酸、硫氨酸铜染色, 光镜下观察病理表现。比较肝型和脑-内脏型患者的肌肉病理有无差异。**结果** 肝型 HLD 患者腹部肌肉病理未见异常。脑-内脏型 HLD 患者腹部肌肉病理见肌纤维大小轻度不等, 4 例有明显的强反应性血管(SSVs), 3 例有破碎红纤维(RRF), 2 例 CCO 活性缺失纤维和 S/C 双染呈蓝纤维; 其中 2 例颅脑 MRI 示额叶有软化灶者腹部肌肉均发现典型 SSVs 现象。21 例 HLD 患者的腹部肌肉的铜染色均阴性。**结论** 肝型 HLD 患者腹部肌肉未见线粒体功能异常, 而脑-内脏型 HLD 患者腹部肌肉发现线粒体功能异常。肌肉铜染色对 HLD 诊断价值不大。

The Abdominal Muscle Pathology of Wilson Disease and Copper Staining YU Xu-en, HU Ji-yuan, WANG Xun, CHENG Nan, YU Qing-sheng, HU Wen-bin, HAN Yong-zhu, YANG Ren-min The Institute of Neurology, Affiliated Hospital, Anhui College of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230061, China

KEY WORDS hepatolenticular degeneration; muscle pathology; mitochondrion; copper

ABSTRACT **Aim** To investigate the pathological manifestations of hepatolenticular degeneration(HLD) patients with abdominal muscles and the diagnostic value of copper staining technology in HLD. **Methods** A 21-patient HLD group, which was performed by splenectomy due to hyperfunction, was divided into hepatic HLD (11 cases) and brain HLD (10 cases). 5 non-HLD cases of emergency splenectomy caused by trauma was the control group. Muscle specimens from these two groups were cut into 10 μm thickness frozen slice by liquid nitrogen-isopentane. The slices were dyed by HE, MGT, NADH-TR, SDH and CCO, then observed by light microscopy. The muscle pathology between hepatic HLD and brain HLD patients was compared. **Results** The abdominal muscle pathology of hepatic HLD patients was normal. The abdominal muscle fiber size of brain HLD was mild different, 4 cases with SSVs, 3 with RRF, 2 with CCO activity lack of fiber and S/C. The typical SSVs phenomenon of rectus muscles was observed in 2 cases, which brain MRI showed

[文章编号] 1008-0678(2013)03-0301-05 [中图分类号] R742.4 [文献标识码] A
[基金项目] 安徽中医学院科研基金(编号:2010zr013B)
[作者简介] 喻绪恩,男(1975-),医学硕士,主治医师,主要从事肌病及锥体外系疾病的研究。
[通讯作者] 胡纪源,E-mail:hu_jiyuan@163.com

frontal malacia. Copper staining of the 21 cases of HLD in patients with abdominal muscle were negative.

Conclusion Mitochondrial dysfunction was not observed in hepatic HLD, but was observed in brain HLD.

Copper staining of the muscles in patients with HLD had little diagnostic value.

肝豆状核变性(hepatolenticular degeneration, HLD)又称 Wilson 病(Wilson disease), 是一种常染色体隐性遗传病, 该病是由于致病基因突变导致铜代谢障碍, 铜沉积于体内多个器官如肝、脑、肾、角膜、皮肤、关节、肌肉等, 使相应脏器发生功能障碍^[1]。HLD 患者除铜大量在脑、肝、肾等处沉积外, 也在骨骼、肌肉沉着而引起相应的病理性改变^[2]。目前, 国内外尚未见对 HLD 患者肌肉病理方面的研究报道, 本研究通过对 21 例 HLD 患者进行腹部肌肉病理、酶组织化学及铜染色研究, 了解 HLD 患者的腹部肌肉病理表现, 探讨 HLD 肌肉病理特点及肌肉铜染色技术的临床诊断价值。

资料与方法

主要试剂 红氨酸和硫氨酸(Sigma Ltd, 美国), 核固红、苏木精、细胞色素 C、过氧化氢酶、还原型辅酶 I、DAB 及 TRIS(Sigma Ltd, 美国), NBT 和 Light Green SF Yellowish(Amresco Ltd, 美国), 曙红 Y、变色酸-2R 及磷钨酸(国药集团化学试剂有限公司, 中国)等。

研究对象 选择 2010 年 3 月至 2011 年 10 月在安徽中医学院神经病学研究所附属医院住院的 HLD 患者 21 例为 HLD 组, 其中男 10 例、女 11 例; 就诊年龄 7~29 岁, 平均年龄(17.33 ± 6.00)岁; 病程 1 个月至 7 年, 平均病程(1.65 ± 1.71)年。入组病例均符合 HLD 的诊断标准^[3]。对照组为同期因外伤导致脾破裂急诊行脾脏切除术的非 HLD 患者 5 例, 临床资料见表 1。

21 例 HLD 患者均因脾肿大和脾功能亢进, 影响驱铜治疗(血细胞明显减低, 骨髓细胞学检查示增生明显活跃), 而转普外科接受脾脏切除术。21 例 HLD 患者中, 肝

型 11 例, 脑-内脏型 10 例。临床资料见表 2。

肌肉病理组织学和组织化学检查 HLD 组和对照组均在经患者及其家属同意并签订知情同意后, 由普外科医生行脾脏切除术, 术毕时留取一长约 0.8 cm, 直径约 0.5 cm 圆柱状腹部肌肉标本送检, 标本均经液氮-异戊烷冷冻, 冷冻切片(Leica CM1950 型)作片厚为 10 μm 冰冻切片, 分别行苏木精-伊红(HE)、改良 Gomori(MGT)、还原型辅酶 I 四氮唑还原酶(NADH-TR)、琥珀酸脱氢酶(SDH)、细胞色素 C 氧化酶(CCO)、SDH 和 CCO 双染(即 S/C 染色)^[4], 光镜下观察。

肌肉铜染色^[5]

1. 红氨酸铜染色法: 切片入红氨酸染液中, 37℃ 恒温箱过夜; 取出切片, 室温平衡后置入 70% 乙醇, 室温 1 h; 置入无水乙醇, 室温 1 h; 蒸馏水洗 3 次; 核固红衬染 3 min; 后常规脱水、透明、封片。

红氨酸铜染色法染液配制: ① 0.4% 红氨酸溶液: 取 0.01 g dithiooxamid 加入 95% 乙醇 2.5 mL 中充分溶解; ② 10% 无水乙酸钠: 5 g 无水乙酸钠加入 50 mL 蒸馏水中充分溶解; ③ 将两者搅拌均匀后即即为红氨酸染液。

2. 硫氨酸铜染色法: 切片入硫氨酸工作溶液中 56℃ 孵育 3 h 或 37℃ 恒温箱过夜; 蒸馏水冲洗 3 min; 苏木精复染 10 s; 用蒸馏水快速冲洗后, 立即入硼酸钠溶液 15 s; 再蒸馏水冲洗干净后封片。

核固红染液配制: 0.1 g 核固红加入 15% 硫酸铝水溶液 100 mL 中加热溶解, 冷却后过滤。硫氨酸原液: 5-(4-dimethylamino benzylidene)-rhodanine 0.05 g + 无水乙醇 25 mL。工作溶液: 将硫氨酸原液 5 mL + 2% 三水乙酸钠 45 mL。硼酸钠溶液: 四硼酸二钠 0.5 g + 蒸馏水 100 mL。

表 1 5 例非 HLD 患者的临床资料

Tab 1 The clinical data of the 5 patients without hepatolenticular degeneration

| 编号 No | 年龄(岁) Age(Year) | 性别 Sex | 临床症状 Clinical symptoms | 血铜 (μmol·L ⁻¹) | Sco (OD) | CP (μg·mL ⁻¹) | 治疗 Treatment |
|----------|--------------------|-----------|---------------------------|-------------------------------|-------------|------------------------------|-----------------|
| 1 | 37 | 男 | 外伤致脾破裂 1 h, 既往否认肝病史 | 15.77 | 0.463 | 292.2 | 急诊切脾 |
| 2 | 26 | 男 | 外伤致脾破裂 2 h, 既往否认肝病史 | 12.87 | 0.564 | 282.5 | 急诊切脾 |
| 3 | 31 | 男 | 外伤致脾破裂 1 h, 既往否认肝病史 | 14.22 | 0.424 | 266.3 | 急诊切脾 |
| 4 | 48 | 男 | 外伤致脾破裂 1 h, 既往否认肝病史 | 14.16 | 0.417 | 260.2 | 急诊切脾 |
| 5 | 33 | 男 | 外伤致脾破裂 1 h, 既往否认肝病史 | 13.68 | 0.444 | 234.9 | 急诊切脾 |

注: CP=血清铜蓝蛋白; Sco=血清铜氧化酶
Notes: CP=serum ceruloplasmin; Sco=serum copper oxydose

表 2 21 例 HLD 患者的临床资料

Tab 2 The clinical data of the 21 patients with hepatolenticular degeneration

| 编号 No | 年龄(岁) Age (Year) | 性别 Sex | 病程 Course of disease | 主要临床症状 Clinical symptoms | 血铜 ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) | Sco (OD) | CP ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) | 头颅 MRI Brain MRI | 治疗 Treatment |
|----------|------------------------|-----------|----------------------------|-----------------------------------|---|-------------|--|---------------------|-----------------|
| 1 | 20 | 男 | 2 个月 | 上消化道出血, 腹胀大, 肝硬化, 脾肿大, K-F 环阳性 | 3.63 | 0.07 | 65.2 | 未见异常 | 驱铜, 辅以脾切除 |
| 2 | 13 | 男 | 1 个月 | 食欲下降, 肝功能异常, 脾肿大, K-F 环阳性 | 2.30 | 0.06 | 56.3 | 未见异常 | 驱铜, 辅以脾切除 |
| 3 | 26 | 男 | 4 个月 | 反复巩膜黄, 尿黄, 双下肢水肿, 脾肿大, K-F 环阳性 | 5.40 | 0.06 | 67.4 | 未见异常 | 驱铜, 辅以脾切除 |
| 4 | 29 | 女 | 5 个月 | 言语不清, 流涎, 动作笨拙, 肝硬化, 脾肿大, K-F 环阳性 | 3.40 | 0.03 | 75.5 | 双侧基底节区异常信号 | 驱铜, 辅以脾切除 |
| 5 | 7 | 男 | 6 个月 | 巩膜黄, 腹胀大, 肝硬化, 脾肿大, K-F 环阳性 | 1.96 | 0.03 | 65.2 | 未见异常 | 驱铜, 辅以脾切除 |
| 6 | 28 | 女 | 6 个月 | 言语不清, 手抖, 流涎, 肝硬化, 脾肿大, K-F 环阳性 | 1.74 | 0.03 | 55.2 | 双侧基底节区异常信号 | 驱铜, 辅以脾切除 |
| 7 | 11 | 男 | 7 个月 | 言语不清, 肢体扭转, 肝硬化, 脾肿大, K-F 环阳性 | 1.59 | 0.03 | 28.4 | 双侧基底节区异常信号 | 驱铜, 辅以脾切除 |
| 8 | 18 | 女 | 7 个月 | 腹胀大, 双下肢水肿, 肝硬化, 脾肿大, K-F 环阳性 | 1.06 | 0.03 | 55.6 | 未见异常 | 驱铜, 辅以脾切除 |
| 9 | 12 | 女 | 1 年 | 巩膜黄, 尿黄, 腹胀大, 肝硬化, 脾肿大, K-F 环阳性 | 4.85 | 0.09 | 92.9 | 未见异常 | 驱铜, 辅以脾切除 |
| 10 | 14 | 女 | 1 年 | 鼻衄, 巩膜黄, 皮肤黑, 肝硬化, 脾肿大, K-F 环阳性 | 1.67 | 0.04 | 58.9 | 未见异常 | 驱铜, 辅以脾切除 |
| 11 | 15 | 女 | 1 年 | 乏力, 腹胀大, 双下肢水肿, 肝硬化, 脾肿大, K-F 环阳性 | 2.52 | 0.06 | 83.9 | 未见异常 | 驱铜, 辅以脾切除 |
| 12 | 19 | 男 | 1 年 | 脾气暴躁, 被害妄想, 肝硬化, 脾肿大, K-F 环阳性 | 1.48 | 0.04 | 59.6 | 双侧额顶叶软化灶 | 驱铜, 辅以脾切除 |
| 13 | 21 | 女 | 1.5 年 | 言语不清, 饮水呛咳, 肝硬化, 脾肿大, K-F 环阳性 | 6.89 | 0.17 | 191.0 | 双侧壳核, 脑干均有异常信号 | 驱铜, 辅以脾切除 |
| 14 | 11 | 女 | 2 年 | 鼻衄, 巩膜黄, 皮肤黑, 肝硬化, 脾肿大, K-F 环阳性 | 2.39 | 0.02 | 97.9 | 未见异常 | 驱铜, 辅以脾切除 |
| 15 | 12 | 女 | 2 年 | 言语不清, 肢体扭转, 流涎, 肝硬化, 脾肿大, K-F 环阳性 | 1.20 | 0.05 | 74.9 | 双侧基底节区异常信号 | 驱铜, 辅以脾切除 |
| 16 | 17 | 男 | 2 年 | 反复呕血, 肝硬化, 门脉高压, 脾肿大, K-F 环阳性 | 1.67 | 0.08 | 47.4 | 未见异常 | 驱铜, 辅以脾切除 |
| 17 | 20 | 男 | 5 年 | 全身抽搐, 言语不清, 手抖, 肝硬化, 脾肿大, K-F 环阳性 | 1.85 | 0.06 | 53.1 | 双侧额顶叶软化灶 | 驱铜, 辅以脾切除 |
| 18 | 20 | 男 | 2 年 | 言语不清, 流涎, 手足徐动, 脾肿大, K-F 环阳性 | 1.86 | 0.05 | 26.7 | 双侧基底节区异常信号 | 驱铜, 辅以脾切除 |
| 19 | 10 | 男 | 3 年 | 言语不清, 肢体扭转, 肝硬化, 脾肿大, K-F 环阳性 | 3.73 | 0.04 | 67.0 | 双侧基底节区异常信号 | 驱铜, 辅以脾切除 |
| 20 | 19 | 女 | 7 年 | 反复腹胀大, 双下肢水肿, 肝硬化, 脾肿大, K-F 环阳性 | 7.80 | 0.07 | 46.7 | 未见异常 | 驱铜, 辅以脾切除 |
| 21 | 22 | 女 | 3 年 | 全身抽搐, 言语不清, 手抖, 肝硬化, 脾肿大, K-F 环阳性 | 2.28 | 0.04 | 37.6 | 双侧基底节区异常信号 | 驱铜, 辅以脾切除 |

注: CP=血清铜蓝蛋白, Sco=血清铜氧化酶

Notes: CP=serum ceruloplasmin; Sco=serum copper oxydose

结 果

HLD 组临床资料分析 21 例 HLD 患者中, 肝型 11 例, 脑-内脏型 10 例(表 2)。肝型 HLD 患者均未见脑受累症状体征和头颅 MRI 异常。脑-内脏型 HLD 患者存在脑受累症状体征, 头颅 MRI 异常以基底节损害为主, 其中 2 例有癫痫发作、1 例有精神症状、2 例发现双侧额顶叶软化病灶(图 1)。

腹肌肌肉病理

1. 肌纤维大小和血管变化: ①肝型 HLD 11 例患者腹部肌肉病理均未见肌纤维大小和血管变化异常。②10 例脑-内脏型 HLD 患者腹部肌肉病理, 均见肌纤维大小不等(图 2A、C); 4 例有明显的强反应性血管(strongly SDH-reactive blood vessels, SSVs), 见图 2E; 3 例有少量破碎红纤维(ragged-red fiber, RRF), 见图 2B; 2 例有 CCO 活性缺失纤维(图 2D)和 S/C 双染呈蓝纤维(图 2F); 2 例头颅 MRI 示额顶叶有软化灶的患者, 其腹部肌肉均发现典型 SSVs 现象, 但 SSVs 的 CCO 染色阴性。③对

照组 5 例患者的腹部肌肉未见异常。

腹肌的红氨酸铜和硫氨酸铜染色结果 HLD 组腹部肌肉的红氨酸铜染色法(图 3A)及硫氨酸铜染色结果(图 3B)均阴性。对照组患者的腹直肌两种铜染色均阴性。

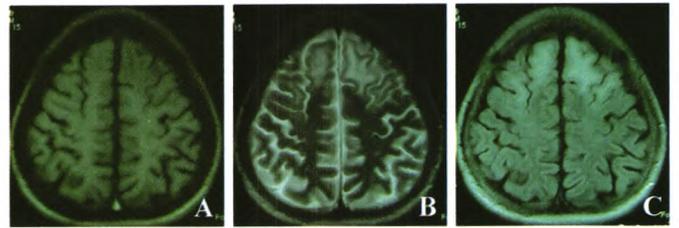


图 1 HLD 患者的颅脑 MRI

Fig 1 The brain MRI of the patients with hepatolenticular degeneration

注: A 示双侧额顶叶长 T1 异常信号; B 示双侧额顶叶长 T2 异常信号; C 示 Flair 示双侧额顶叶高信号
Notes: A. The long T1 dysfunction signal in the bilateral forehead-parietal lobe; B. The long T2 dysfunction signal in the bilateral forehead-parietal lobe; C. The Flair showed high signal in the bilateral forehead-parietal lobe

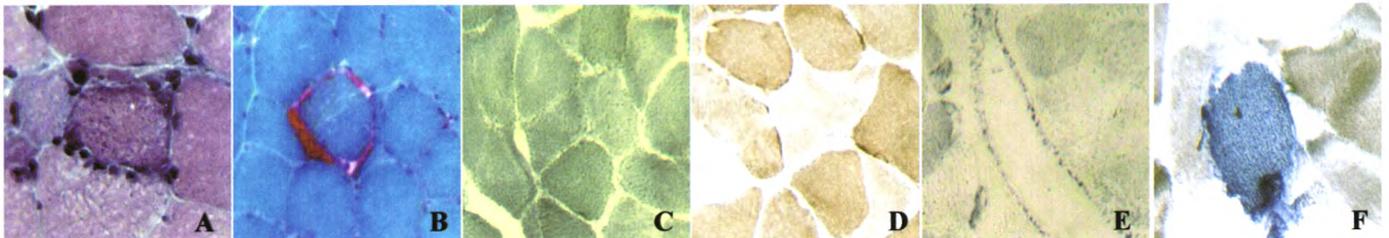


图 2 HLD 患者腹直肌组织病理(× 400)

Fig 2 The rectus abdominis pathology of the patients with hepatolenticular degeneration (× 400)

注: A 示苏木精-伊红染色示不整边肌纤维; B 为 MGT 染色示破碎红纤维; C 为 NADH 染色示两型肌纤维分辨不清; D 为 CCO 染色示酶缺失纤维; E 为 SDH 染色示明显的强反应性血管; F 为 S/C 双染示蓝纤维

Notes: A. The hematoxylin-eosin stain showed not whole edge muscle fiber; B. The modified Gomori trichrome stain showed ragged-red fiber; C. The NADH-tetrazolium reductase stain showed not clear in the amphitypv muscle fiber; D. The cytochrome C oxidase stain showed the absence muscle fiber of enzyme; E. The succinate dehydrogenase stain showed strongly SDH-reactive blood vessels; F. The succinate dehydrogenase and cytochrome C oxidase stain showed blue muscle fiber

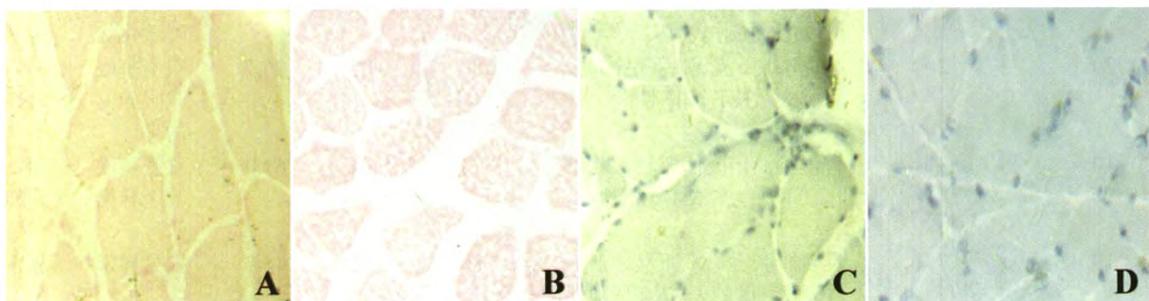


图 3 HLD 患者腹直肌的铜染色(× 400)

Fig 3 The rectus abdominis copper stain of the patients with hepatolenticular degeneration(× 400)

注: A 为对照组, B 为 HLD 组, 红氨酸铜染色均阴性; C 为对照组, D 为 HLD 组, 硫氨酸铜染色均阴性
Notes: Control group(A) and HLD group(B), the copper stain of rubenic acid showed negative; Control group(D) and HLD group(D), the copper stain of rhodanine showed negative

讨 论

HLD 为目前少数可以治疗的神经遗传病之一, 患者如果能在发病早期或症状前期即被确诊并得到及时治疗, 多数患者能获得接近正常人的寿命和生活质量, 大多预后良好, 反之病情逐渐加重甚至危及生命^[1]。HLD 患者均存在不同程度的肝损害, 相当一部分患者由于病情进行性发展而导致肝硬化, 出现脾肿大和脾功能亢进, 以致影响患者后续驱铜等治疗^[6,7]。脾切除手术是治疗脾功能亢进的方法之一。虽然 HLD 是少数可以治疗的神经遗传病之一, 但是若不能得以早期诊断和治疗, 对患者的生存质量及生命产生极大的影响^[1,8], 所以存在脾功能亢进且明显影响驱铜治疗的 HLD 患者应早期接受脾切除治疗。本研究 21 例 HLD 患者均因存在明显脾功能亢进需行脾切除术治疗。2 例 HLD 患者存在皮质软化灶, 具体病理变化目前尚不完全清楚, 与其他脑皮质病变的区别有待于进一步研究。

HLD 病因是铜 P 型-ATPase(一种阳离子转运 ATPase) 的代谢障碍。目前已发现其蛋白有两种形式, 一个在胞质, 另一个在线粒体^[9]。突变通过破坏和铜伴侣分子 Atox1(一种和铜代谢稳定有关的分子伴侣)的相互作用而使细胞内铜水平增加, 最终使线粒体中的铜水平增加, 导致氧化损伤。已有研究在 HLD 患者的肝脏和外周组织中发现了氧化损伤增加^[10]。蔡莉静等^[11]报道 24 例肝型 HLD 患者的肝脏病理中发现早期病变特征为肝细胞内见脂肪空泡变性、线粒体嵴消失、结构模糊。由于线粒体的病变可以发生在各种肝细胞器损伤的疾病中, 故线粒体异常不能作为 HLD 诊断的确诊依据。本研究 21 例 HLD 患者的腹部肌肉病理及酶组织化学染色发现脑-内脏型 HLD 患者中, 有 4 例(4/10)存在血管壁线粒体功能异常可能, 有 3 例(3/10)患者存在肌肉线粒体功能异常可能, 故 HLD 患者可能存在全身器官的线粒体功能异常, 尤其在脑-内脏型 HLD 患者。本研究结果进一步支持 HLD 患者属于广义线粒体疾病^[12]的概念。

本研究在 2 例脑额顶叶存在软化灶的 HLD 患者的腹部肌肉中均发现典型 SSVs 现象, 而 SSVs 现象是诊断线粒体脑肌病的特异性指标^[13]。本研究的 HLD 中, 有 2 例患者究竟是线粒体脑肌病的一种, 还是继发线粒体功能异常, 还有待于进一步研究证实。但研究结果证实脑-内脏型 HLD 患者存在线粒体功能异常。

洪铭范等^[14]报道 HLD 患者腓肠肌中的铜含量显著高于对照组, 认为腓肠肌铜含量测定可作为 HLD 诊断的一个安全的辅助手段。本研究 21 例 HLD 患者的腹部肌肉均经红氨酸和硫酸铜染色未见铜颗粒出现。究其原因可能系 HLD 患者肌肉中的铜含量低或分布不均匀有关, 另外这两种铜染色方法是否适用于肌肉铜染色, 尚待进一步研究。本研究结果表明这两种方法行肌肉铜染色对 HLD 的诊断价值不大, 有待进一步研究证实。

综上所述, HLD 属于广义线粒体疾病的一种, 肝型 HLD 患者的腹部肌肉未见线粒体功能异常, 而脑-内脏型 HLD 患者的腹部肌肉发现线粒体功能异常。对 HLD 患者行肌肉红氨酸和硫酸铜染色对诊断 HLD 价值不大。

参考文献

- [1] Ala A, Walker AP, Ashkan K, et al. Wilson's disease[J]. *Lancet*, 2007,369:397-408
- [2] 杨任民. 肝豆状核变性[M]. 第 1 版. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1995:66-67
- [3] Roberts EA, Schilsky ML. Diagnosis and treatment of Wilson disease: an update[J]. *Hepatology*, 2008,47:2089-2111
- [4] 卢家红, 林洁, 黄俊, 等. 慢性进行性眼外肌麻痹的临床、病理及诊断(附 6 例报道)[J]. *中国临床神经科学*, 2006, 14:373-378
- [5] Bancroft JD, Gamble M. 组织学技术(第 6 版)英文影印版[M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2008:233-259
- [6] Taylor WJ, Jackson FC, Jensen WN. Wilson's disease, portal hypertension and intrahepatic vascular obstruction[J]. *N Engl J Med*, 1959,260:1160-1164
- [7] Sternlieb I, Scheinberg IH, Walshe JM. Bleeding oesophageal varices in patients with Wilson's disease[J]. *Lancet*, 1970,1:638-641
- [8] 胡纪源, 吕达平, 王共强, 等. 肝豆状核变性的临床误诊研究[J]. *中华医学杂志*, 2001, 81:642-644
- [9] Lutsenko S, Cooper MJ. Localization of the Wilson's disease protein product to mitochondria[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95:6004-6009
- [10] Buiakova OI. Null mutation of the murine ATP7B(Wilson disease) gene results in intracellular copper accumulation and late-onset hepatic nodular transformation[J]. *Hum Mol Genet*, 1999, 8:1665-1671
- [11] 蔡莉静, 李丽, 曹兴国, 等. 肝损害为主的肝豆状核变性临床及超微结构特点[J]. *中华肝脏病杂志*, 2005, 13:919-922
- [12] 焉传祝. 线粒体医学的过去与未来[J]. *中华内科杂志*, 2009, 48: 265-266
- [13] 焉传祝, 李大年. 线粒体病诊断中的若干问题[J]. *中华神经科杂志*, 2005, 38:533-534
- [14] 洪铭范, 杨任民. 肝豆状核变性患者肌肉铜、锌、铁、镁含量及二巯基丁二酸钠疗效探讨[J]. *临床神经病学杂志*, 1995, 8: 339-341

(2012-08-23 收稿 2012-10-08 修回)