

质增生硬化,严重者可使股骨头外移,发生髋关节半脱位。必须认识到,髋关节退行性变也多存在有不同程度的局部缺血坏死的改变和表现,二者有着不可分割的联系。

当然,CT扫描同样也还存在着许多问题不能解决,较公认的是磁共振显像对股骨头无菌坏死早期诊断更有帮助,但是因其成本高、检查费用昂贵而难以广泛应用于该病的检查^[6]。因此,股骨头无菌坏死的早期CT影像诊断研究也就具有了非常重要的意义。

参 考 文 献

- 1 李景学,孙鼎元. 骨关节X射线诊断学. 北京: 人民卫生出版社, 1992. 201-203.
- 2 赵炬才,张铁良. 髋关节外科学. 北京: 中国医药科技出版社, 1992. 47-122.
- 3 曹来宾,刘吉华,徐德永,等. 成人股骨头缺血坏死的X射线诊断(附310例X射线分析). 中华放射学杂志, 1991, 25(6): 342-344.
- 4 刘吉华,杜玉清,徐爱德,等. 成人股骨头缺血坏死的CT研究. 中华放射学杂志, 2000, 34(4): 265-267.
- 5 Sissons HA, Nuovo MA, steiner GC, et al. Pathology of osteonecrosis of the femoral head: a review of experience at the hospital for joint disease. Skeletal Radiol, 1992, 21(4): 229-238.
- 6 李果珍. 临床CT诊断学. 北京: 中国科学技术出版社, 1997. 628-629.

(收稿日期: 2005-12-09)

·临床放射医学·

氢质子磁共振波谱在生理代谢、药物毒副作用监测和疾病诊断中的应用

范明霞 吴仁华

【摘要】 磁共振波谱运用磁共振波谱仪监测生物体液(血液、尿液等)、细胞和生物组织内的病理生理代谢变化,是一种有效的无创伤性代谢学研究方法。本文就氢质子磁共振波谱在生物医学领域内的几个主要方面(生理代谢、药物毒副作用监测和疾病诊断)的应用和发展状况作一基本评述。

【关键词】 磁共振波谱学; 氘; 基础代谢; 药物监测; 诊断

【中图分类号】 R445.2 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1673-4114(2006)05-0317-05

¹H magnetic resonance spectroscopy applications in physiological monitoring, drug safety assessment and disease diagnosis

FAN Ming-xia, WU Ren-hua

(Department of Radiology, The Second Affiliated Hospital, Shantou University Medical College, Shantou 515041, China)

【Abstract】 Magnetic resonance spectroscopy as a technology for measuring response of living systems to pathophysiological stimuli is conducted on biofluids (e.g. urine or blood), cell supernatants or tissue samples and can be regarded as an effective and non-invasively metabolic analysis method. In this review, it is shown how the technique of proton magnetic resonance spectroscopy can be applied to physiological evaluation, drug safety assessment and disease diagnosis and its assessment of the possible future role is also presented.

【Key words】 Magnetic resonance spectroscopy; Deuterium; Basal metabolism; Drug monitoring; Diagnosis

近年来磁共振新技术的不断更新和发展,加快了

磁共振波谱(magnetic resonance spectroscopy, MRS)在生物医学领域内的应用,主要体现在以下几个方面:

(1)波谱研究的原子核多样化。目前用于波谱

作者单位: 515041, 汕头大学医学院附属第二医院放射科
通讯作者: 范明霞(E-mail: SCFMX@163.com)

研究的原子核有氢、磷、氮、碳、氟、钠和钾等,其中氢质子磁共振波谱(proton magnetic resonance spectroscopy, $^1\text{H-MRS}$)仍是现今波谱实验室和临床医学研究中应用最广泛的波谱检测技术。

(2)波谱研究对象和检测方法的多样化。体液研究对象已从尿液、血液扩展到关节滑液、脑脊液、精液等,采用MRS可以直接进行信号检测。生物组织研究对象包括离体组织块和活体组织脏器,对生物离体组织块可采用化学提取法处理后制成样品或采用高分辨魔角旋转波谱(high resolution magic angle spinning spectroscopy, HR MAS)技术直接对完整生物组织块进行信号检测;对生物活体组织则可以根据磁共振定位,在磁共振仪上直接对受检部位进行MRS信号检测,目前该技术已成为分子影像学的一个重要组成部分。

(3)波谱分析方法的多样化和自动化。以高效自动化计算机技术为基础,波谱分析从初始分析数量不多的代谢物发展到运用多种模式识别技术和神经网络自动识别系统等智能化方法处理数据,使整个波谱分析过程变得更加精确和相对简单、容易。

本文着重就 $^1\text{H-MRS}$ 技术在生理代谢、药物毒副作用监测和疾病诊断中的应用和发展状况作基本综合评述,为了解和发展MRS在生物医学领域内的进一步应用提供参考。

1 $^1\text{H-MRS}$ 在生理代谢研究中的运用

了解生物机体的正常生理代谢主要有两方面的意义:①了解不同种类生物的正常生理代谢有无不同,对药物毒性监测和疾病研究中筛选适宜的动物模型十分有价值;②了解正常因素(如生活环境或食物摄取等)、生物本身(如性别和年龄等)或同一组别中不同个体的生理代谢差异,有助于更好地理解和区分在药物、毒素或其他致病因素作用下发生的病理代谢变化。

(1)不同种属及同一种属下不同品系正常生物的尿液排除物有差异。例如,Robertson等^[1]研究发现,人、兔子、大鼠和小鼠的尿液 $^1\text{H-MRS}$ 存在明显的种属差异。Holmes等^[2]发现,多乳头鼠尿液中的氨基乙酸、肌酸、琥珀酸盐、N-乙酰糖蛋白、丙酮酸盐、甜菜碱和其他氨基酸较高,F344鼠的 α -酮戊二酸和三甲胺氮氧化物排除量较高,SD大鼠和F344大鼠的尿液成分基本相似。Holmes等^[3]

采用MRS和监督分级法相结合的研究发现,Han Wistar鼠和SD大鼠的尿液区别率为86%,而Gavaghan等^[4]发现,ApfCD鼠和C57BL107鼠的区别率达98%。

(2)不同鼠类在不同生长环境下的尿液性质有所不同。例如,Griffin等^[5]研究发现,3种野生鼠(bank vole、shrew和wood mouse)与SD大鼠的尿液成分存在明显差异。bank vole野生鼠尿液内芳香簇氨基酸高于SD大鼠,而后的马尿酸盐较高,氨基酸和三羧酸循环中间产物则较低,并且个体差别不大。

(3)同一组中不同个体之间生理代谢变化也可能存在明显差异。例如,Bollard等^[6]收集10只SD雌性大鼠的10d内尿液发现,其中1只大鼠尿液中三羧酸循环中间产物和马尿酸盐相对较低,而牛磺酸、二甲基氨基乙酸、肌酐和葡萄糖比其他鼠高。其他相关研究也发现,正常对照鼠尿液中柠檬酸盐、牛磺酸、马尿酸盐及肾脏渗透压存在着明显的个体差异。

(4)动物性别、生长年龄也会造成MRS检测结果的不同。Plumb等^[7]采用主成分分析(principal components analysis, PCA)方法分析发现,ApfCD和C57BL107两种鼠中均各自存在明显性别差异。Phipps等^[8]发现,大鼠尿液中芳香簇分子、柠檬酸盐、 α -酮戊二酸、牛磺酸和肌酐水平与动物年龄有关,鼠龄小于1个月的幼鼠排除的三甲胺乙内酯和N-氧三甲胺比大龄鼠高。

(5)白天和晚上不同时间点采集的尿液性质不同。大鼠的昼伏夜出的生活习性会影响机体生理代谢,Bollard等^[6]和Solanky等^[9]检测到SD雌性大鼠的白天(晨6点到晚6点)和晚上(晚6点到次日晨6点)尿液有所不同:白天的尿液中牛磺酸、马尿酸盐和肌酐低于晚上,葡萄糖、琥珀酸盐、二甲基氨基乙酸、氨基乙酸、肌氨酸和三甲胺乙内酯高于晚上。Gavaghan等^[4]研究发现,AlpK、ApfCD和C57BL107鼠尿液内肌酸、马尿酸盐、三甲胺、琥珀酸盐、柠檬酸和 α -酮戊二酸白天含量高;N-氧三甲胺、牛磺酸、精胺及3-羟基戊酸盐等低于晚上。由此可见,在进行药物毒理实验时有必要把这个影响因素考虑进去,简单保险的做法就是收集24h尿液。

(6)摄取食物种类和胃肠道微生物环境会影响

体液性质。Phipps 等^[9]发现,食物尤其会影响大鼠尿液内排除的马尿酸盐和胆汁酸代谢物。Nicholls 等^[10]发现,胃肠道微生物群对无菌性大鼠暴露在普通正常环境前后的尿液性质影响很大:无菌性大鼠暴露在普通正常环境后 17 d 内可见葡萄糖增高,三羧酸循环代谢物和 *m*-羟苯基丙酸降低;在第 21 日,尿液性质与无菌环境下对照组相似。这说明在药物毒性代谢研究中,应注意尿液性质可能会受到生物摄取食物种类和胃肠道微生物环境的影响。

2 ¹H-MRS 在药物毒副作用监测中的应用

¹H-MRS 分析生物体内代谢变化信息,找出与毒理作用直接相关的靶器官或特征性代谢物,把刺激因素的作用与生物机体的代谢变化反应直接联系起来,作为一种无创伤性代谢学研究方法,目前已成为制药业中对新药毒副作用评价的重要手段。

¹H-MRS 在药物毒副作用监测中的应用与该技术的不断发展密切相关,主要体现在三个方面:

(1)¹H-MRS 的检测对象已从主要检测生物体液扩展到对靶器官组织直接进行检测。通常,生物机体对药物毒素或其他外界刺激的反应可以通过体液内物质成分的性质和变化反映出来,尿液和血液等体液的收集比较简单、容易,同时也不需要经过复杂的化学处理方法提取后再进行检测,因此,¹H-MRS 对药物的毒副作用的监测对象主要还是选择体液。近年来随着波谱技术的不断发展,尤其是¹H-HRMAS 的出现,提供了直接对生物组织进行检测的新途径^[11]。运用¹H-HRMAS 不仅可以直接了解药物对生物靶组织的毒理作用,如与体液分析和组织病理检查结合,而且可以达到在分子水平上综合观察分析毒理作用的目的。因此,目前 HRMAS 作为惟一能够对完整组织块直接进行代谢分析的技术,在药物毒副作用监测中的应用价值日益引起人们的关注和兴趣。

(2)MRS 信号检测技术的综合运用有利于发现更多的潜在生物组织代谢信息。体液检查中水峰极强,常常会掩盖其他代谢分子信号,故尿液检查常常会采用一个标准的水抑制脉冲;血清或血浆检查通常选择保留小分子的自旋回波(spin-echo)和保留生物大分子的弥散编辑(diffusion-edited)波谱技术,更进一步可采用二维 MRS 编辑技术使数据分散,更有利于区别和发现各信号之间的联系,检出波谱

信号中包含的潜在的生化代谢信息。目前常用的二维 MRS 编辑技术主要有二维 J-resolved, correlation spectroscopy (COSY)和 total correlation spectroscopy (TOCSY)。如果采用 ¹H-¹³C 波谱技术进行异核相关分析则更容易识别与氢质子相连的碳原子化学位移信息。此外,磁共振检测低温探头可以使磁共振仪检测信号的灵敏度提高到 500%,这就意味着可以减少样品耗费或缩短检测时间。

(3)波谱识别技术的迅猛发展使繁杂的 MRS 分析过程变得比较简单、容易。Gartland 等^[12]最早把模式识别技术引入波谱分析,通过运用非监督学习方法中的 hierarchical cluster analysis、2-D-non-linear map(NLM)以及二维和三维 PCA,成功地分析出大鼠中毒性实验动物模型的肝细胞毒性、肾皮质毒性,并且运用计算机设置的 PCA 识别程序对 15 种急性肾毒性药物在大鼠肾皮质和(或)髓质的影响作用进行了分析。Holmes 等^[13]摆脱只靠简单记录 PCA 积分图的限制,引入了多维空间上代谢轨迹图的概念,发现亲肾小管毒性的化合物 HgCl₂ 在致病初始期和恢复期的毒性作用表现相似,而髓质毒性化合物 2-bromoethanamine(BEA)在初始期和恢复期的毒性作用表现存在明显不同。1998 年,Beckwith-Hall 等^[14]运用同样方法分析尿液鉴定出 α -naphthyl isothiocyanate(ANIT), *D*-(+)-galactosamine (GalN)和(butylated hydroxytoluene(BHT)3 种物质的毒性作用的不同,并可进一步根据时间-代谢物轨迹二维图区分这 3 种物质造成的胆管系统或肝实质的毒性损伤。

人工神经网络系统可成功识别出引起肝、肾和睾丸的毒性作用变化,并从中找到毒性作用的靶器官。1995 年,Anthony 等^[15]对药物毒素引起的尿内低分子代谢物通过一个简单的半定量评分系统进行评定,然后输入预设的人工神经网络系统预测和识别不同的毒性作用,筛选出尿内发生最突出变化的 18 个低分子代谢物。Holmes 等^[13]进一步采用人工神经网络系统中可预测性神经网络方法区别出正常对照样品和 4 种遭受毒素作用的样品(肝、肾、肝线粒体性及肾线粒体性),并且该方法区分遭受毒素作用的大鼠不同品系(SD 大鼠和 HW 大鼠)的准确率达 90%。

尤其值得一提的是,2001 年由 6 家国外著名的大型制药公司与英国伦敦大学皇家学院成立的代

谢毒理学协会(Consortium on Metabonomic Toxicology, COMET)^[16]综合运用¹H-MRS和计算机图谱识别技术开展了以尿液、血清和生物组织为研究对象的药物临床前期毒理作用监测规划,建立了预测药物毒性作用的综合代谢学研究数据库和多因素统计学分析模式,从而使MRS在生物医学领域内作为反映生物病理生理、代谢变化的重要技术,与基因组学和蛋白质组学研究一样受到人们的日益关注和重视。

3 ¹H-MRS在疾病诊断中的应用

¹H-MRS在人体疾病诊断中的应用价值主要表现在两大方面^[17,18]:

(1)¹H-MRS体液检查提供了一种新的、无创性诊断途径。一些先天性代谢性病变如采用常规的诊断方法既耗时又不准确,通过对新生儿尿液的¹H-NMR分析往往可以得到确诊,其中1个典型的例子就是¹H-MRS对加罗德(alkaptonuria)综合症的诊断。¹H-MRS和¹³C-MRS研究骨关节炎、风湿性关节炎或创伤性关节炎的膝关节滑液发现,病变程度与糖蛋白上N-乙酰基及甘油三酯水平和类型有关。而¹H-MRS研究脑脊液涉及的病变有药物过量反应、Reye's综合征及Alzheimer's病等。精液研究对象有前列腺液和精囊液。脏器病变中对肾脏尿液的研究比较多,包括慢性肾衰竭、尿毒症、血管球性肾炎、多囊肾及肾移植等。目前还兴起了对冠心病血清MRS研究热潮,目的是通过分析冠状动脉不同程度狭窄患者的血清,了解其对冠心病严重程度的判断和随访监测意义。

(2)病变组织的¹H-MRS检查对疾病的诊断和随访监测提供新途径。依据检测方法和受检生物组织状态不同,¹H-MRS对生物组织病变的应用包括离体波谱和活体波谱两大类。活体波谱通常是指在临床用1.5 Tesla或3.0 Tesla磁共振仪上,根据磁共振定位,然后直接对活体受检组织区域进行MRS检测。离体波谱是指在实验室内采用更高场强的磁共振仪对离体生物体液、细胞或生物组织标本进行检测。与活体波谱检查相比,离体高分辨¹H-NMR检测的波谱信号敏感性高和分辨率高,更容易检测出具有特殊意义的病生理代谢物,是现今波谱实验室中应用最广泛的波谱检测技术。

目前,¹H-MRS多用于反映神经系统病变的代

谢信息和诊断价值研究。离体高分辨¹H-MRS可检测确定的脑内代谢物种类超过二十多种,活体波谱确定的脑内代谢物数量不多(主要有N-乙酰天冬氨酸、胆碱类化合物、磷酸肌酸、柠檬酸盐和乳酸等),但对一些脑肿瘤、代谢性病变、血管性病变的诊断及鉴别诊断已经十分有意义。¹H-MRS在肝脏、肾脏、前列腺、心脏、乳腺及肌肉等其他脏器中的应用也处于积极研究中,相关研究报道也很多,在此不赘述。

总的来讲,常规离体高分辨¹H-MRS需要对生物组织先采用化学匀浆方法提取制成样品后再进行检测,样品制作过程耗时复杂,受影响因素较多,并且单一的水溶性样品或脂溶性样品难以全面反映生物代谢变化信息。而近年来发展起来的HRMAS技术提供了直接检测生物离体组织块的新途径,避免了生物组织的化学提取过程造成的蛋白质或脂肪成分的丢失,尤其是与电脑自动化模式识别技术的结合,使繁杂的谱图识别变得相对简单容易。因此,采用HRMAS技术的¹H-NMR在区分正常和病变生物组织、反映病变组织病生化代谢过程及找出病变组织的特征性代谢物的应用中成了目前生物医学领域内研究的热点,相信随着该技术的不断发展和完善,结合常规高分辨MRS和活体波谱,将进一步促进人类更全面深入了解生物机体的病理生理代谢变化过程。

参 考 文 献

- 1 Robertson DG. Metabonomics in toxicology: a review. *Toxicol Sci*, 2005, 85(2): 809-822.
- 2 Holmes E, Bonner FW, Nicholson JK. Comparative biochemical effects of low doses of mercury II chloride in the F344 rat and the multimammate mouse (*Mastomys natalensis*). *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol*, 1996, 114(1): 7-15.
- 3 Holmes E, Nicholson JK, Tranter G. Metabonomic characterization of genetic variations in toxicological and metabolic responses using probabilistic neural networks. *Chem Res Toxicol*, 2001, 14 (2): 182-191.
- 4 Gavaghan CL, Holmes E, Lenz E, et al. An NMR-based metabonomic approach to investigate the biochemical consequences of genetic strain differences: application to the C57BL10J and Alpk: ApfCD mouse. *FEBS Lett*, 2000, 484(3): 169-174.
- 5 Griffin JL, Walker LA, Garrod S, et al. NMR spectroscopy based metabonomic studies on the comparative biochemistry of the kidney and urine of the bank vole (*Clethrionomys glareolus*), wood

- mouse (*Apodemus sylvaticus*), white toothed shrew (*Crocidura suaveolens*) and the laboratory rat. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, 2000, 127(3): 357-367.
- 6 Bollard ME, Holmes E, Lindon JC, et al. Investigations into biochemical changes due to diurnal variation and estrus cycle in female rats using high-resolution ^1H NMR spectroscopy of urine and pattern recognition. *Anal Biochem*, 2001, 295(2): 194-202.
- 7 Plumb R, Granger J, Stumpf C, et al. Metabonomic analysis of mouse urine by liquid-chromatography-time of flight mass spectrometry (LC-TOFMS): detection of strain, diurnal and gender differences. *Analyst*, 2003, 128(7): 819-823.
- 8 Phipps AN, Stewart J, Wright B, et al. Effect of diet on the urinary excretion of hippuric acid and other dietary-derived aromatics in rat. A complex interaction between diet, gut microflora and substrate specificity. *Xenobiotica*, 1998, 28(5): 527-537.
- 9 Solanky KS, Bailey NJ, Holmes E, et al. NMR-based metabonomic studies on the biochemical effects of epicatechin in the rat. *J Agric Food Chem*, 2003, 51(14): 4139-4145.
- 10 Nicholls AW, Mortishire-Smith RJ, Nicholson JK. NMR spectroscopic-based metabonomic studies of urinary metabolite variation in acclimatizing germ-free rats. *Chem Res Toxicol*, 2003, 16(11): 1395-1404.
- 11 Martin RW, Jachmann RC, Sakellariou D, et al. High-resolution nuclear magnetic resonance spectroscopy of biological tissues using projected magic angle spinning. *Magn Reson Med*, 2005, 54(2): 253-257.
- 12 Gartland KP, Sanins SM, Nicholson JK, et al. Pattern recognition analysis of high resolution ^1H NMR spectra of urine. A nonlinear mapping approach to the classification of toxicological data. *NMR Biomed*, 1990, 3(4): 166-172.
- 13 Holmes E, Bonner FW, Sweatman BC, et al. Nuclear magnetic resonance spectroscopy and pattern recognition analysis of the biochemical processes associated with the progression of and recovery from nephrotoxic lesions in the rat induced by mercury (II) chloride and 2-bromoethanamine. *Mol Pharmacol*, 1992, 42(5): 922-930.
- 14 Beckwith-Hall BM, Nicholson JK, Nicholls AW, et al. Nuclear magnetic resonance spectroscopic and principal components analysis investigations into biochemical effects of three model hepatotoxins. *Chem Res Toxicol*, 1998, 11(4): 260-272.
- 15 Anthony ML, Rose VS, Nicholson JK, et al. Classification of toxin-induced changes in ^1H NMR spectra of urine using an artificial neural network. *J Pharm Biomed Anal*, 1995, 13(3): 205-211.
- 16 Lindon JC, Nicholson JK, Holmes E, et al. Contemporary issues in toxicology the role of metabonomics in toxicology and its evaluation by the COMET project. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2003, 187(3): 137-146.
- 17 Shockcor JP, Holmes E. Metabonomic applications in toxicity screening and disease diagnosis. *Curr Top Med Chem*, 2002, 2(1): 35-51.
- 18 Ian CP, Smith, Stewart LC. Magnetic resonance spectroscopy in medicine: clinical impact (Review). *Prog in Nucl Magn Reson Spectrosc*, 2002, 40(1): 1-34.

(收稿日期: 2005-11-31)

讣告

我国著名的核医学专家、天津市核医学事业创始人之一、天津医科大学总医院核医学科奠基人、我刊专家编审卢倜章教授因病于2006年7月30日与世长辞,享年83岁。

卢倜章教授治学严谨、知识渊博,为我国的核医学事业贡献了毕生精力。他为祖国的核医学事业培养了大量的人才,他的学生中有全国著名的核医学专家和地方病防治专家。他德高医粹,治愈了成千上万的患者,但从不为自己谋取一丝一毫的私利。

自我刊创刊起,卢倜章教授就担任编委和专家编审,30年来,卢倜章教授兢兢业业、一丝不苟地为我刊的编辑出版工作倾注了毕生心血,做出了卓有成效的贡献。在患病期间,仍通过各种途径关心、指导我刊的编辑出版工作和编辑部的发展。

卢倜章教授的不幸逝世,对我刊、对天津市核医学界、乃至对全国核医学事业是一个重大损失,我们沉痛悼念卢倜章教授!

《国际放射医学核医学杂志》编辑部

2006年9月