

¹H 磁共振波谱无创检测手术创伤前后新西兰兔后肢肌肉谷氨酰胺、谷氨酸的总含量

叶 欣¹, 于健春¹, 冯 逢², 何桂珍¹,
樊跃平¹, 胡 凌², 孙 非³, 金征宇²

中国医学科学院 北京协和医学院 北京协和医院 ¹基本外科 ²放射科, 北京 100730

³通用电气(中国)有限公司医疗系统, 北京 100176

通信作者: 于健春 电话: 010-65296038, 电子邮件: yu-jch@vip.sohu.com

摘要: **目的** 评价¹H 磁共振波谱(MRS)无创检测手术创伤引起的骨骼肌内谷氨酰胺(Gln)、谷氨酸(Glu)代谢改变的可行性。**方法** 建立新西兰兔手术创伤模型15只,在术前和术后第2天应用¹H MRS扫描后肢肌肉,同时采集血样和肌肉活检标本待测。MRS数据采集包括Gln、Glu混合物(Glx)和总肌酸(TCr)的峰高和峰下面积值,比较二者稳定性;选择较稳定者,以Glx/TCr比值作为反映新西兰兔后肢肌肉内Glx含量的指标;观察该指标在手术前后的变化,并传统氨基酸分析方法反相高效液相色谱法(RP-HPLC)检测血浆、肌肉组织内游离Gln、Glu浓度变化相比较,评价MRS无创检测手段的可行性。**结果** MRS检测时峰高比峰下面积稳定;Glx/TCr峰高比值的变异系数为(15.62±9.87)%;Glx/TCr峰高比值术后第2天比术前显著下降($P<0.05$, $P<0.01$);术后第2天血浆和肌肉组织内游离Glx浓度与术前相比,差异均无显著性。**结论** MRS检测指标与RP-HPLC测定指标在反映手术创伤对骨骼肌内Glx代谢的影响时具有一致的结果;MRS用于骨骼肌内Gln、Glu代谢研究是可行的。

关键词: 磁共振波谱;反相高效液相色谱法;创伤;骨骼肌;氨基酸代谢;谷氨酰胺;谷氨酸

中图分类号: R445.2; R605.979 文献标识码: A 文章编号: 1000-503X(2008)02-0201-07

Noninvasive Quantification of Glutamine and Glutamate in Skeletal Muscles of Perioperative Rabbits with Proton Magnetic Resonance Spectroscopy

YE Xin¹, YU Jian-chun¹, FENG Feng², HE Gui-zhen¹, FAN Yue-ping¹,
HU Ling², SUN Fei³, JIN Zheng-yu²

¹ Department of General Surgery, ² Department of Radiology, PUMC Hospital, CAMS and PUMC, Beijing 100730, China

³ GE Medical System, Beijing 100176, China

Corresponding author: YU Jian-chun Tel: 010-65296038, E-mail: yu-jch@vip.sohu.com

ABSTRACT: Objective To evaluate the feasibility of noninvasive quantification of the metabolic changes of glutamine (Gln) and glutamate (Glu) in the skeletal muscles caused by abdominal surgery with proton magnetic resonance spectroscopy (MRS). **Methods** Abdominal surgery were performed on 15 healthy Zelanian rabbits. MRS data, blood specimens, and muscular tissues were obtained on the day before surgery and the second day after surgery. MRS data included peak amplitude and peak area of Gln + Glu (Glx) and total creatine (TCr). The reproducibility of peak amplitude with peak area was compared and the better one was chosen to calculate the ratio of Glx to TCr. Free Gln and Glu concentrations in serum and muscles were analyzed by reversed phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC). The results of MRS were compared with

those of RP-HPLC to evaluate the feasibility of MRS application in Gln and Glu metabolism. **Results** Peak amplitude had better reproducibility than peak area under our conditions. The coefficient of variation (CV) of the ratio of the amplitude of Glx to TCr was $(15.62 \pm 9.87)\%$. The ratio of the amplitude of Glx to TCr significantly decreased on the second day after surgery ($P < 0.05$, $P < 0.01$). The mean free Glx concentrations in both the serum and the muscles different were not significant between on the second day after surgery and on the day before surgery. **Conclusions** The results of MRS application in reflecting the effects of surgical trauma on muscular Glx metabolism are consistent with those of RP-HPLC. It is feasible to apply MRS in the study of muscular Gln and Glu metabolism.

Key words: magnetic resonance spectroscopy; reversed phase high-performance liquid chromatography; trauma; skeletal muscle; amino acid metabolism; glutamine; glutamate

Acta Acad Med Sin, 2008,30(2):201-207

谷氨酰胺 (glutamine, Gln) 是一种“条件必需氨基酸”和“免疫营养素”^[1], 研究证实补充 Gln 的肠外内营养具有重要意义: 保护肠黏膜屏障、减少肠道细菌移位^[2]; 调节谷胱甘肽代谢、保护肝功能^[3]; 改善重症患者氮平衡、缩短住院时间、降低感染率和病死率^[4]等。谷氨酸 (glutamate, Glu) 是 Gln 的代谢产物。目前, 应用于 Gln、Glu 代谢研究的主要氨基酸分析方法如反相高效液相色谱法 (reversed phase high-performance liquid chromatography, RP-HPLC) 需通过有创性操作获取体液或组织标本进行测定, 人体应用受限; 同时, 活检操作对组织或个体造成损伤, 无法实现连续动态检测, 同时使研究成本增加。

磁共振波谱 (magnetic resonance spectroscopy, MRS) 是在磁共振成像 (magnetic resonance imaging, MRI) 基础上发展的新型功能分析诊断方法, 是目前唯一可以实现无创性检测活体组织代谢、生化改变和化合物定量分析的新技术^[5], 其基本原理是核磁共振现象与化学位移作用^[6]。应用较多的原子核包括¹H、³¹P、¹³C 等,¹H 因在机体内的含量和对 MRS 检测敏感性较高, 临床应用较普遍^[6]。¹H MRS 在脑部的研究和应用较成熟, 能检测到的常见代谢物质包括: N-乙酰门冬氨酸、 γ -氨基丁酸、Glu 和 Gln、肌酸 (creatine, Cr) 和磷酸肌酸 (phosphate creatine, PCr)、胆碱、肌醇等^[7], 而在脑外器官组织如肝脏、乳腺、前列腺、肌肉的应用仍处于初步探索阶段。本研究主要评价应用¹H MRS 无创检测手术创伤对新西兰兔后肢肌肉内 Gln、Glu 代谢影响的可行性。

材料和方法

实验动物 选择 15 只健康成年新西兰兔, 体重 (2.83 ± 0.24) kg。其中雄性兔 8 只, 体重 (2.74 ± 0.13) kg; 雌性兔 7 只, 体重 (2.94 ± 0.29) kg, 雌雄间体重差异无显著性。实验动物由中国医学科学院北京协和医院实验动物中心 [许可证号: SYXK (京) 2005-0008] 提供和饲养。饲养环境为普通环境, 温度 20~22℃, 相对湿度 40%~70%, 每日 12 h 仿日光灯照。实验动物分笼饲养, 实验前适应性喂养 1 周, 饲料采用家兔全价颗粒饲料, 由北京科澳协力饲料有限公司 [京动许字 (2000) 第 015 号] 提供, 每日定时喂食 100 g, 动物随时自由饮用清水。

主要试剂及仪器 戊巴比妥钠、四氢呋喃 (色谱纯) (北京化学试剂公司), 5-磺基水杨酸 (分析纯) (北京国华化学试剂厂), 甲醇 (色谱纯)、乙腈 (色谱纯) (Fisher Scientific, USA), 巯基乙醇 (Johnson Matthey Company, UK), 邻苯二甲醛 (北京金龙化学试剂公司), 氢氧化钠、硼酸、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠 (北京化工厂), 氨基酸标准品 (Beckman Instruments, Ger)。匀浆仪 (ULTRA TUR-RAX IKA 18 basic, Ger), 色谱柱 (Hypersil BDS C18, USA), 高效液相色谱仪 (JASCO PU-980, Japan), 荧光检测器 (JASCO 821-FP, Japan), 核磁机及膝关节线圈 (GE SIGNA 3.0T, USA)。

手术创伤模型的建立 麻醉满意后, 常规备皮、消毒、铺巾。取腹正中切口, 自距胸骨剑突下缘 5 cm 处开始, 长约 10 cm, 依次切开皮肤、皮下组织、肌层以及腹膜壁层, 暴露腹腔。将肠曲翻出腹腔,

自胃幽门开始,依次辨别十二指肠、空肠、回肠、盲肠、阑尾、结肠至直肠,探查完毕,将肠曲纳回腹腔。探查过程注意保护脏器和血管,对小血管出血及时压迫止血。检查切口无渗血,依次间断缝合肌层和皮肤,再次消毒切口及周围皮肤。共建立新西兰兔手术创伤模型 15 只。

MRS 信号采集与处理 对每只新西兰兔手术创伤模型分别在术前和术后第 2 天应用¹H MRS 扫描后肢肌肉,获取 Gln、Glu 混合物(Gln + Glu, Glx)和总肌酸(total creatine, TCr)的峰高和峰下面积值。麻醉满意后,将新西兰兔俯卧位固定于膝关节线圈中。先行 MRI 扫描获取后肢肌肉定位像,选取后肢近端内侧粗大肌肉群肌腹处放置 15 mm × 15 mm × 15 mm 扫描框,使其处于均匀肌肉组织中,避开骨骼、血管、皮下组织等。匀场至线宽小于 20 开始扫描。扫描序列为点分辨波谱序列,参数包括:回波时间 94 ms、重复时间 2000 ms、视野 20 mm、激发次数 8、采集次数 96 次、扫描时间 4 min。扫描完毕采用 SAGE 软件分析处理原始信号,得到谱线,记录 3.03 ppm 处 TCr、3.88 ppm 处 Glx 的共振峰峰高和峰下面积值。对每一动物以上策略分别扫描双侧后肢肌肉,每侧重复扫描 3 次。术前和术后第 2 天 MRS 信号采集区域位置相同。分别计算 3 次重复扫描时峰高与峰下面积的变异系数(coefficient of variation, CV),比较二者的稳定性,选取较稳定者,以 Glx/TCr 比值作为反映新西兰兔后肢肌肉内 Glx 含量的指标。每侧后肢取 3 次扫描结果的平均值作为当次 Glx/TCr 比值,观察其在手术前后的变化,并对双侧后肢的 Glx/TCr 比值进行相关性分析。

血浆和肌肉标本获取及测定 MRS 扫描完毕后按无菌操作原则进行血样采集和肌肉活检。麻醉状态下通过心脏穿刺采集 3 ml 血液,立刻注入抗凝管,保存在冰浴中。4℃ 下以 3 000 r/min 离心 15 min,取上清液置于 eppendorf 管中,保存于 -80℃ 冰箱中待检。为避免破坏 MRS 信号采集区域的肌肉组织,利于术后重复扫描,根据 MRI 扫描获取的后肢肌肉定位像,确定后肢肌肉活检采集自位于 MRS 扫描框所在肌肉群表层的少量肌肉组织,取右后肢股薄肌肌腹处肌膜下直径约 5 mm 的肌肉组织,迅速称湿重并记录,置于 eppendorf 管中,保存在 -80℃ 冰箱中待检。术前与术后第 2 天的肌肉标本均取相同处。将待测血样和肌肉标本送至北京协和医院外科营养及

代谢实验室按文献[8]进行反相高效液相色谱法测定血浆和肌肉组织内游离 Gln、Glu 浓度,其和为游离 Glx 浓度。

RP-HPLC 法重复性检测 将已知浓度氨基酸标准品重复测定 3 次,对同一动物连续采集 3 管血样进行测定、将同一块肌肉活检标本分成 3 份进行测定,分别计算这 3 种情况下所测定出的游离 Gln 和 Glu 浓度的 CV 值。

统计学处理 计量资料以均数 ± 标准差表示, CV = 标准差/平均值。配对资料的比较采用配对样本 *t* 检验,由 SPSS 13.0 软件完成, *P* < 0.05 表示差异具有显著性。

结 果

术后一般情况 新西兰兔术后摄食明显减少,由术前每日 100 g 减少至每日 10 ~ 30 g,精神萎靡,活动减少。体重在术后第 2 天 [(2.55 ± 0.22) kg] 比术前 [(2.83 ± 0.24) kg] 显著降低 (*P* < 0.01)。手术切口在术后第 2 天完全愈合,所有动物无手术及肌肉活检伤口处感染。

新西兰兔后肢肌肉的¹H MRS 谱线 健康新西兰兔右后肢肌肉 3.0 T 磁场强度下¹H MRS 谱线显示,TCr 共振峰位于 3.0 ppm 左右,由 -CH₃ 基团产生;而 Glx 共振峰位于 3.8 ppm 左右,由 α-CH-基团产生,Gln 与 Glu 因化学结构相近,二者共振峰无法分开。本研究采集的 Glx 共振峰呈倒置,获取数据时只需将其 180 度旋转即可(图 1)。

重复扫描时峰高与峰下面积的稳定性 TCr 峰高 CV 值 (4.29 ± 3.08)%, 峰下面积 CV 值 (5.44 ± 3.71)%; Glx 峰高 CV 值 (14.61 ± 8.16)%, 峰下面积 CV 值 (45.25 ± 27.55)%; TCr 和 Glx 峰高检测的变异性均比峰下面积小 (*P* < 0.05) (图 2)。重复 3 次扫描时 Glx/TCr 峰高比值的 CV 值为 (15.62 ± 9.87)%。

手术前后及同一动物左、右后肢 Glx/TCr 的峰高比值 左、右后肢以及双后肢的 Glx/TCr 峰高比值术后第 2 天较术前显著降低(表 1),下降幅度分别为 23%、34%、29%。对术前和术后第 2 天同一动物左、右后肢 Glx/TCr 峰高比值进行相关性分析显示,以过原点的直线进行拟合,斜率分别为 0.958 和 1.042,均接近 1,相关系数分别为 0.789 和 0.763 (图 3)。

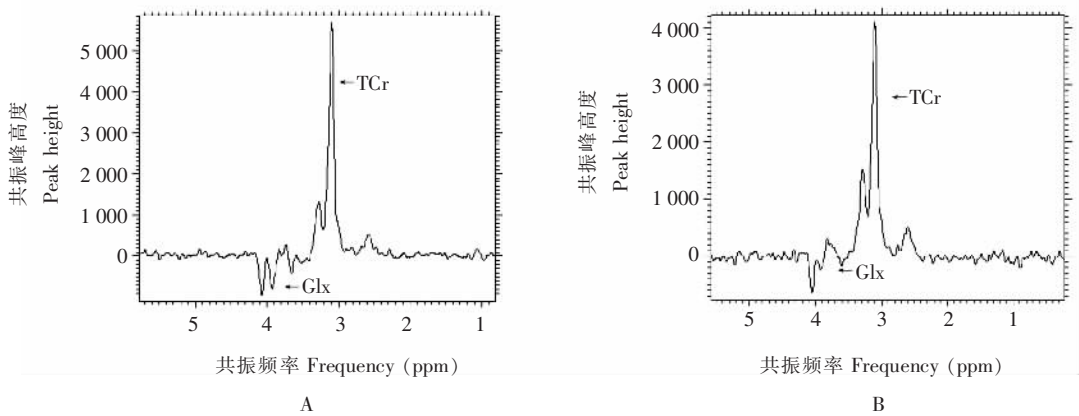


图 1 同一动物术前 (A) 和术后第 2 天 (B) ¹H MRS 谱线

Fig 1 Representative ¹H MRS spectra acquired from one subject on the day before surgery (A) and the second day after surgery (B) 箭头表示 TCr 和 Glx 共振峰位置; TCr: 总肌酸; Glx: Gln + Glu; Gln : 谷氨酰胺; Glu: 谷氨酸
Each peak of Glx and TCr is labeled with respective arrow; TCr: total creatine; Glx: Gln + Glu; Gln: glutamine; Glu: glutamate

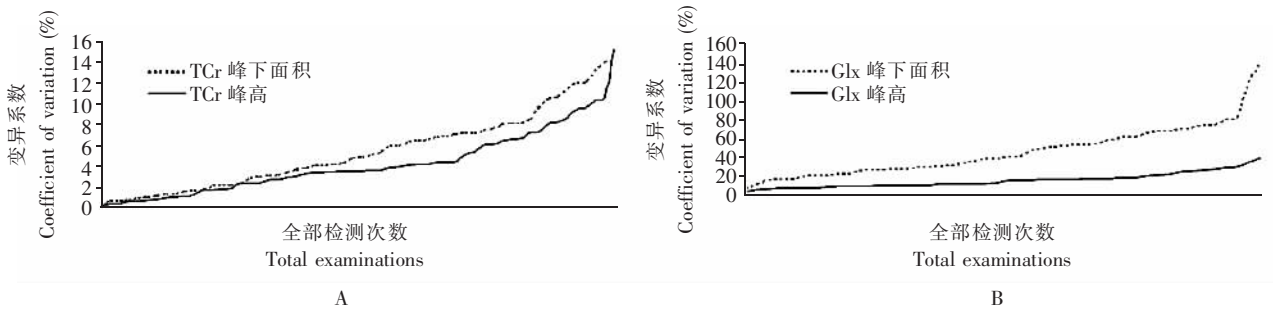


图 2 峰高和峰下面积的变异系数
Fig 2 Coefficient of variation of peak amplitude and peak area
A. TCr; B. Glx

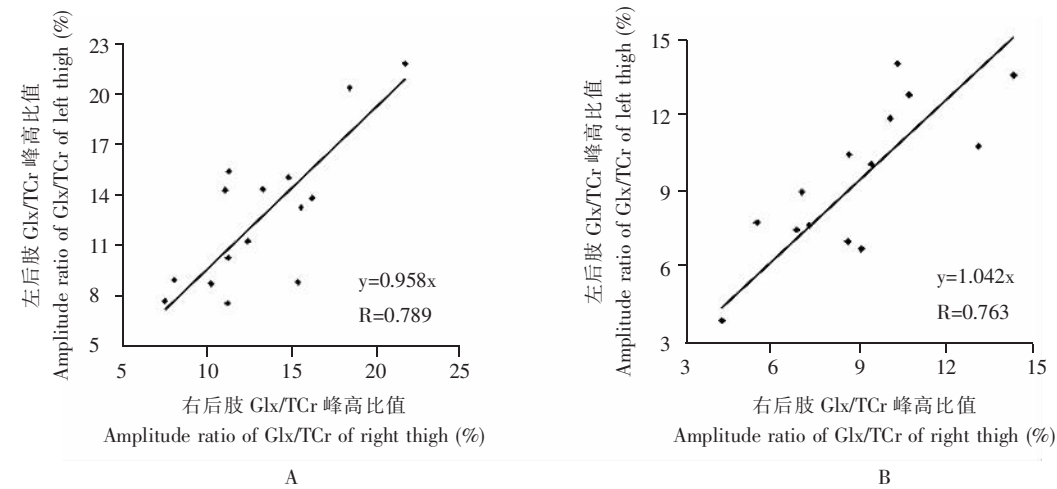


图 3 同一动物左、右后肢 Glx/TCr 峰高比值的相关性

Fig 3 Correlation between the ratio of the amplitude of Glx to TCr of left and right thigh from the same subject
A. 术前; B. 术后第 2 天
每一点代表一只动物
A. the day before surgery; B. the second day after surgery
Each dot represents one subject

表 1 术前和术后第 2 天 Glx/TCr 峰高比值

Table 1 Ratio of the amplitude of Glx to TCr on the day before surgery and the second day after surgery (%)

时间 Time	左后肢 Glx/TCr Glx/TCr of left thigh	右后肢 Glx/TCr Glx/TCr of right thigh	双后肢 Glx/TCr Mean Glx/TCr of both sides
术前 The day before surgery	12.67 ± 4.37	13.16 ± 3.87	12.92 ± 3.90
术后第 2 天 The second day after surgery	9.77 ± 3.10 *	8.66 ± 2.82 **	9.22 ± 2.61 **

与术前比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ compared with the day before surgery

RP-HPLC 测定方法的重复性 RP-HPLC 法分析 Gln 和 Glu 标准品溶液的 CV 值分别为 2.26 % 和 2.37 %, 血浆游离 Gln 和 Glu 浓度的 CV 值分别为 5.71% 和 5.46 %, 肌肉游离 Gln 和 Glu 浓度的 CV 值分别为 3.71% 和 13.90 %。

血浆和肌肉游离 Gln、Glu、Glx (Gln + Glu) 浓度 术后第 2 天血浆和肌肉组织内游离 Gln、Glu、Glx 浓度与术前相比, 差异均无显著性 (表 2)。

表 2 术前和术后第 2 天血浆和肌肉游离 Gln、Glu、Glx 浓度

Table 2 Free Gln, Glu, and Glx concentrations in serum and muscles on the day before surgery and the second day after surgery

项目 Item	术前 The day before surgery	术后第 2 天 The second day after surgery
血浆 Serum (μmol/ml)		
Gln	1.241 ± 0.239	1.139 ± 0.340
Glu	0.124 ± 0.042	0.106 ± 0.035
Glx	1.365 ± 0.262	1.245 ± 0.356
肌肉 Muscles (μmol/g)		
Gln	2.945 ± 1.484	2.462 ± 0.999
Glu	1.230 ± 0.880	1.154 ± 0.628
Glx	4.175 ± 2.085	3.616 ± 1.473

讨 论

手术、创伤、感染、肿瘤等代谢应激引起的 Gln 相对缺乏临床较常见, 对于这些患者, 早期识别 Gln 缺乏并给予补充, 可以改善临床预后^[9]。目前, 临床仅能通过取血测定血浆中游离 Gln 浓度, 而在应激早期, 机体通过释放骨骼肌中储备的 Gln 供应重要器官组织需求, 血浆中游离 Gln 浓度可能维持正常。因此, 仅测定血浆游离 Gln 浓度并不能反映体内 Gln 代谢的真实情况, 早期识别骨骼肌内 Gln 含量尤为重要^[10]。

MRS 独特的优势在于可以无创性获取生物体内代谢物质的含量信息, 通过连续检测实现动态观察, 有助于临床诊断和病情监测。MRS 在 MRI 解剖形态成像的同时进一步提供物质代谢改变的信息。目前,

MRS 在脑部疾病的应用已日趋广泛和成熟, 在脑外器官组织仍处于初步探索阶段, 脑部¹H MRS 能定量检测的常见代谢物质包括 Gln 和 Glu^[7]。本研究 MRS 检测 Gln、Glu 时, 因二者化学结构非常相近, 因此谱线上 3.8 ppm 左右 α-CH-基团产生的共振峰二者无法分开, 只能检测 Gln 和 Glu 的总含量。这是目前条件下 MRS 的局限之一, 主要与磁共振硬件设施、扫描序列及信号分析软件的优劣有关。在 MRS 研究应用相对成熟的脑部 MRS 领域, 已能将二者分别测定^[7]。本研究选择 Gln、Glu 总含量作为考察对象, 初步探索¹H MRS 应用于肌肉组织的可行性。随着高磁场强度的应用、新型扫描序列的诞生以及优秀信号处理软件的开发, MRS 检测的分辨率也将进一步改善^[11], 独立检测 Gln 有可能成为现实。

MRS 中共振峰的峰高和峰下面积均与产生信号的质子数目成正比, 理论上均可以选择用于定量检测, 因此, 文献中二者均有应用, 但目前更倾向于选择峰高。本研究表明峰高比峰下面积具有更好的重复性, 对信号强度高的物质如 TCr, 二者重复性均较好, 差异无显著性; 但对于信号强度低的物质如 Glx, 峰下面积的重复检测变异性则相对过大。因此, 本研究选择 Glx/TCr 峰高比值作为 MRS 检测指标。Glx/TCr 峰高比值的变异性主要取决于 Glx 峰高, 平均 (15.62 ± 9.87) %, 与 RP-HPLC 法相比尚有待提高。研究显示 RP-HPLC 分析组织内游离氨基酸时的重复性通常在 0.4% ~ 6.6%^[12,13]。本研究针对 RP-HPLC 的重复性进行了简单的评测, 其中氨基酸标准品、血浆中游离 Gln、Glu 的检测以及肌肉组织中游离 Gln 的检测均表现出良好的重复性, 但肌肉组织中游离 Glu 的重复性稍差, 这可能与重复检测次数较少有关, 若某一次重复测定时因某些因素造成测定结果的较大误差, 则对 3 次重复检测的整体 CV 值造成较大影响, 应增加重复测定次数, 并适当舍去个别偏差太大的异常值, 从而真实地反映 CV 值。

本研究 MRS 检测方法采用文献中常用的相对定

量法^[14]，即选用一种物质作为参照物，将其他待测物质的共振峰高度或峰下面积与之比较，以比值代表待测物的含量。参照物的选择要求在正常或病理状态下组织内的浓度能保持相对稳定。因有内参照标准，从而消除了不同次扫描时因扫描框位置差异、不同匀场后扫描条件不同等所造成的差异，使同一个体的连续测定数据具有可比性。TCr 是普遍采用的参照物。人体 90% 以上的 Cr 和 PCr 存在于肌肉组织中。Cr 和 PCr 相互转换以调节能量代谢，同时 Cr 和 PCr 转化为肌酐（creatinine, Crn）由尿液排出，其速率非常恒定，每日 Cr 总量的 1.1% 和 PCr 总量的 2.6% 转化为 Crn，折合成 TCr，大约 TCr 总量的 1.7%^[15]。每日转化为 Crn 丢失的 TCr 通过日常粗粮即可重新摄入得到补充，因此，体内 TCr 的总量基本保持恒定^[15]。本研究术前和术后第 2 天 MRS 谱线中，对同一研究对象进行不同次扫描时，TCr 的峰高及峰下面积有一定变化，但其变化程度不及 Glx。MRS 采集的绝对信号值与该物质在扫描框内的浓度以及场强等外部扫描条件有关。即使同一个体含量稳定的某一物质，当其在组织内浓度不均匀时，在不同次扫描中，由于 MRS 扫描框位置的轻微差别、不同匀场后局部场强条件的轻微变化等因素，其产生的绝对 MRS 信号值均可以发生变化，但同次扫描中两种物质的信号比值则消除了这类因素，只与组织内二者的真实浓度比值相关，从而具有可比性。

研究显示采用传统的氨基酸分析方法，手术创伤后骨骼肌细胞内游离 Gln、Glu 浓度均下降^[16,17]，血浆内游离 Gln、Glu 浓度则下降或正常^[10,18]。本研究 RP-HPLC 法测定结果也验证了传统文献的结论：术后第 2 天血浆和肌肉组织内游离 Gln、Glu、Glx 浓度与术前相比，差异均无显著性。

本研究评价了¹H MRS 检测肌肉组织内 Gln、Glu 总含量的可行性，结果表明 MRS 检测指标与传统方法 RP-HPLC 测定指标在手术前后的变化一致，MRS 技术很好地验证了传统理论。此外，研究显示同一动物左、右后肢 MRS 指标间具有较好的相关性。但是在相同研究例数的情况下，MRS 检测指标术后较术前显著下降，而 RP-HPLC 指标则无统计学差异，提示两种方法在反映肌肉组织内 Gln、Glu 含量变化时敏感度不同，MRS 检测的代谢物质也许不仅仅是游离 Gln、Glu，可能早期识别 Gln、Glu 缺乏，但这一结论尚待进一步探究。

本研究显示 RP-HPLC 与 MRS 在检测肌肉组织中

Glx 含量时各有优缺点。RP-HPLC 在定量分析的技术性指标方面更具有优势：（1）作为定量分析方法，RP-HPLC 是痕量物质分析的方法之一。在测定的灵敏度、精确性、重复性等参数上有着优良的评价，是目前氨基酸分离分析最常用的方法。（2）易于掌握，各个专业的使用者都可以轻易学会使用。（3）与核磁机相比，设备便宜，可以实验室为单位进行购置，而不是以大型医疗服务中心为单位。但 RP-HPLC 仍是基于传统分析化学的测定方法，因此，其局限性也是很多分析方法共有的：（1）生物体内物质的测定需获得组织学样本，这是主要的不足之处。组织活检使其临床应用和人体研究明显受限。同时，有创操作及样品处理等都对样本造成了破坏，不能重复测定。（2）操作过程繁琐，耗时相对较长。（3）样品保存、处理等操作可变性较大，人为因素容易造成系统误差。

MRS 的优缺点与 RP-HPLC 相反。其检测的主要优势在于：（1）无创性，这是 MRS 最重要的特点。不需要活组织取材，使人体应用得以拓展；不破坏检测的样本，使样本可重复利用，大大节约研究成本。（2）在传统影像学获取的解剖病理改变基础上进一步提供物质代谢的病理改变，而物质代谢改变通常早于解剖形态的改变，对临床疾患的早期诊断和鉴别诊断具有重要意义。（3）与传统的定量分析方法相比，MRS 更简便、快速，无繁琐的实验室操作，一次扫描时间在 10 min 左右。但目前 MRS 检测技术并不成熟：（1）仍不能胜任生物体内微量物质的定量分析，这是受 MRS 技术发展水平制约的主要局限性。在灵敏度、精确度和重复性等参数上与传统分析方法 RP-HPLC 相比，具有较大差距。（2）尚无成熟的绝对定量测定方法。虽然在脑部有优秀的信号后处理软件 LCModel 的应用从而实现绝对定量测定^[19]，但仍有部分学者对 LCModel 的可信性有所疑虑，且脑外器官仍无类似的优秀软件。（3）分辨率不够高。Gln 与 Glu、Cr 与 PCr 等结构相近的物质仍无法区分开。（4）设备昂贵。（5）技术性较强。MRS 检测的完成需要核磁共振专业医师协助操作仪器，且很多时候需向核磁共振专业医师咨询相关理论。因此，MRS 技术仍需要进一步提高硬件及软件水平，如实现更高磁场强度在人体的应用、提高匀场技术、开发更优越的扫描序列、开发更优越的信号分析处理软件等，从而使该技术更能为临床研究普遍应用。

参 考 文 献

- [1] Calder PC. Immunonutrition in surgical and critically ill patients [J]. Br J Nutr, 2007, 98(Suppl 1):S133-S139.
- [2] Gatt M, Reddy BS, MacFie J. Review article: bacterial translocation in the critically ill - evidence and methods of prevention [J]. Aliment Pharmacol Ther, 2007, 25(7):741-757.
- [3] 于健春, 蒋朱明, 李德敏, 等. 谷氨酰胺调节谷胱甘肽代谢、保护肝脏机理的基础与临床研究 [J]. 肠外与肠内营养, 1996, 3(2):100.
- [4] Bongers T, Griffiths RD, McArdle A. Exogenous glutamine: the clinical evidence [J]. Crit Care Med, 2007, 35(9 Suppl):S545-S552.
- [5] Mullins ME. MR spectroscopy: truly molecular imaging: past, present and future [J]. Neuroimaging Clin N Am, 2006, 16(4):605-618.
- [6] 方虹, 陈宪. 磁共振波谱(MRS)分析技术的原理 [J]. 国外医学临床放射学分册, 1995, 18(4):201-205.
- [7] Tkac I, Henry PG, Andersen P, *et al.* Highly resolved *in vivo* ¹H NMR spectroscopy of the mouse brain at 9.4 T [J]. Magn Reson Med, 2004, 52(3):478-484.
- [8] Terrlink T, van Leeuwen PA, Houdijk A. Plasma amino acids determined by liquid chromatography within 17 minutes [J]. Clin Chem, 1994, 40(2):245-249.
- [9] Tjader I, Berg A, Wernerman J. Exogenous glutamine-compensating a shortage [J]. Crit Care Med, 2007, 35(9 Suppl):S553-S556.
- [10] 蒋朱明, 吴蔚然. 肠内营养 [M]. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 116.
- [11] Pfeuffer J, Juchem C, Merkle H, *et al.* High-field localized ¹H NMR spectroscopy in the anesthetized and in the awake monkey [J]. Magn Reson Imaging, 2004, 22(10):1361-1372.
- [12] Bank RA, Jansen EJ, Beekman B, *et al.* Amino acid analysis by reverse-phase high-performance liquid chromatography: improved derivatization and detection conditions with 9-fluorenyl-methyl chloroformate [J]. Anal Biochem, 1996, 240(2):167-176.
- [13] Kuhn KS, Krasselt AI, Furst P. Glutathione and glutathione metabolites in small tissue samples and mucosal biopsies [J]. Clin Chem, 2000, 46(7):1003-1005.
- [14] Hazany S, Hesselink JR, Healy JF, *et al.* Utilization of glutamate/creatine ratios for proton spectroscopic diagnosis of meningiomas [J]. Neuroradiology, 2007, 49(2):121-127.
- [15] Wyss M, Kaddurah-Daouk R. Creatine and creatinine metabolism [J]. Physiol Rev, 2000, 80(3):1107-1213.
- [16] Luo JL, Hammarqvist F, Andersson K, *et al.* Skeletal muscle glutathione after surgical trauma [J]. Ann Surg, 1996, 223(4):420-427.
- [17] Flaring UB, Rooyackers OE, Wernerman J, *et al.* Glutamine attenuates post-traumatic glutathione depletion in human muscle [J]. Clin Sci, 2003, 104(3):275-282.
- [18] Wilmore DW. The effect of glutamine supplementation in patients following elective surgery and accidental injury [J]. J Nutr, 2001, 131(9 Suppl):2543S-2549S.
- [19] Frye MA, Thomas MA, Yue K, *et al.* Reduced concentrations of N-acetylaspartate (NAA) and the NAA-creatine ratio in the basal ganglia in bipolar disorder: a study using 3-Tesla proton magnetic resonance spectroscopy [J]. Psychiatry Res, 2007, 154(3):259-265.

(2007-02-01 收稿)