

- manner[J]. *Hepatology*, 2011, 53(1):282-292.
- [12] Hohenester S, Gates A, Wimmer R, et al. Phosphatidylinositol-3-kinase p110 γ contributes to bile salt-induced apoptosis in primary rat hepatocytes and human hepatoma cells[J]. *J Hepatol*, 2010, 53(5):918-926.
- [13] Godoy P, Hewitt NJ, Albrecht U, et al. Recent advances in 2D and 3D in vitro systems using primary hepatocytes, alternative hepatocyte sources and non-parenchymal liver cells and their use in investigating mechanisms of hepatotoxicity, cell signaling and ADME [J]. *Arch Toxicol*, 2013, 87(8):1315-1530.
- [14] Li WC, Ralphs KL, Tosh D. Isolation and culture of adult mouse hepatocytes[J]. *Methods Mol Biol*, 2010, 633:185-196.
- [15] Li WC, Ralphs KL, Slack JM, et al. Keratinocyte serum-free medium maintains long-term liver gene expression and function in cultured rat hepatocytes by preventing the loss of liver-enriched transcription factors[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2007, 39(3):541-554.
- [16] Buck LD, Inman SW, Rusyn I, et al. Co-regulation of primary mouse hepatocyte viability and function by oxygen and matrix[J]. *Biotechnol Bioeng*, 2014, 111(5):1018-1027.
- [17] Streeter I, Cheema U. Oxygen consumption rate of cells in
• 综 述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.34.039
- 3D culture: The use of experiment and simulation to measure kinetic parameters and optimise culture conditions[J]. *Analyst*, 2011, 136(19):4013-4019.
- [18] Miszczuk GS, Barosso IR, Zucchetti AE, et al. Sandwich-cultured rat hepatocytes as an in vitro model to study canalicular transport alterations in cholestasis [J]. *Arch Toxicol*, 2015, 89(6):979-990.
- [19] Noel G, Le Vee M, Moreau A, et al. Functional expression and regulation of drug transporters in monolayer- and sandwich-cultured mouse hepatocytes [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2013, 49(1):39-50.
- [20] Swift B, Brouwer KL. Influence of seeding density and extracellular matrix on bile acid transport and mrp4 expression in sandwich-cultured mouse hepatocytes [J]. *Mol Pharm*, 2010, 7(2):491-500.
- [21] Li PZ, Li JZ, Li M, et al. An efficient method to isolate and culture mouse Kupffer cells[J]. *Immunol Lett*, 2014, 158(1/2):52-56.
- [22] Wilson CL, Mann J, Walsh M, et al. Quiescent hepatic stellate cells functionally contribute to the hepatic innate immune response via TLR3[J]. *PLoS One*, 2014, 9(1):e83391.

(收稿日期:2015-05-08 修回日期:2015-07-05)

急性周围神经损伤模型建立方法研究进展*

程兴龙, 王培综述, 孙勃, 高云峰, 刘士波, 何新泽, 于昌玉[△]审校
(承德医学院附属医院手足外科, 河北承德 067000)

[关键词] 模型, 动物; 急性周围神经损伤; 综述

[中图分类号] R745

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2015)34-4854-04

急性周围神经损伤是个古老而又棘手的医学难题, 各种损伤因素导致突发周围神经结构及功能不同程度的损伤, 引起肢体运动、感觉及温度调节等功能障碍, 病残率极高。随着社会的发展, 发病率逐年上升, 给社会及家庭带来了沉重的负担, 一直是医学界研究的热门课题。众多学者一直在为推动该病的研究、寻求更好的治疗方案努力, 促使急性周围神经损伤模型及损伤修复研究在不断地发展和前进。

通常急性周围神经损伤模型采用兔或大鼠坐骨神经制作, 建立的急性周围神经损伤模型有一个多世纪之久, 复制损伤机制提供确切的神经病理损伤类型^[1]。早在第二次世界大战时期 Seddon 根据他观察数百创伤病例, 进行的神经损伤三元分类, 即神经失用、轴突断裂及神经断裂, 这种分类法一直沿用至 20 世纪 70 年代。1968 年 Sunderland 对 Seddon 基础上补充至五度, 主要将轴突裂细化分为三型, 根据病理组织学而非伤害的程度, 以电生理和临床再生结果指导是否有手术干预的可能性。1988 年, Mackinnon 和 Del-LON 提出第六度, 有区别于神

经组织结构损伤的前五度伤害, 引起神经干断裂损伤的混合性损伤综合征^[1]; 神经的恢复基于传统组织学、电生理学、行为学理论判定。对于传统的功能评定, Lee 等^[2]学者认为, 既往多采用的神经电生理、组织病理学、坐骨神经指数等检查并不能完全反映神经功能的恢复, 在测定功能恢复评价上, 踝趾运动角及肌肉等长收缩力测定比坐骨神经指数更具有优势。随着后人研究的不断完善和深入, 各种急性周围神经模型的建立推动着神经损伤修复理论不断健全, 现将常用的急性周围神经损伤动物模型综述如下。

1 横断伤法

历史观点认为神经横断法的使用可追溯到 20 世纪初, Santiago Ramón y Cajal 在他 1906 诺贝尔奖的获奖感言中描述^[1]。1974 年 Wall 和 Gutnick 采用横断损伤法制作了早期的动物模型, 暴露兔一侧腓总神经并直视下锐性切断, 后采用外膜缝合或神经移植修复, 设置挤压损伤及假手术对照组, 术后连续行组织病理学观察, 记录再生有髓神经纤维直径、形态及

* 基金项目: 河北省科技计划基金资助项目(142777105D)。 作者简介: 程兴龙(1988—), 在读硕士, 主要从事骨科学临床及基础研究。

[△] 通讯作者, Tel: 15633142808; E-mail: cdguwp@sina.com。

数量方法评价神经恢复,结果提示横断损伤组各个时期神经纤维均有不同程度再生,但对比挤压组,再生有髓神经纤维直径、形态及数量有不同程度障碍,瘢痕明显。考虑前人早期的修复技术及术后评价指标单一等因素的影响,随着后期显微神经修复技术不断改进提高,Himes 等学者分别完善并叙述该模型的建立^[3],采用 SD 大鼠坐骨神经直视下锐性切断,显微镜下吻合修复,术后连续行组织病理学、坐骨神经指数及神经电生理等功能检查,提示肢体运动及神经电生理活动均有不同程度的恢复,但再生神经纤维数量、直径等均存在不同程度的障碍,神经瘢痕不同程度形成。横断法虽然复制临床相似性高,损伤简单、完全、重复性好,直视下完成 Sunderland V 度的损伤,但在修复时,由于神经干全层断裂,神经易回缩,特别是束膜断裂,导致神经断端外漏膨出伴扭转,修复时难以做到神经对位缝合修复,对操作者的显微操作技术是严峻考验。虽然研究证实神经纤维的再生能力十分顽强,但神经修复过程中形成的瘢痕对神经功能的恢复有明显的阻碍作用^[4]。针对横断法在损伤修复过程中的瘢痕与再生的困扰,不断有学者通过药物干预或改善修复方法等途径研究改进,如使用透明质酸、FK506 及钙拮抗剂等药物,或小间隙、螺旋式改良缝合等改良修复手法等方法^[5-9],术后连续针对性地采用 Masson 特殊染色、NF-200、S-100、I、III 型胶原免疫组织化学染色等检测瘢痕与再生的情况,通过研究不断深入,瘢痕与再生的困扰取得一定程度的进展。

横断法也可用来制作神经缺损模型,予切除制作一定长度的神经缺损,传统多采用改变神经走行、屈曲跨过关节等方法,但适合修复缺损长度较小,修复后神经张力较大。现多采用神经移植法,移植术采用自体、异体或人工神经移植等,如采用生物聚合物、生物合成材料、神经导管等材料同种等^[10-14]。

横断法具有损伤彻底、机制相似性、直视化、重复性好等优点,直视下完成 Sunderland V 度的损伤,但在修复过程中显微操作方法及技术是个严峻考验,瘢痕与再生依旧是个棘手的问题,神经损伤预后不理想。

2 挤压法

在既往涉及急性周围神经损伤的文献中,挤压损伤法使用最为广泛^[1],早在 1943 年 Gutmann 等学者成功建立挤压伤法动物模型,并实验中比较挤压、横断或神经移植模型,全身麻醉后暴露兔一侧腓总神经,采用特制钟表钳夹挤压,术后连续行组织病理学检查,光学显微镜下观察和记录有髓纤维计数及纤维直径大小,实验结果提示挤压损伤模型神经纤维再生数量及髓鞘质量优于横断或移植组;由于实验中未描述神经挤压损伤程度及钳夹强度,术后检测指标较单一。1992 年 Chell 等学者在前人模型基础上改进,研制出可控的神经挤压损伤仪器,实验中设置假手术组、神经横断伤组、100 g(13 mm Hg)、500 g(50 mm Hg)和 15 000 g(1 000 mm Hg)大鼠坐骨神经挤压载荷组,术后连续采用 de Medinaceli 法坐骨神经指数及组织病理学检查,实验中所有负荷神经挤压损伤均能再生及功能恢复,但神经损伤恢复时间与损伤负载正相关;由于神经损伤程度未能分类确定,1997 年 Bridge 等对挤压损伤法进一步完善,使用 5 号显微钳子 15 s 单次、15 s 双重、30 s 单次、30 s 双重、60 s 单次、有齿止血钳 30 s 单次及假手术对照组,术后连续行坐骨神经指数检查、神经电生理检查提示各组间结果比较差异无统计学意义($P>0.05$),后期功能均能恢复正常;术后行组织学检查提示,遵循 Sunderland 神经损伤分级,术后损伤证明主要损伤为 II 度,少量为 I 度及 III 度,术后各组间神经再生显

著,但神经纤维尺寸尚未恢复完全正常。前人挤压法制作的神经损伤多为 III 度以下,神经内膜及基底膜结构的保存,损伤范围局限,而后有学者在前人基础上试图制造 Sunderland 评分较高的模型^[15-17],血管钳压或显微持针器挤压(血管钳扣在第 3 个齿痕上约 30 s,显微持针器满扣,时间 5 s,经过测量压力为 5 kg),造成宽度为 2 mm 的挤压伤,直视下见神经钳夹挤压处菲薄,术后组织病理学提示 Sunderland III 度损伤。

神经挤压法具有损伤相似性好、简便易行、重复性好等优点,神经瘢痕少,术后神经功能可完全恢复,已有其他种属神经损伤修复的应用报道,如制作大鼠面神经挤压损伤模型、小鼠视神经挤压损伤动物模型等^[18-19];但其制造的损伤为 Sunderland 评分 III 度以下,损伤程度范围较局限,不能复制临床常见的各种程度挤压损伤,同时混合神经纤维束粗细、来源不同,导致挤压损伤的神经数量及损伤程度的不确定性,不适合目的性明确的神经纤维束损伤的研究。

3 冰冻法

1991 年 Kerns 在 pain 上发表该方法模型的制作,全身麻醉后暴露大鼠右侧坐骨神经,使用液化的二氧化碳气流 9 L/min 制冷的探针冷冻持续约 30 s,后复温解冻。术后连续行坐骨神经指数、组织病理学、热痛觉检查,实验结果提示热痛觉及坐骨神经指数不同程度恢复正常,但神经纤维直径和髓鞘厚度还没有完全恢复;由于前人的未能明确冷冻损伤的程度及控制条件,赵曙光等^[20]进行改进,设定 -60、-80、-100、-120 °C 温度控制梯度,冷冻时间为 60 s,间隔 5 s 复温。术后连续病理切片在光学显微镜、电子显微镜下检查、SSEP 及坐骨神经指数检查,结果提示 -60、-100 °C 冷冻神经可完全阻断神经传导且基底膜完整,能保证冷冻损伤神经完全再生,运动及感觉功能恢复快,而低于 -100 °C 将摧毁神经再生。

在以上实验中使用较强冷冻方法,对实验条件要求较高,术中、术后需监护动物生命体征,实验动物易死亡,针对以上缺点,Jia 等学者制作较温和的冰冻法模型,大鼠坐骨神经置于已预冷的铜槽中,调节冷冻仪控制神经表面温度在 3.5~4.5 °C,时间 60 s,术中恒温电热毯保持大鼠体温。损伤即刻、术后 4 h 及 1、3 d 时处死大鼠取材,连续行组织病理学对比观察。

就损伤机制而言,目前机制尚未能统一,Jia 等认为缺血是周围神经冰冻损伤的主要机制。实验模型较完美的设计在于神经损伤的同时,避免机械性的对外周神经结构的破坏,基底膜保存完整,神经功能可完全恢复,但由于组织冷冻伤、缺血再灌注损伤等病理过程,操作中不可避免地存在周围软组织副损伤及迟发型损伤可能,术后神经再生修复病理生理过程较复杂,不适合急性单纯外周神经损伤的研究。

4 电烧伤法

1994 年陈国华参考 Wilkinson 等学者文献,采用高压放电复制家兔电烧伤动物模型,早期电烧伤法未能选择性地对神经进行损伤,后进一步改进^[21],暴露兔一侧坐骨神经后连接高压装置,施加 10 KV 电压,持续 2 s,术后连续行肌电图(EMG)、神经传导速度(NCV)、皮层体感诱发电位(SEP)及病理学检测,结果提示肌电图及神经传导损伤后第 3 天及第 7 天差异有统计学意义($P<0.05$),功能逐步恢复,组织病理学切片第 3 天及第 7 天提示髓鞘物理性崩解,华勒氏变性明显。就电烧伤损伤机制而言,动物软组织电阻不一,损伤及副损伤难以控制,电流同时可以沿着神经轴向近端及远端传导,引起远近端神经元及远端效应器损伤,术后炎症反应强烈,感染坏死及病死率较高,瘢痕形成严重,神经修复预后差,不适合急性单纯外周

神经损伤的研究。

5 火器伤法

王贵波等^[22]于 2002 年报道了兔坐骨神经火器伤的模型建立,大耳白兔全身麻醉后仰卧位捆绑固定,使用 53 式 7.62 mm 滑膛枪,取一侧坐骨神经体表投影为靶点。损伤即刻取坐骨神经行病理组织学检查,观察可见神经外膜和神经束膜下广泛出血,神经纤维撕裂、排列紊乱,髓鞘板层疏松、分层,轴索变形,部分髓鞘与轴索剥离。火器伤损伤特点是高能量的机械损伤同时伴有热力烧灼伤,常引起近端及远端的神经振荡甚至撕脱伤,神经损伤及副损伤程度难以控制,易引起神经及周围软组织广泛感染坏死及缺损,炎症反应强烈,再生修复病理生理过程复杂,神经再生修复预后差,动物病死率较高,不适合单纯急性外周神经损伤的研究。

6 针刺法

宋英茜等^[23]进行了针刺法的模型建立,家兔全身麻醉后在超声引导下对坐骨神经进行穿刺,并按 6 000 U/kg 的剂量将庆大霉素注入损伤神经。术后连续行组织病理学检查,神经大体观逐渐灰暗、充血、僵硬、粘连;镜下神经出血充血明显、炎性细胞浸润、局部神经轴突消失。针刺法试图制作神经损伤的同时控制周围组织损伤,但由于纤维束损伤的局限性及不确定性,神经功能损伤及恢复较难客观检测,同时不能排除针刺的同时注射药物的化学及物理机械性损伤,病理类型按照 Sunderland 评级难以评定,且超声引导体表定位操作难度较大,复制临床损伤模型应用受到局限。

7 其他

撕脱伤、放射性损伤法等也相继有学者报道^[24-25],虽复制出相似的临床损伤模型,但实际上较少见,病理生理过程复杂,此类模型与临床实际相距较远,故只能在探讨机制的某个方面具有价值,难以推广。

综上所述,随着医学界对急性外周神经损伤修复研究的深入,对急性外周神经损伤的模型需求也越来越高。理想的模型应包括以下几点:(1)损伤机制复制程度高,副损伤少;(2)损伤病理类型确切,实验个体影响因素小;(3)再生修复病理生理过程较明确;(4)实验有客观评价指标;(5)简便易行及重复性好等。纵观目前各类常用急性外周神经损伤模型,为进行外周神经损伤的各项研究带来了便利,但仍存在一定的不足,期待更多更好的模型建立的研制与突破。

参考文献

- [1] Savastano LE, Laurito SR, Fitt MR, et al. Sciatic nerve injury: a simple and subtle model for investigating many aspects of nervous system damage and recovery[J]. *J Neurosci Methods*, 2014, 227: 166-180.
- [2] Lee JY, Giusti G, Wang H, et al. Functional evaluation in the rat sciatic nerve defect model: a comparison of the sciatic functional index, ankle angles, and isometric tetanic force[J]. *Plast Reconstr Surg*, 2013, 132(5): 1173-1180.
- [3] Tandrup T, Woolf CJ, Coggeshall RE. Delayed loss of small dorsal root ganglion cells after transection of the rat sciatic nerve[J]. *J Comp Neurol*, 2000, 422(2): 172-180.
- [4] 朱家恺, 罗永湘, 陈统一. 现代周围神经外科学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2007.
- [5] Que J, Cao Q, Sui T, et al. Effect of FK506 in reducing scar formation by inducing fibroblast apoptosis after sci-

- atic nerve injury in rats[J]. *Cell Death Dis*, 2013, 4: e526.
- [6] Park J S, Lee JH, Han CS, et al. Effect of hyaluronic acid-carboxymethylcellulose solution on perineural scar formation after sciatic nerve repair in rats[J]. *Clin Orthop Surg*, 2011, 3(4): 315-324.
- [7] Siemionow M, Bozkurt M, Zor F. Regeneration and repair of peripheral nerves with different biomaterials: review[J]. *Microsurgery*, 2010, 30(7): 574-588.
- [8] Bozkurt A, Dunda SE, Mon O'dey D, et al. Epineurial sheath tube (EST) technique: an experimental peripheral nerve repair model[J]. *Neurol Res*, 2011, 33(10): 1010-1015.
- [9] Novak EM, Mestre GS, Dos Santos PS, et al. Sliding of the distal epineurial sheath to cover nerve defects[J]. *Acta Ortop Mex*, 2009, 23(2): 74-79.
- [10] Zhang Z, Kou Y, Yin X, et al. The effect of a small gap sleeve suture at the distal anastomosis of a nerve graft on promoting nerve regeneration and functional recovery[J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2013, 41(4): 282-288.
- [11] Liao IC, Wan H, Qi S, et al. Preclinical evaluations of a-cellular biological conduits for peripheral nerve regeneration[J]. *J Tissue Eng*, 2013, 4(4): 1-10.
- [12] Mobasser SA, Terenghi G, Downes S. Micro-structural geometry of thin films intended for the inner lumen of nerve conduits affects nerve repair[J]. *J Mater Sci Mater Med*, 2013, 24(7): 1639-1647.
- [13] Reid AJ, de Luca AC, Faroni A, et al. Long term peripheral nerve regeneration using a novel PCL nerve conduit[J]. *Neurosci Lett*, 2013, 544: 125-130.
- [14] Avsar UZ, Avsar U, Aydin A, et al. L-carnitine alleviates sciatic nerve crush injury in rats: functional and electron microscopy assessments[J]. *Neural Regen Res*, 2014, 9(10): 1020-1024.
- [15] Gigo-Benato D, Russo TL, Tanaka EH, et al. Effects of 660 and 780 nm low-level laser therapy on neuromuscular recovery after crush injury in rat sciatic nerve[J]. *Lasers Surg Med*, 2010, 42(9): 673-682.
- [16] La JL, Jalali S, Shami SA. Morphological studies on crushed sciatic nerve of rabbits with electroacupuncture or diclofenac Sodium treatment[J]. *Am J Chin Med*, 2005, 33(4): 663-669.
- [17] Baptista AF, Gomes JR, Oliveira JT, et al. High- and low-frequency transcutaneous electrical nerve stimulation delay sciatic nerve regeneration after crush lesion in the mouse[J]. *Peripher Nerv Syst*, 2008, 13(1): 71-80.
- [18] Ngeow WC. Scar less: a review of methods of scar reduction at sites of peripheral nerve repair[J]. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2010, 109(3): 357-366.
- [19] Kalesnykas G, Oglesby EN, Zack DJ, et al. Retinal ganglion cell morphology after optic nerve crush and experimental glaucoma[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012, 53(7): 3847-3857.
- [20] 赵曙光, 李辉, 范慧敏. 低温冷冻神经损伤与再生研究[J]. *同济大学学报: 医学版*, 2010, 31(4): 15-18.

- [21] 陈国华, 吴亚莉, 朱维平, 等. 兔兔高压电击伤后坐骨神经损伤的实验研究[J]. 中华烧伤杂志, 2001, 17(6): 357-359.
- [22] 王贵波, 李兵仓, 王建民, 等. 兔坐骨神经火器伤模型的建立与选择[J]. 中国实验动物学报, 2002, 10(1): 54-56.
- [23] 宋英茜, 陶冶, 杨光. 应用高频超声引导制作注射致坐骨神经损伤动物模型的研究[J/CD]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2013, 7(19): 8778-8781.
- [24] Wang S, Yiu HW, Li P, et al. Contralateral C7 nerve root

transfer to neurotize the upper trunk via a modified pre-spinal route in repair of brachial plexus avulsion injury [J]. *Microsurgery*, 2012, 32(3): 183-188.

- [25] 鞠文翠, 林志雄, 李德锐, 等. 立体定向照射损伤兔坐骨神经的形态学分析[J]. 中华神经医学杂志, 2006, 5(8): 764-766.

(收稿日期: 2015-05-22 修回日期: 2015-07-05)

• 综述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.34.040

代谢组学在相关妇科肿瘤中的发展及应用*

胡 兰 综述, 肖智博, 吕富荣[△] 审校

(重庆医科大学附属第一医院放射科 400016)

[关键词] 生殖系肿瘤, 女(雌)性; 代谢组学; 磁共振波谱学; 质谱; 整合化

[中图分类号] R445.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2015)34-4857-04

功能基因组时代的到来使各种生物组学成为当下的研究热点, 代谢组学为其重要分支。代谢组学关注的是代谢循环中分子量小于 1 000 的小分子代谢物的变化, 反映外界刺激或遗传修饰的细胞或组织的代谢应答变化^[1]。外界刺激、遗传改变等对机体的影响最终表现为代谢产物相应的改变, 另外, 相对于基因组学对个人信息暴露的可能、蛋白质组学价格的昂贵性等, 代谢组学拥有更接近临床、费用更低等优势, 是未来发展的趋势。

1 代谢组学常用检测技术

由于小分子代谢物的多样性、动态性、复杂性, 无论从定性、定量或是动态追踪, 现有的检测技术均存在局限性。以下对当前代谢组学常用检测技术从离体与在体角度进行介绍。

1.1 离体检测技术 绝大多数代谢组学检测技术只能在离体条件下进行, 质谱(MS)技术与核磁共振(NMR)技术因其独特的优势成为当前应用最广泛的代谢组学分析技术, 并在医药学、植物学等多方面展现出了良好的应用前景。

1.1.1 NMR 技术 自 20 世纪 40 年代被提出, NMR 在代谢组学的检测技术中占据重要地位, 已被广泛应用于化学结构鉴定。目前, 应用最广泛的是¹H-NMR, 另外还有³¹P-NMR、¹³C-NMR 等。离体 NMR 技术包含传统的 NMR 及新近发展的高分辨魔角旋转(HR-MAS)技术。传统 NMR 技术需用不同方法对样本中各种代谢物提取后进行检测。而 HR-MAS 最大的优势在于无需预处理, 可对完整组织在其自然状态下直接进行检测, 避免了溶剂损伤, 并且可直接与其他组织分析, 如组织病理、免疫组织化学、转录组学、蛋白组学等相关联, 目前已应用于脑、前列腺、乳腺、消化道等多种离体肿瘤组织代谢组学的研究^[2]。

1.1.2 质谱技术 现代质谱技术具有高选择性、高灵敏性、普适性和分析速度快等特点, 其与气相色谱及液相色谱联用可检测数千种化合物。新近发展的质谱系统, 如四级杆串联飞行时

间质谱仪、傅里叶变换离子回旋共振质谱仪和 Orbitrap 等, 具有高的分辨率, 在复杂体系代谢产物的结构鉴定中具有突出的优势。电喷雾离子化(ESI)技术目前被用于大部分的整体代谢谱分析^[3]。

1.1.3 光谱法 传统光谱法包括分光光度法、原子吸收法以及荧光光谱法等。近红外光谱(NIR)技术是近年来发展的高新环保分析技术。由于蛋白质、脂肪、碳水化合物和生化组织均可在近红外光谱波段产生吸收光谱, 故 NIR 应用于代谢组学研究具有可行性, 可快速、非破坏性地测定光散射效应强、组成复杂且非均相的人体组织基质, 可用于乳腺癌检测、血色素测定、临床分析(血清中葡萄糖浓度、总蛋白、胆固醇等)、人体体液成分分析、人体内血液氧含量测定等^[4]。

1.1.4 其他方法 其他代谢物检测技术与方法由于无法满足高通量、高敏感性等代谢组学整体观和系统观的宗旨, 故少有研究和报道。综合目前的研究, 离体样本代谢组学研究主要常用以下几种方法: (1)用不同方法对样本各种代谢物进行提取后, 采用传统 NMR、质谱、光谱等技术进行检测; (2)无预处理, 采用 HR-MAS 对离体样本进行直接检测, 避免了溶剂损伤。相关研究的样本主要是血清(血浆)、尿液、组织细胞及其提取液等, 其他还包括唾液、淋巴液、羊水、囊肿液、卵泡液、脑脊液、眼泪等。

1.2 在体检测技术 在体核磁共振波谱(MRS)技术为目前惟一能无创地从分子代谢水平反映组织细胞病理生理改变的在体分析方法, 在代谢组学检测技术的发展中具有明显优势, 有助于疾病的早期诊断、鉴别诊断、预后及疗效监测, 目前已不同程度应用于颅脑、前列腺、乳腺等疾病的诊断与研究。医学领域波谱研究运用的原子核主要为¹H。¹H-MRS 常见物质峰有胆碱(Cho)峰、脂质(Lip)峰、肌酸(Cr)峰、乳酸(Lac)峰、乙酰天门冬氨酸(NAA)峰等。Cho 峰出现于 3.2 ppm, 包括甘油磷酰胆碱、磷酸胆碱和胆碱的作用, 涉及细胞膜磷脂代谢, 其含量

* 基金项目: 国家临床重点专科建设项目(国卫办医函[2013]544号); 重庆市渝中区科技计划项目(20120211)。 作者简介: 胡兰(1990—), 硕士, 主要研究方向为影像学与核医学研究。 [△] 通讯作者, Tel: 13908365685; E-mail: Lfr918@sina.com。