

文章编号: 1001-098X(2005)02-0085-04

·放射医学·

^1H -MRS 定量测定脑代谢物的研究

林艳 饶海冰 吴仁华

摘要 磁共振频谱 (magnetic resonance spectroscopy, MRS) 是利用核磁共振基本成像原理及其化学位移和自旋耦合现象, 在活体上无创性地测定能量代谢和体内化学物的一种检测技术, 为疾病诊断和治疗提供有价值的信息。长期以来, MRS 分析的脑代谢物检测结果以代谢物之间的比率来表达, 但不可靠, 近年来应用内标准和装有标准脑代谢物的外标准来获得脑代谢物的绝对浓度。在临床 MRS 应用中, 代谢物绝对浓度的分析较比率分析有更多优点。本文就 MRS 的基本原理及 ^1H -MRS 定量测定脑代谢物浓度的方法作一综述。

关键词 磁共振氢频谱; 比率; 内标准; 外标准; 脑代谢物

中图分类号 R445.2 文献标识码 A

Investigation of quantitative measurement of brain metabolite concentration using ^1H nuclear magnetic resonance spectroscopy

LIN Yan, RAO Hai-bing, WU Ren-hua

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

Abstract Magnetic resonance spectroscopy based on the principles of magnetic resonance, the chemical shift, and spin coupling is a technique that allows examination of the metabolites and biochemical nature in vivo without the need for invasive procedures. Non-invasive detection of metabolite concentration using MR spectroscopy can provide valuable information in diagnosis and treatment of diseases. In localized brain MR spectroscopy, the measurement results of brain metabolites had often been expressed as ratios rather than as absolute concentration; however, drawbacks of ratios have been mentioned in the literature. More recently MR spectroscopists have paid attention to acquire absolute concentrations using internal reference or external reference filled with brain metabolites. Concerning metabolite analysis in clinical MR spectroscopy studies, absolute concentrations have advantages over metabolite ratios. This article reviewed the principle of MRS and its methods in quantitative measurement of brain metabolite concentrations.

Key Words proton magnetic resonance spectroscopy; ratio; internal reference; external reference; brainmetabolite

1 磁共振频谱基本原理

人体磁共振频谱 (magnetic resonance spectroscopy, MRS) 是利用核磁共振基本成像原理及其化学位移和自旋耦合现象测定人体能量代谢和体内化学物的一种检测技术。MRS 所获得的是定量的化学信息, 用数值和图谱的形式来表示。

MRS 与普通磁共振成像 (magnetic resonance imaging, MRI) 的基本原理大致相同, 但不同之处

也很多, 化学位移是 MRS 的关键。外加磁场对不同化学环境下相同原子核电子的作用引起其周围磁场强度的细微变化, 因而同一种原子核的共振有差别, 这种现象称为化学位移。自旋耦合现象是原子核之间存在共价键的自旋磁距的相互作用形成的耦合。化学位移和自旋耦合两种现象形成了频谱的精细结构。由于化学位移, 不同化合物中相同原子的进动频率不同, 在频谱线频率轴上不同位置形成不同的峰; 又由于原子核的共振频率与外加磁场有关, 同一原子核在不同的外加磁场下其共振频率不同, 故化学位移一般不以频率作单位。然而, 原子核的共振频率与外加磁场强度有很规律的关系, 化

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30270379/C010511)

作者单位: 515041, 汕头大学医学院第二附属医院放射科

学位移如果以外加磁场运行频率的百万分之比数(ppm)来表示,同一原子核在不同的外加磁场下其化学位移 ppm 值相同,不同的化合物可以根据其在频谱线频率轴上的共振峰的不同加以区别。

根据检测体素分类, MRS 有两种方法: 单体素 MRS (single-voxel MRS) 和多体素 MRS (multi-voxel MRS)。单体素质子谱可以选择性采集一个感兴趣区体素的谱线, 而多体素质子谱可以在一次数据采集中获得感兴趣区中多个体素的谱线, 可以同时反映多个部位代谢物的空间分布。采集的多体素频谱可组成图像, 通过计算机处理, 也可显示单一代谢物的分布图像, 故多体素 MRS 常常又称为磁共振频谱成像 (magnetic resonance spectroscopy imaging, MRSI) 或磁共振化学位移成像 (MR chemical shift imaging)。

MRS 测定的原子核有 ^1H 、 ^{31}P 、 ^{13}C 和 ^{19}F 等。由于 ^1H 在人体内含量最为丰富, 所以磁共振氢频谱 (^1H -MRS) 的应用最为广泛, 也是活体 MRS 中检测灵敏度最高的。它能够同时检测到多种代谢物, 如 N-乙酰天冬氨酸、胆碱化合物、乳酸、肌酸、肌醇、谷氨酸和谷氨酰胺复合物, 此外还可以测定 γ -氨基丁酸、葡萄糖、乙醇和酮体等。

2 ^1H -MRS 测量代谢物的方法

2.1 比率

长期以来, MRS 分析技术不能有效地定量测量脑代谢物水平, 结果通常以代谢物之间的比率来表达。比如, 用 ^1H -MRS 诊断海马硬化, 过去许多文献证实几乎所有 N-乙酰天冬氨酸均存在于神经元内, 成熟的胶质细胞中不含有 N-乙酰天冬氨酸; 肌酸和胆碱化合物主要位于胶质细胞内。研究结果表明, 病侧 N-乙酰天冬氨酸/(肌酸+胆碱化合物) 和 N-乙酰天冬氨酸/肌酸降低, 提示脑组织内 N-乙酰天冬氨酸减少或肌酸和(或)胆碱化合物值升高, 可能存在神经元的缺失或胶质细胞增生; 手术病理证实 N-乙酰天冬氨酸/(肌酸+胆碱化合物) 值降低与神经元减少和胶质细胞增生的病理变化是一致的。代谢物之间的比率在某些临床应用中有其价值, 因为比率值能有效地修正 MRS 数值因受部分容积效应、化学位移、生物体本身因素及场强不均一所带来的影响。

但是, 比率的应用有其局限性, 单纯凭比率值

的升或降不能准确地判断具体代谢物水平的变化情况^[1]。而且许多文献表明: 比率结果和切片及体外动物实验的定量测量结果并不一致。所以无创伤定量测量代谢物水平的活体 MRS 方法得到重视。

2.2 定量测量

定量检测代谢物总的来说可以分为两大分支: 内标准和外标准。

(1) 内标准: 就是将某一 MRS 中较恒定数值的物质作为参考, 将待测代谢物与这一参考值相比较, 从而求出待测物质的数值。内标准的数值是已知的, 并且理论上应在各种生理和病理生理情况下保持恒定。

肌酸常被用来作为脑代谢物测量的内标准^[2]。肌酸包括为肌酸和磷酸肌酸, 因为两者的共振峰是重叠的, 共振峰可见于 3.03ppm 及 3.94ppm, 作为高能磷酸盐的储备形式和 ADP 及 ATP 的缓冲剂, 两者在酸的作用下相互转化, 总量相对恒定, 而且在病理状态下变化较少, 所以经常被作为参照物以检测 N-乙酰天冬氨酸及胆碱化合物等代谢物水平, 为临床诊断和治疗提供有价值的信息。MRS 所得谱线经处理后分别计算 N-乙酰天冬氨酸、肌酸、胆碱、肌醇等峰下面积, 所得数值以肌酸为内标准进行定量分析。比如, 新生儿缺氧缺血性脑病的 MRS 表现为乳酸/肌酸和谷氨酰胺复合物/肌酸比值高于对照组, 二度以上有惊厥和抽搐症状的患儿谷氨酸和谷氨酰胺复合物峰明显升高, 提示将肌酸作为内标准的 MRS 将可能有助于临床分级。

水在生理和病理生理情况下数值变化相对较小(约 15%), 共振峰在 4.7 ppm。由于其信号的测量准确且可重复性强, 可避免代谢物数值计算的系统误差, 因此将水作为内标准也受到很多学者的青睐。Tong Z 等^[3]用水作为内标准测量正常脑组织、脑胶质瘤、低分化与高分化脑胶质瘤的代谢物 N-乙酰天冬氨酸、胆碱化合物、肌酸、肌醇的研究发现: N-乙酰天冬氨酸在正常脑组织、低分化与高分化脑胶质瘤的浓度分别是 (23.59±2.62)mmol/L、(6.28±1.38)mmol/L、(1.23±2.54)mmol/L, 肌酸分别是 (13.06±1.80)mmol/L、(8.41±2.67)mmol/L、(4.74±2.18)mmol/L, 胆碱化合物分别是 (4.28±0.80)mmol/L、(3.70±1.69)mmol/L、(3.84±2.36)mmol/L; 由于肌醇峰在 3.56 ppm 处与甘氨酸峰重叠, 肌醇和甘氨酸的数值不能单独计算出来, 则通过计算 3.56ppm 处肌

醇和甘氨酸的峰下面积与 4.7 ppm 处水的峰下面积的比值,发现(肌醇+谷氨酸)/水在正常脑组织、低分化、高分化脑胶质瘤的比值分别是 $(34.28 \pm 5.85) \times 10^{-5}$ 、 $(34.35 \pm 16.59) \times 10^{-5}$ 、 $(17.69 \pm 13.02) \times 10^{-5}$,提示将水作为内标准定量测量脑代谢物 N-乙酰天冬氨酸、肌酸及(肌醇+谷氨酸)/水比率均有助于鉴别诊断正常脑组织与胶质瘤、低分化与高分化胶质瘤,而胆碱化合物的浓度则不能区别正常脑组织与胶质瘤、低分化与高分化胶质瘤;并且首次定量测量了成神经管细胞瘤中牛磺酸的浓度为 (29.64 ± 5.76) mmol/L。

内标准并不仅仅是肌酸和水,也有学者根据具体研究目的和实验条件将 N-乙酰天冬氨酸、乳酸、苄胺及 3-trimethylsilyl-[2,2,3,3,-²H]-propionate (TSP) 作为内标准。

内标准定量检测代谢物的绝对数值也存在局限性,因为内标准的数值并不是在任何条件下都能保持恒定。不少文献报道,将肌酸作为内标准检测药物如右旋苯丙胺及锂盐和丙戊酸钠对代谢物水平的影响,但 Silverstone PH 等^[4]等发现右旋苯丙胺降低肌酸值, Wu RH 等^[5]也发现锂盐和丙戊酸钠降低肌酸值。这时候如果仍将肌酸作内标准测量其他代谢物数值的变化必然不准确。 γ -氨基丁酸是一种重要的代谢物,测量 γ -氨基丁酸时常用已知数值的肌酸做内标准,但当回波时间=68ms 时,肌酸峰值易受巨分子、 γ -氨基丁酸及谷胱甘肽的影响^[6]而不稳定。锂剂可致 N-乙酰天冬氨酸降低,其机理目前还不清楚^[7]。水作为内标准也存在很多潜在的问题^[8]。因此,需要用一种更准确的方法来定量测量代谢物。

2.3 外标准

目前用外标准液定量检测代谢物的文献并不多。外标准液就是用容器盛有已知标准浓度溶液的模型^[9]。标准溶液的浓度以模拟正常人脑频谱线作参考,其内含 N-乙酰天冬氨酸 (40 mmol/L),氯化胆碱 (8 mmol/L),肌酸 (32 mmol/L),肌醇 (20 mmol/L),谷氨酸 (20 mmol/L),谷氨酰胺 (20 mmol/L) 和乳酸 (5 mmol/L),注意调整溶液 pH 值为中性^[10]。

受激回波成像方法 (stimulated-echo acquisition mode, STEAM) 和点分辨自旋回波波谱 (point-resolved echo spin spectroscopy, PRESS) 序列都可用于外标准,因 STEAM 序列只是在扫描的后半段时间

进行信号采集,故信噪比较低,同时对运动比较敏感。而 PRESS 序列在扫描的全程都采集信号,故比 STEAM 序列产生多一倍的信噪比。为验证外标准法定量测量代谢物的精确性,每一只动物在做完 MRS 检查后即被处死并快速取出大脑,切取与 MRS 检查时相同体素的脑组织,然后用体外高效液相色谱法测量离体脑组织样本的待测代谢物水平,比较活体和离体检测结果的相关性。

应用外标准法还有利于优化扫描序列。例如,乳酸是无氧糖酵解的产物,机体缺血缺氧等病理状态时可引起乳酸盐的蓄积,因此,应用 MRS 无创性检测乳酸盐对缺血缺氧等疾病的诊断和治疗有非常重要的意义,然而,乳酸峰在许多情况下不易被检测。通过建立外标准乳酸模型,开发了活体乳酸频谱优化序列,则优化的脉冲序列更有利于乳酸的检测与定量分析。

外标准较内标准能更准确定量测定代谢物,但精确验证 MRS 外标准法定量测定代谢物的文献未见报道。

2.4 其他定量检测代谢物的技术应用

除前述内标准、外标准方法定量分析脑代谢物外, LC-model (linear combination of model) 软件也得到研究^[11-14]。LC-model 具有高信噪比和窄的体外线宽,只要输入活体数据的时间域,就能完全自动拟合出与原始数据一致的平滑的谱线形状和基线,既能减少谱线的变形,又能尽量避免实验者的主观所带来结果的偏倚。此软件不仅可用于内标准,也可用于外标准,用以定量检测 N-乙酰天冬氨酸、肌酸、胆碱、肌醇、谷氨酸和谷氨酰胺复合物。

由于绝大多数生物组织都包含有水和脂肪,其磁共振峰远大于其他低浓度的代谢物,如不加以抑制,将严重影响其他代谢物的观测;其次,生物组织中代谢物的磁共振频谱峰(尤其质子谱)相互之间重叠严重,相互干扰。因此,人们尝试包括基于 J 耦合差谱的编辑技术、多量子滤波技术^[15]等频谱编辑技术解决以上问题,用以选择性观测代谢物。

Tyson RL 等^[16]研究用 ¹³C 编辑的 ¹H-MRS 技术分析脑代谢物:即含 ¹³C 标记的置换物质如 [1-¹³C]、[2-¹³C]、[3-¹³C] 像“导弹”一样特异地定位于相同分子或不同分子的不同基团,然后用 ¹³C 编辑的 ¹H-MRS 技术有效地分离、测量含这些基团的物质,而不需要用特殊的“分离”或“降解”等后处理技

术。比如, 脑内 γ -氨基丁酸含量很少, 易和 N-乙酰天冬氨酸、肌酸、谷氨酸及谷氨酰胺峰重叠, 且易受巨分子和脂类的污染, 而用 ^{13}C 标记物将易污染 γ -氨基丁酸峰的代谢物区别开, 从而能较准确地测量 γ -氨基丁酸^[18]。

3 总结与展望

准确测量体内代谢物对治疗效果及其他目的的分析研究起很重要作用。无论内标准还是外标准法, 所测得的代谢物值和真实代谢物值还是有差别的, 不能代表实际值。比如, 乳酸易受脂类分子及巨分子的影响而比实际值要高, 肌醇则由于在体内本身含量很低, 难于测量或比实际值要小。用 PRESS 序列的外标准方法不能有效区分 N-乙酰基及别的含 N-乙酰基基团的氨基酸, 比如 N-乙酰天门冬氨酸盐、N-乙酰谷氨酸和 N-乙酰族, 或者是谷氨酸/谷氨酰胺的共振频率, 所以活体 MRS 能测量的总 N-乙酰天冬氨酸值明显高于高效液相色谱测量的 N-乙酰天冬氨酸值。另外, 用外标准置放于受试对象的脑旁边, 会引起 B_1 磁场和净磁场的均匀, 导致代谢物信号的振幅变异很大, 因此, 有人更喜欢用内标准(水)来测定代谢物。优化扫描序列, 缩短扫描时间, 设计专制线圈, 解决梯度场强增加与引起人体生物副效应矛盾等等都是亟待解决的技术问题。另一方面, 了解频谱分析原理, 熟练掌握活体频谱检查和后处理分析技术, 加深和完善对疾病的生化代谢过程的认识, 加强与物理、数学、神经科学等多领域合作, 都将对 MRS 的临床应用起积极的推动作用。

参 考 文 献

- 1 Li BS, Wang H, Gonen O. Metabolite ratios to assumed stable creatine level may confound the quantification of proton brain MR spectroscopy[J]. Magn Reson Imaging, 2003, 21(8): 923-928.
- 2 Vermathen P, Capizzano AA, Maudsley AA. Administration and ^1H MRS detection of histidine in human brain: application to in vivo pH measurement[J]. Magn Reson Med, 2000, 43(5): 665-675.
- 3 Tong Z, Yamaki T, Harada K, et al. In vivo quantification of the metabolites in normal brain and brain tumors by proton MR spectroscopy using water as an internal standard[J]. Magn Reson Imaging,

2004, 22(7): 1017-1024.

- 4 Silverstone PH, Donnell T, Ulrich M, et al. Dextro-amphetamine increases phosphoinositol cycle activity in volunteers: an MRS study [J]. Hum Psychopharmacol, 2002, 17(7): 321-327.
- 5 Wu RH, Donnell T, Ulrich M, et al. Brain choline concentrations may not be altered in euthymic bipolar disorder patients chronically treated with either lithium or sodium valproate [J]. Ann Gen Hosp Psychiatry, 2004, 3(1): 13.
- 6 Shen J, Douglas L, Rothman, et al. In vivo GABA editing using a novel doubly selective multiple quantum filter[J]. Magn Reson Med, 2002, 47(3): 447-454.
- 7 Donnell T, Rotzinger S, Nakashima TT, et al. Chronic lithium and sodium valproate both decrease the concentration of myo-inositol and increase the concentration of inositol monophosphates in rat brain[J]. Eur Neuropsychopharmacol, 2003, 13(3): 199-207.
- 8 Sager TN, Laursen H, Fink-Jensen A, et al. N-acetylaspartate distribution in rat brain striatum during acute brain ischemia[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 1999, 19(2):164-172.
- 9 Wu RH, Silverstone P, Rao HB, et al. Quantitative measurement of brain metabolite concentrations using PRESS sequence at 3T[J]. Radiology, 2002, 225(p): 667.
- 10 Kimura T, Sako K, Gotoh T, et al. In vivo single-voxel proton MR spectroscopy in brain lesion with ring-like enhancement[J]. NMR Biomed, 2001, 14(6): 339-349.
- 11 Simister RJ, Mclean MA, Barker GJ, et al. Proton MRS reveals frontal lobe metabolite abnormalities in idiopathic generalized epilepsy[J]. Neurology, 2003, 61(7): 897-902.
- 12 Seeger U, Klose U, Mader I, et al. Parameterized evaluation of macromolecules and lipids in proton MR spectroscopy of brain diseases[J]. Magn Reson Med, 2003, 49(1): 19-28.
- 13 Mclean MA, Woermann FG, Barker GJ, et al. Quantitative analysis of short echo time ^1H -MRSI of cerebral gray and white matter[J]. Magn Reson Med, 2000, 44(3): 401-411.
- 14 Hajek M, Burian M, Dezortova M. Application of LC-model for quality control and quantitative in vivo ^1H -MR spectroscopy by short echo time STEAM sequence[J]. Magn Reson Materials Phy Bio 1 Med, 2000, 10(1): 6-17.
- 15 Mclean MA, Busza AL, Wald LL, et al. In Vivo GABA+ Measurement at 1.5T using a PRESS-localized double quantum filter [J]. Magn Reson Med, 2002, 48(2): 233-241.
- 16 Tyson RL, Gallagher C, Sutherland GR. ^{13}C -labeled substrates and the cerebral metabolic compartmentalization of acetate and lactate [J]. Brain Res, 2003, 992(1): 43-52.
- 17 Gruetter R, Seaquist ER, Kim SG, et al. Localized in vivo ^{13}C -NMR of glutamate metabolism in the human brain: initial results at 4 tesla [J]. Dev Neurosci, 1998, 20(4-5): 380-388.

(收稿日期: 2004-11-30)