

血浆葡萄糖鞘氨醇检测在戈谢病患者治疗随访中的应用

占霞 张惠文¹ 高晓岚¹ 顾学范¹ 陈琳军² 郭若冰²

上海交通大学医学院附属新华医院 上海市儿科医学研究所儿内分泌遗传代谢科, 上海 200092;²上海交通大学医学院附属新华医院血液科, 上海 200092

通信作者:张惠文,Email:zhanghuiwen@xinhumed.com.cn

【摘要】 目的 探索血浆葡萄糖鞘氨醇水平在戈谢病患者治疗随访中的应用。方法 收集在 2017 年 1 月至 2020 年 7 月上海交通大学医学院附属新华医院规律使用伊米甘酶治疗的戈谢病患者, 分两组, 组 1 为 6 例初治患者, 包括 1 例壳三糖酶缺失型, 年龄 10~43 岁, 女 4 例, 男 2 例, 分析治疗前后患者血常规、壳三糖酶活性和血浆葡萄糖鞘氨醇水平; 组 2 为 6 例长期接受特异性治疗的戈谢病患者, 其中包括 3 例壳三糖酶缺失型, 年龄 17~32 岁, 女 2 例, 男 4 例, 分析 2017 年 1 月至 2020 年 7 月治疗期间患者血浆葡萄糖鞘氨醇水平。结果 组 1 患者治疗 12 个月后血小板升高 ($P < 0.05$), 治疗 30 个月血红蛋白升高 ($P < 0.05$); 治疗 18 个月后 5 例患者的壳三糖酶活性降低 ($P < 0.05$), 治疗 30 个月壳三糖酶活性中位数下降 $7\,278\text{ nmol}\cdot\text{ml}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$; 而血浆葡萄糖鞘氨醇水平在治疗仅 3 个月后即开始降低 ($P < 0.05$), 治疗 30 个月葡萄糖鞘氨醇水平中位数下降 $259.7\text{ }\mu\text{g/L}$ 。组 1 患者血浆葡萄糖鞘氨醇水平变化与壳三糖酶活性呈正相关, Spearman 相关系数为 0.863, $P < 0.001$ 。组 2 患者外周血血常规正常, 肝脾未及肿大, 2017 至 2020 年血浆葡萄糖鞘氨醇水平较首次测定值均下降 (均 $P < 0.05$), 末次检测值中位数下降 $23.4\text{ }\mu\text{g/L}$ 。结论 戈谢病患者血浆葡萄糖鞘氨醇水平测定可用于患者短期治疗和长期治疗的随访治疗监测。

【关键词】 戈谢病; 壳三糖酶; 葡萄糖鞘氨醇

基金项目:上海市教育委员会“高峰高原”计划(20152520);上海市科学技术委员会科研计划(19140904100);国家重点研发计划(2016YFC0905100、2016YFC0901505)

DOI:10.3760/cma.j.cn112137-20200717-02138

Application of plasma glucosylsphingosine detection in the follow-up of patients with Gaucher disease

Zhan Xia¹, Zhang Huiwen¹, Gao Xiaolan¹, Gu Xuefan¹, Chen Linjun², Guo Ruobing²

¹Department of Pediatric Endocrinology and Genetic Metabolism, Shanghai Institute for Pediatric Research/Xinhua Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200092, China; ²Department of Hematology, Xinhua Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200092, China
Corresponding author: Zhang Huiwen, Email: zhanghuiwen@xinhumed.com.cn

【Abstract】 Objective Explore the application of plasma glucosylsphingosine level in the follow-up treatment of patients with Gaucher disease. **Methods** Two groups of patients with Gaucher disease were enrolled, who regularly received imiglucerase treatment in Xinhua Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine between January 2017 and July 2020. Group 1 was 6 initially treated patients, including 1 case of chitotriosidase deficiency, aged 10–43 years old, 4 females and 2 males. The blood routine test, chitotriosidase activity and plasma glucosylsphingosine level were measured during pre- and post-treatment. Group 2 were 6 cases of Gaucher disease including 3 cases of chitotriosidase deficiency, who received long-term specific treatment in the same hospital, aged 17 to 32 years, 2 females and 4 males. The plasma glucosylsphingosine level was detected in the follow-up treatment during January 2017 to July 2020. **Results** Patients in group 1 had a significant increase in plasma platelets after 12 months of treatment ($P < 0.05$), and also a significant increase in plasma hemoglobin after 30 months of treatment ($P < 0.05$). The chitotriosidase activity of 5 patients in group 1 significantly decreased after 18 months of treatment ($P < 0.05$), the median value of the chitotriosidase activity decreased by

7 278 nmol · ml⁻¹ · h⁻¹ at 30 months of treatment. While only 3 months after treatment, the plasma glucosylsphingosine levels of 6 patients in group 1 decreased significantly ($P < 0.05$), the median value of the glucosylsphingosine levels decreased by 259.7 μg / L at 30 months of treatment. The plasma glucosylsphingosine levels in group 1 patients were positively correlated with chitotriosidase activity, with spearman of 0.863, $P < 0.001$. In group 2, 6 patients with Gaucher disease that had been treated for a long period of time, showed normal peripheral blood routine tests, normal liver and spleen volume. However, the plasma glucosylsphingosine levels in group 2 patients decreased significantly during 2017–2020 ($P < 0.05$). Compare to the initial values, the median value of the last glucosylsphingosine levels in group 2 patients had been reduced by 23.4 μg/L. **Conclusion** The detection of plasma glucosylsphingosine levels in patients with Gaucher disease could be used for short-term and long-term follow-up of treatment.

【Key words】 Gaucher disease; Chitotriosidase; Glucosylsphingosine

Fund program: Shanghai Municipal Education Commission "Gaofeng" Program (20152520); Shanghai Science and Technology Committee Scientific Research Program (19140904100); National Key Research and Development Program (2016YFC0905100, 2016YFC0901505)

DOI:10.3760/cma.j.cn112137-20200717-02138

戈谢病是由于葡萄糖脑苷脂酶活性缺乏,造成其底物葡萄糖脑苷脂在肝、脾、骨骼、肺,甚至脑的巨噬细胞溶酶体中贮积,导致受累组织器官出现病变,为溶酶体贮积病中较常见的病种。酶替代疗法(enzyme replacement therapy, ERT)特异性地补充患者体内缺乏的葡萄糖脑苷脂酶,国内最常用的为伊米苷酶,能够显著缩小患者的肝脾体积,恢复血红蛋白(Hb)及血小板(PLT)水平^[1-2]。血浆壳三糖酶活性常用于戈谢病患者的辅助诊断和疗效评价。然而,西方人群中大约6%的人群为壳三糖酶缺失^[3-4],王军等^[5]研究发现河南省107名健康人群中dup24纯合突变发生率为27%,Chien等^[6]发现在中国台湾的82名汉族人中壳三糖酶缺失者占30.5%。若戈谢病患者同时携带壳三糖酶基因突变,壳三糖酶活性低,此时壳三糖酶活性不能评价药物对戈谢病患者的疗效。近年研究发现戈谢病患者血浆中的葡萄糖脑苷脂的去乙酰化产物葡糖鞘氨醇的水平显著升高。葡糖鞘氨醇水平与患者的临床症状,如肝脾肿大的严重程度等相关,ERT或底物减少疗法后血浆葡糖鞘氨醇水平降低,可作为一种新型的戈谢病诊断和随访治疗的血浆标志物^[7-10]。

为比较葡糖鞘氨醇和壳三糖酶活性检测在戈谢病患者治疗随访中的作用,本研究回顾性分析6例在新华医院开启伊米苷酶治疗的戈谢病患者血常规、壳三糖酶活性和葡糖鞘氨醇水平,并分析另外6例长期接受特异性治疗的戈谢病患者血浆葡糖鞘氨醇水平,探索新型血浆标志物葡糖鞘氨醇水平在戈谢病患者随访治疗中的应用。

对象与方法

一、研究对象

收集在2017年1月至2020年7月上海交通大学医学院附属新华医院儿内分泌遗传代谢科规律使用伊米苷酶治疗的戈谢病患者,为观察血浆葡糖鞘氨醇水平在患者短期和长期治疗的随访监测中的应用,本研究依据治疗时间分为两组,组1为初始ERT的患者,组2为长期接受特异性治疗的戈谢病患者。两组患者均符合戈谢病的诊断标准^[2],即出现相应的临床表现,且白细胞(WBC)中葡萄糖脑苷脂活性在正常参考值的30%以下。组1包括6例初始ERT治疗患者,分别为病例1~6,女4例,男2例,年龄10~43岁;2017年在上海医保政策支持下开始规律使用伊米苷酶治疗,其中病例6伴有壳三糖酶缺失,病例2和病例5伊米苷酶治疗前已行脾切除。至资料收集时,6例患者已接受伊米苷酶治疗30个月,剂量为每两周30~45 U,静脉输注。

为观察血浆葡糖鞘氨醇水平在长期治疗的戈谢病患者随访中的作用,设立了组2。组2的病例1~6为接受长期特异性治疗的戈谢病患者,年龄17~32岁,女2例,男4例,病例1、3和6携带壳三糖酶缺失。病例1~4参加了世界健康基金会与美国健赞公司的慈善捐助项目,已规律使用伊米苷酶治疗10~19年。病例5、6分别自2001和2007年规律使用伊米苷酶治疗,2010至2015年加入“评价比较每日2次和每日1次口服Genz-112638治疗在已接受每日2次治疗后达到临床稳定的I型戈谢病患者的有效性、安全性及药代动力学的3期、随机、多中心、国际的双盲”临床研究,2015年再次规律使

用伊米苷酶治疗。临床上 6 例患者均无戈谢病相关不适,如血常规正常、肝脾未及肿大、无明显疲劳感。所有检测均取得家长和(或)患者的知情同意,并经上海交通大学医学院附属新华医院伦理委员会批准(编号:XHEC-D-2018-009)。

二、研究方法

1. 血浆葡萄糖鞘氨醇水平测定:参考实验室已建立的方法^[11],留取患者肝素抗凝静脉血,分离得到血浆储存于 -80°C 。吸取 $30\ \mu\text{l}$ 血浆,加入 $120\ \mu\text{l}$ 浓度为 $25\ \mu\text{g/L}$ 的内标溶液,涡旋振荡, $12\ 000\times g$ 离心 $5\ \text{min}$,吸取 $100\ \mu\text{l}$ 上清液,超高效液相色谱-串联质谱仪(美国 Waters 公司 Xevo-TQ-S 型)检测分析。血浆葡萄糖鞘氨醇水平参考范围为 $0.2\sim 1.2\ \mu\text{g/L}$ 。

2. 壳三糖酶活性检测:参考实验室已有的方法^[12],底物 4-甲基香豆素基 4-脱氧壳聚二糖(4-MU-4dC2),购于加拿大 TRC 公司,浓度为 $0.11\ \text{mmol/L}$,加入 $100\ \mu\text{l}$ 底物和 $5\ \mu\text{l}$ 待测血浆, 37°C 水浴 $30\ \text{min}$,加入 $200\ \mu\text{l}\ 0.17\ \text{mol/L}$ 甘氨酸/碳酸钠缓冲液(pH 10.5)终止反应。在激发光 $355\ \text{nm}$ 、发射光 $460\ \text{nm}$ 条件下, $1420\ \text{VICTOR}^2$ (美国 PerkinElmer 公司)检测荧光强度。血浆壳三糖酶活性正常参考范围为 $3\sim 47\ \text{nmol}\cdot\text{ml}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ 。

3. 统计学分析:采用 SPSS 17.0 软件进行分析,连续变量均呈偏态分布,采用 M (范围)表示;不同治疗时间点与治疗前的组间比较采用 Wilcoxon 符号秩和检验;相关性检验采用秩相关分析。双侧检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

结 果

一、基本情况

组 1 1 例患者治疗前,因腰椎骨折脊髓压迫,已经不能独自行走,使用轮椅。经手术和 ERT 联合治疗后,目前已独立行走,完全逆转了疾病进程。目前 4 例成年患者在正常工作。1 例儿童患者在正常学校学习,成绩优良。组 2 长期治疗的 6 例患者,4 例在正常工作,2 例在校学习。

二、初始 ERT 治疗患者血常规变化

组 1 6 例戈谢病患者,ERT 治疗前已有 2 例患者行脾切除,轻度贫血 2 例,PLT 减低 3 例。ERT 治疗 12 个月后,PLT 较治疗前增加($P<0.05$)。ERT 治疗 30 个月,Hb 增高($P<0.05$)。而 WBC 和红细胞(RBC)计数治疗前后比较差异均无统计学意义(均 $P>0.05$),见表 1。

表 1 6 例初始酶替代治疗的戈谢病患者血常规变化
[M (范围)]

治疗时间(月)	白细胞($\times 10^9/\text{L}$)	红细胞($\times 10^{12}/\text{L}$)	血红蛋白(g/L)	血小板($\times 10^9/\text{L}$)
0	6.3(3.7,9.3)	4.0(3.9,5.2)	117(92,151)	87(30,235)
3	6.5(3.1,10.8)	4.0(3.6,5.0)	115(105,152)	87(40,257)
6	7.0(4.9,10.5)	4.3(4.0,4.8)	135(118,158)	100(33,322)
12	4.8(4.3,7.6)	4.5(4.3,5.1)	136(124,156)	105(51,236) ^a
18	7.6(4.9,12.4)	4.5(3.8,5.7)	138(116,171)	142(82,366) ^a
30	7.5(5.7,8.8)	4.5(4.0,5.1)	140(124,158) ^a	158(93,371) ^a

注:与治疗前比较,^a $P<0.05$

三、初始 ERT 治疗患者血浆壳三糖酶活性的变化

组 1 的病例 1~5 治疗前血浆壳三糖酶活性为 $11\ 246(2\ 190\sim 14\ 364)\ \text{nmol}\cdot\text{ml}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$,伊米苷酶治疗 18 个月后,血浆壳三糖酶活性较治疗前下降 $7\ 877(1\ 690\sim 12\ 735)\ \text{nmol}\cdot\text{ml}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ($P=0.043$);治疗 30 个月,壳三糖酶活性较治疗前下降 $7\ 278(1\ 157\sim 11\ 908)\ \text{nmol}\cdot\text{ml}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$,降低了 $36\%\sim 90\%$,见图 1。病例 6 同时伴有壳三糖酶缺失,其壳三糖酶活性低,不能用于评价 ERT 疗效。

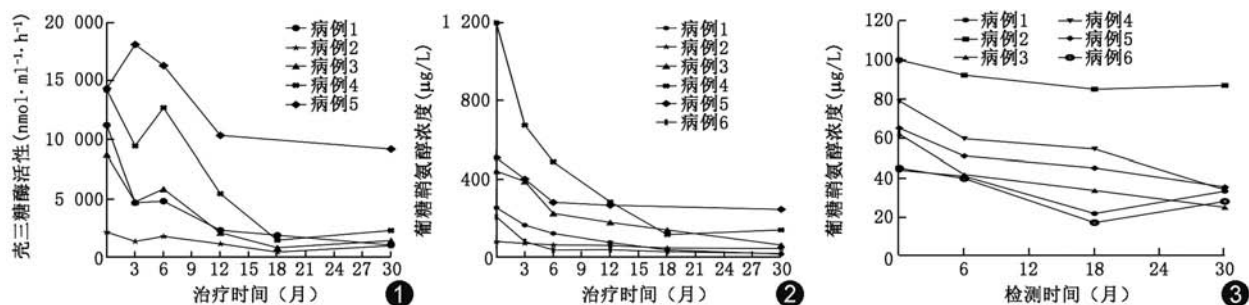
四、初始 ERT 治疗患者血浆葡萄糖鞘氨醇水平的变化

组 1 的 6 例患者治疗前血浆葡萄糖鞘氨醇水平均高于正常参考值 $1.2\ \mu\text{g/L}$,为 $349.1(85.2\sim 1\ 188.9)\ \mu\text{g/L}$ 。治疗 3 个月后,6 例患者血浆葡萄糖鞘氨醇水平较治疗前已显著下降($P<0.05$),降低了 $97.3(9.2\sim 517.4)\ \mu\text{g/L}$, $P=0.028$;至治疗 30 个月,较治疗前下降 $259.7(35.4\sim 1\ 044.7)\ \mu\text{g/L}$,降低了 $42\%\sim 92\%$,见图 2。

ERT 治疗 3 个月和 6 个月,患者外周血 Hb 和 PLT 改善无统计学意义(均 $P>0.05$),壳三糖酶活性未下降(均 $P>0.05$);然而,治疗 3 个月后 6 例患者血浆葡萄糖鞘氨醇水平下降有统计学意义($P<0.05$),从图 1 和 2 观察到治疗后患者葡萄糖鞘氨醇水平下降趋势较壳三糖酶活性更为明显。

五、初始 ERT 治疗患者血浆葡萄糖鞘氨醇水平和壳三糖酶活性的相关性分析

为评价戈谢病患者 ERT 后,其血浆葡萄糖鞘氨醇水平变化和壳三糖酶活性的关系,本研究对组 1 病例 1~5 的血浆葡萄糖鞘氨醇水平与壳三糖酶活性进行秩相关分析,Spearman 相关系数为 0.863 , $P<0.001$,显示戈谢病患者治疗后血浆葡萄糖鞘氨醇水



注:病例5规律使用伊米甘酶治疗,治疗18个月时因患者自身原因未来医院采血复查壳三糖酶活性与葡萄糖鞘氨醇水平,故没有其治疗18个月时的数值 图1 初始替替代治疗的5例戈谢病患者血浆壳三糖酶活性变化 图2 初始替替代治疗的6例戈谢病患者血浆葡萄糖鞘氨醇水平变化 图3 长期治疗的6例戈谢病患者血浆葡萄糖鞘氨醇水平监测

平变化与壳三糖酶活性呈正相关。

六、长期治疗的戈谢病患者血浆葡萄糖鞘氨醇水平

长期治疗的戈谢病患者外周血血象、肝脾体积基本正常。图3为长期治疗的戈谢病患者在2017至2020年随访治疗中的葡萄糖鞘氨醇水平监测。第一次血浆葡萄糖鞘氨醇检测值为63.6(43.8~100.0) μg/L, 6、18、30个月检测值分别为46.2(39.6~92.2) μg/L、39.2(16.96~85.08) μg/L、33.4(24.87~86.99) μg/L,均低于首次检测值(均 $P<0.05$),末次血浆葡萄糖鞘氨醇测定值中位数较首次检测值降低23.4(10.8~45.3) μg/L,下降了14.9%~59.9%。

讨 论

1998年美国国立卫生研究院给疾病生物标志物定义为可客观测量,用来评价生理或病理状态,或监测药物干预反应的参数^[13]。戈谢病患者的壳三糖酶活性较正常人增高数百或上千倍,是戈谢病一个较常用的血浆标志物^[2,12]。研究认为葡萄糖鞘氨醇是更为直接的堆积底物,对戈谢病诊疗随访可能更具有临床意义^[7,14]。本研究组1治疗3个月后6例患者血浆葡萄糖鞘氨醇水平显著降低,治疗18个月5例患者壳三糖酶活性显著下降,提示疾病负荷减轻。组1患者血浆葡萄糖鞘氨醇水平变化与壳三糖酶活性呈正相关,Spearman系数为0.863。病例4治疗前葡萄糖鞘氨醇水平为1 188.9 μg/L,高出正常均值约1万倍,壳三糖酶活性为14 243 nmol·ml⁻¹·h⁻¹, WBC、RBC、Hb及PLT值均降低。治疗30个月后外周血WBC、RBC、Hb及PLT恢复正常,壳三糖酶活性降至2 335 nmol·ml⁻¹·h⁻¹,葡萄糖鞘氨醇水平降至144.2 μg/L。戈谢病患者血浆葡萄糖鞘氨醇水平与壳

三糖酶活性有较强的相关性,与病情严重程度相关,治疗后显著降低,与血常规指标相符,可用于ERT疗效监测。

组1病例2治疗30个月后,其壳三糖酶活性较治疗18个月时轻度升高,而葡萄糖鞘氨醇含量仍降低,这可能与壳三糖酶活性的检测方法有关。荧光法检测壳三糖酶活性可能存在非特异性或者在低值时偏离线性,且其他溶酶体贮积症也可能引起壳三糖酶活性升高^[15]。串联质谱技术利用特征离子对识别目标化合物特异性更好。组1 6例患者治疗12个月PLT值显著增加,治疗18个月壳三糖酶活性显著下降,治疗30个月Hb值显著增高;而葡萄糖鞘氨醇水平在治疗3个月已出现显著下降,提示血浆葡萄糖鞘氨醇水平在戈谢病的随访治疗中具有更好的敏感性。尽早的药物有效性的证明能增强患者坚持治疗的信心,提高治疗依从性。

携带壳三糖酶缺失的戈谢病患者在临床上并不少见,本实验室以前的研究中选取的85例戈谢病研究对象中有30例壳三糖酶活性缺失者^[12]。组1病例6伴有壳三糖酶缺失,壳三糖酶活性不能评价药物疗效。但该患者治疗前葡萄糖鞘氨醇水平显著升高,为210.1 μg/L,治疗后葡萄糖鞘氨醇水平下降,治疗30个月降低至24.5 μg/L。提示血浆葡萄糖鞘氨醇水平在伴有壳三糖酶缺失的戈谢病患者治疗随访中尤为重要。

长期治疗的戈谢病患者血常规相关指标和肝脾体积基本正常,组2患者的首次血浆葡萄糖鞘氨醇检测值的中位数为63.6 μg/L,随治疗推进患者葡萄糖鞘氨醇水平较首次测定值显著降低,提示血浆葡萄糖鞘氨醇水平可用于长期治疗的戈谢病患者的随访治疗监测。

综上所述,血浆葡萄糖鞘氨醇水平可用于戈谢病

患者的随访治疗监测,敏感性较好。本研究病例数不多,仍需在更多病例中继续观察并验证葡糖鞘氨醇检测在戈谢病患者短期及长期治疗中的应用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Revel-Vilk S, Szer J, Mehta A, et al. How we manage Gaucher disease in the era of choices[J]. *Br J Haematol*, 2018,182(4): 467-480. DOI: 10.1111/bjh.15402.
- [2] 中华医学会儿科学分会遗传代谢内分泌学组, 中华医学会儿科学分会血液学组, 中华医学会儿科学分会红细胞疾病(贫血)学组. 中国戈谢病诊治专家共识(2015)[J]. *中华儿科杂志*, 2015,53(4):256-261. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1310.2015.04.006.
- [3] Boot RG, Renkema GH, Verhoek M, et al. The human chitotriosidase gene. Nature of inherited enzyme deficiency[J]. *J Biol Chem*, 1998, 273(40): 25680-25685. DOI: 10.1074/jbc.273.40.25680.
- [4] Bussink AP, Verhoek M, Vreede J, et al. Common G102S polymorphism in chitotriosidase differentially affects activity towards 4-methylumbelliferyl substrates[J]. *FEBS J*, 2009,276(19):5678-5688. DOI: 10.1111/j.1742-4658.2009.07259.x.
- [5] 王军, 冯建飞, 朱绍先, 等. 河南省健康人群中壳三糖苷酶基因型分布[J]. *郑州大学学报(医学版)*, 2003,38(6):934-936. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6825.2003.06.037.
- [6] Chien YH, Chen JH, Hwu WL. Plasma chitotriosidase activity and malaria[J]. *Clin Chim Acta*, 2005, 353(1-2): 215; author reply 217. DOI: 10.1016/j.cccn.2004.11.013.
- [7] Murugesan V, Chuang WL, Liu J, et al. Glucosylsphingosine is a key biomarker of Gaucher disease[J]. *Am J Hematol*, 2016, 91(11):1082-1089. DOI: 10.1002/ajh.24491.
- [8] Irún P, Cebolla JJ, López de Frutos L, et al. LC-MS/MS analysis of plasma glucosylsphingosine as a biomarker for diagnosis and follow-up monitoring in Gaucher disease in the Spanish population[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2020, 58(5): 798-809. DOI: 10.1515/cclm-2019-0949.
- [9] Rolfs A, Giese AK, Grittner U, et al. Glucosylsphingosine is a highly sensitive and specific biomarker for primary diagnostic and follow-up monitoring in Gaucher disease in a non-Jewish, Caucasian cohort of Gaucher disease patients[J]. *PLoS One*, 2013,8(11):e79732. DOI: 10.1371/journal.pone.0079732.
- [10] Smid BE, Ferraz MJ, Verhoek M, et al. Biochemical response to substrate reduction therapy versus enzyme replacement therapy in Gaucher disease type 1 patients[J]. *Orphanet J Rare Dis*, 2016,11:28. DOI: 10.1186/s13023-016-0413-3.
- [11] Kang L, Zhan X, Gu X, et al. Successful newborn screening for Gaucher disease using fluorometric assay in China[J]. *J Hum Genet*, 2017,62(8):763-768. DOI: 10.1038/jhg.2017.36.
- [12] 王瑜, 张惠文, 叶军, 等. 两种血浆壳三糖苷酶活性测定方法的比较及其临床应用[J]. *中华儿科杂志*, 2012, 50(11): 834-838. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1310.2012.11.008.
- [13] Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework[J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2001, 69(3): 89-95. DOI: 10.1067/mcp.2001.113989.
- [14] Tylki-Szymańska A, Szymańska-Rożek P, Hasiński P, et al. Plasma chitotriosidase activity versus plasma glucosylsphingosine in wide spectrum of Gaucher disease phenotypes - a statistical insight[J]. *Mol Genet Metab*, 2018, 123(4):495-500. DOI: 10.1016/j.ymgme.2018.02.004.
- [15] Guo Y, He W, Boer AM, et al. Elevated plasma chitotriosidase activity in various lysosomal storage disorders[J]. *J Inher Metab Dis*, 1995,18(6):717-722. DOI: 10.1007/BF02436762.

(收稿日期:2020-07-17)

(本文编辑:吕相征)

·读者·作者·编者·

本刊对论文中实验动物描述的要求

根据国家科学技术部 1988 年颁布的《实验动物管理条例》和卫生部 1998 年颁布的《医学实验动物管理实施细则》,本刊对论文中有关实验动物的描述,要求写清楚以下事项:(1)品种、品系及亚系的确切名称;(2)遗传背景或其来源;(3)微生物检测状况;(4)性别、年龄、体重;(5)质量等级及合格证书编号;(6)饲养环境和实验环境;(7)健康状

况;(8)对动物实验的处理方式。

医学实验动物分为四级:一级为普通级;二级为清洁级;三级为无特定病原体(SPF)级;四级为无菌级(包括悉生动物)。卫生部级课题及研究生毕业论文等科研实验必须应用二级以上的实验动物。