

气相色谱-质谱联用技术检测脓毒症大鼠血浆氨基酸相关代谢产物的研究

苏晋 祝益民 蒋宇 邹联洪 刘晓亮 徐一笑

410005 湖南长沙,湖南师范大学第一附属医院,湖南省人民医院儿科(苏晋、祝益民);410005

湖南长沙,湖南省人民医院急救医学研究所(祝益民、蒋宇、邹联洪、刘晓亮、徐一笑)

通讯作者:祝益民, Email: cszhuyimin@163.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.04.009

【摘要】 目的 基于气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)测定脓毒症大鼠血浆代谢组学指标,寻找脓毒症差异代谢产物,初步揭示脓毒症的病理生理变化。**方法** 将 8 周龄雄性 SD 大鼠按随机数字表法分为假手术组($n=18$)和脓毒症组($n=24$)。采用盲肠结扎穿孔术(CLP)制备脓毒症大鼠模型;假手术组只游离盲肠,不予以结扎和穿孔。制模后 6 h 取心脏血,通过 GC-MS 测定两组血浆中的小分子代谢产物,并对其进行代谢轮廓分析,筛选相关差异代谢产物。**结果** 主成分分析(PCA)和偏最小二乘-判别分析(PLS-DA)显示,脓毒症组与假手术组大鼠血浆代谢谱差异显著。GC-MS 共筛选出 259 个代谢物,脓毒症组与假手术组之间有 69 个差异代谢产物,其中 23 个与氨基酸代谢有关;脓毒症组血浆中腐胺、N- 氨甲酰谷氨酸、羟基正缬氨酸、3- 氰丙氨酸、D- 丙氨酸、D- 丙氨酸、尿素含量较假手术组明显升高,脓毒症组/假手术组含量比值分别为 10.876、6.394、2.800、2.226、1.323、1.203 (均 $P<0.05$);而脓毒症组血浆中氧代脯氨酸、瓜氨酸、谷氨酰胺、苏- β - 羟基天门冬氨酸、柠檬酸、N- 甲基-DL- 丙氨酸、丝氨酸、赖氨酸、苏氨酸、N- 甲酰-L- 甲硫氨酸、甲硫氨酸、丙氨酸、烟酰胺、N- 甲基-L- 谷氨酸、反式-4- 羟基-L- 脯氨酸、脯氨酸、L- 谷氨酸含量较假手术组明显降低,脓毒症组/假手术组含量比值分别为 0.858、0.853、0.834、0.816、0.816、0.814、0.813、0.801、0.793、0.792、0.774、0.766、0.748、0.727、0.716、0.674、0.603 (均 $P<0.05$)。**结论** 用 GC-MS 检测脓毒症大鼠代谢组学指标显示能量代谢异常;血浆氨基酸含量可以评估脓毒症时的能量代谢状态。

【关键词】 脓毒症; 代谢组学; 气相色谱-质谱; 氨基酸代谢

基金项目: 湖南省中医药科研计划项目(201442);湖南省教育厅科研重点项目(14A090)

Study of Plasma amino acid related metabolites of septic rats using gas chromatography-mass spectrometry

Su Jin, Zhu Yimin, Jiang Yu, Zou Lianhong, Liu Xiaoliang, Xu Yixiao

Department of Pediatrics, the First Affiliated Hospital of Hunan Normal University, Hunan Provincial People's Hospital, Changsha 410005, Hunan, China (Su J, Zhu YM); Institute of Emergency Medicine, Hunan Provincial People's Hospital, Changsha 410005, Hunan, China (Zhu YM, Jiang Y, Zou LH, Liu XL, Xu YX)

Corresponding author: Zhu Yimin, Email: cszhuyimin@163.com

【Abstract】 Objective To reveal the pathophysiological changes of sepsis, the plasma metabolomics of septic rats was determined and differential metabolites were determined by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). **Methods** Male Sprague-Dawley (SD) rats about 8 weeks were randomly divided into sham group ($n=18$) and sepsis group ($n=24$). Cecal ligation and puncture (CLP) was used to build sepsis model, while cecum was kept intact only in the sham group. 6 hours after the operation, rats were anesthetized, and blood was harvested through heart thoracotomy. Then the plasma metabolomics was detected by GC-MS and metabolic profile analysis was performed to find the relative differential metabolites. **Results** Principal component analysis (PCA) and partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) showed that the metabolic profiling of the sepsis group was significantly different from the sham group. 259 kinds of metabolites were got by GC-MS, and 69 kinds of differential metabolites were found between sham group and sepsis group, in which 23 differential metabolites were related to amino acid metabolism. Compared with sham group, the contents of putrescine, N-glutamic acid, hydroxynorvaline, 3-cyanuric acid, D-alanyl-D-alanine and urea in the plasma of septic rats increased significantly, which ratios of sepsis/sham group were 10.876, 6.394, 2.800, 2.226, 1.323, 1.203, respectively (all $P<0.05$). On the other hand, the contents of oxygen generation of proline, citrulline, glutamine, su- β -hydroxy aspartic acid, citric acid, N-methyl-DL-alanine, serine, lysine, threonine, N-formyl-L-methionine, methionine, alanine, nicotinuric acid, N-methyl-L-glutamic acid, trans-4-hydroxy-L-proline, proline, L-glutamic acid in the plasma of septic rats decreased significantly, which ratios of sepsis/sham group were 0.858, 0.853, 0.834, 0.816, 0.816, 0.814, 0.813, 0.801, 0.793, 0.792, 0.774, 0.766, 0.748, 0.727, 0.716, 0.674, 0.603, respectively (all $P<0.05$). **Conclusions** Through the GC-MS analysis of plasma metabolomics of septic rats, we found abnormal energy metabolism changes. The content of amino acid in plasma might be a method to evaluate the energy metabolism status of sepsis.

【Key words】 Sepsis; Metabonomics; Gas chromatography-mass spectrometry; Amino acid metabolism

Fund program: Hunan Province Traditional Chinese Medicine Scientific Research Project (201442); Key Project of Science Research of Hunan Provincial Department of Education (14A090)

脓毒症是由感染引起的机体生理生化反应失衡而严重危及生命的器官功能障碍^[1]。脓毒症患者存在明显的代谢紊乱,表现为胆汁酸、乳酸^[2]、葡萄糖^[3]、胆固醇^[4]、游离脂肪酸^[5]等小分子代谢物含量异常。代谢组学能对生物体内所有代谢物进行定量分析,它改变了单一分子研究的传统思路,以一组代谢物群体作为研究对象,从整体层面探讨生命活动的代谢特征规律和疾病的病理生理学关联^[6-8]。目前,气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)用于临床疾病诊断已得到广泛应用,如急性百草枯中毒^[9]、肝细胞肝癌^[10]等的早期诊断。本研究基于 GC-MS 技术对脓毒症大鼠血浆代谢组学进行检测,寻找其差异代谢产物,从而探索和揭示脓毒症的病理生理变化。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组: 8 周龄雄性 SD 大鼠,体重 250~300 g,购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司,许可证号:SCXK(湘)2013-0004。按随机数字表法将大鼠为假手术组($n=18$)和脓毒症组($n=24$)。

1.2 脓毒症模型制备: 采用盲肠结扎穿孔术(CLP)制备脓毒症动物模型^[11]。经腹腔注射 5% 水合氯醛麻醉大鼠,沿腹部正中线作长约 3~4 cm 切口,游离肠系膜和盲肠,在回盲瓣与盲肠末端的中线处以 3-0 丝线结扎,18G 针头于盲肠末端对合穿孔 2 次,挤出少许肠内容物,随后将盲肠还纳腹腔,逐层关腹;假手术组只游离盲肠,不予以结扎和穿孔。术毕均经皮下注射生理盐水 5 mL 补充体液丢失。

本实验中动物处置方法符合动物伦理学标准。

1.3 标本采集: 制模后 6 h 用 5% 水合氯醛腹腔麻

醉大鼠,心脏穿刺采血 2 mL,离心 10 min 取上清液,置于 -80 °C 保存,待行 GC-MS 检测。

1.4 GC-MS 分析: 将血浆自然解冻,取 50 μ L 加入内标(L-2- 氯- 苯丙氨酸 0.3 g/L,甲醇配置)、蛋白沉淀剂甲醇-乙腈(2:1),冰水浴超声提取,4 °C 离心 10 min,取上清液装入玻璃衍生瓶中挥干,加入甲氧胺盐酸吡啶溶液(15 g/L),涡旋震荡,肟化,加入双(三甲基硅烷基)三氟乙酰胺[BSTFA,含 1% 三甲基氯硅烷(TMCS)]衍生试剂和正乙烷,涡旋震荡,70 °C 反应 60 min。室温放置 30 min,用 7890A-5975C 型 GC-MS 联用仪进行代谢组学分析。

1.5 代谢物鉴定: 通过 ChromaTOF 软件处理 GC-MS 数据,分析得到 259 个代谢物。将代谢物数据矩阵导入 SIMCA-P+14.0 软件,采用主成分分析(PCA)和偏最小二乘-判别分析(PLS-DA)各样本的总体分布以及各组间代谢轮廓的总体差异;采用 t 检验筛选组间差异代谢物。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组大鼠血浆总离子色谱图(图 1): 通过分析质荷比和保留时间,共得到 712 个特征峰。

2.2 两组 PCA 和 PLS-DA(图 2): 对假手术组和脓毒症组血浆代谢物数据进行 PCA 分析发现,所有样本的总体分布稳定性较高,表明该模型稳定可靠。PCA 图中假手术组样本主要位于左象限,脓毒症组样本主要位于右象限,说明脓毒症大鼠血浆代谢状态发生明显改变。对假手术组和脓毒症组血浆代谢物数据进行 PLS-DA 分析发现,两组呈现明显差异,且 PLS-DA 模式分析结果明显优于 PCA 模式分析。

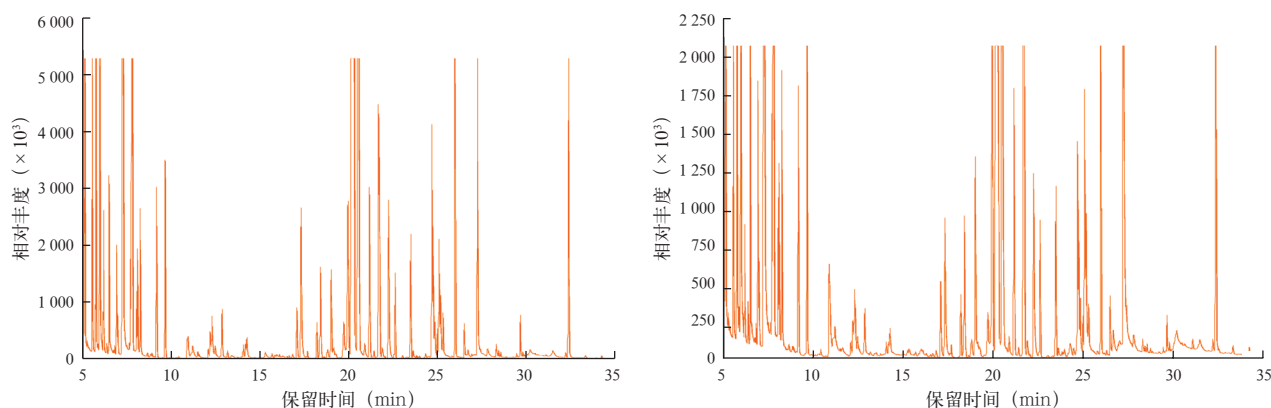


图 1 假手术组(左)和脓毒症组(右)大鼠血浆总离子色谱图

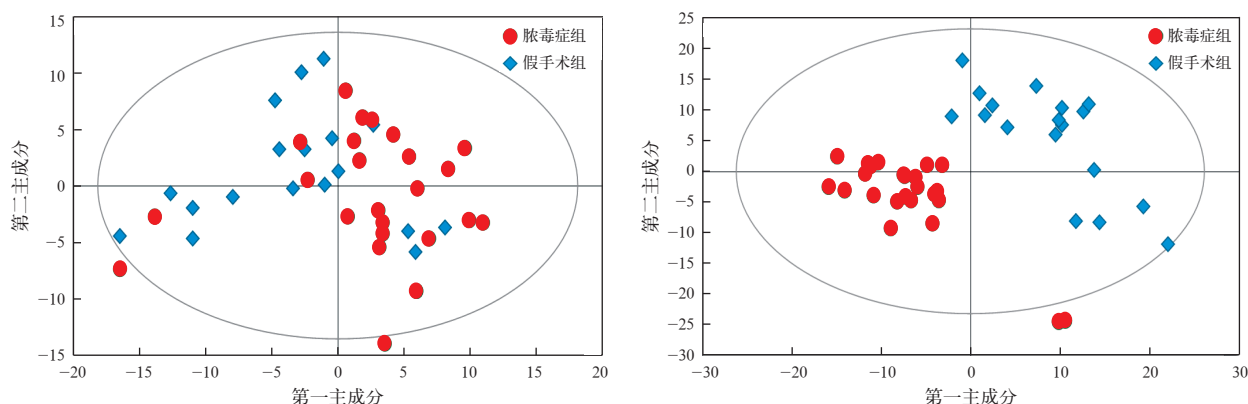


图2 假手术组和脓毒症组大鼠血浆主成分分析(PCA,左)与偏最小二乘-判别分析(PLS-DA,右)

表1 GC-MS 检测脓毒症组与假手术组大鼠血浆氨基酸相关差异代谢物

代谢产物	保留时间 (min)	脓毒症 / 假手术 的含量比值	P 值	代谢产物	保留时间 (min)	脓毒症 / 假手术 的含量比值	P 值
腐胺	16.490	10.876	0.000	丝氨酸	9.191	0.813	0.008
N- 氨甲酰谷氨酸	5.246	6.394	0.002	赖氨酸	20.317	0.801	0.038
羟基正缬氨酸	27.289	2.800	0.010	苏氨酸	9.678	0.793	0.003
3- 氰丙氨酸	5.357	2.226	0.016	N- 甲酰 -L- 甲硫氨酸	11.759	0.792	0.043
D- 丙氨酰 -D- 丙氨酸	11.624	1.323	0.010	甲硫氨酸	12.107	0.774	0.002
尿素	7.400	1.203	0.029	丙氨酸	5.580	0.766	0.014
氧代脯氨酸	12.186	0.858	0.025	烟酰胺	9.062	0.748	0.039
瓜氨酸	18.335	0.853	0.036	N- 甲基 -L- 谷氨酸	13.144	0.727	0.002
谷氨酰胺	17.317	0.834	0.049	反式 -4- 羟基 -L- 脯氨酸	12.308	0.716	0.002
苏 -β- 羟基天门冬氨酸	8.576	0.816	0.037	脯氨酸	8.134	0.674	0.000
柠檬酸	18.412	0.816	0.025	L- 谷氨酸	12.398	0.603	0.004
N- 甲基 -DL- 丙氨酸	6.378	0.814	0.040				

注:GC-MS 为气相色谱-质谱联用技术

2.3 两组大鼠血浆代谢物变化(表1):GC-MS 共检测出 259 个代谢物,脓毒症组与假手术组之间有 69 个差异代谢产物,其中 23 个与氨基酸代谢有关,分别是腐胺、烟酰胺、N- 甲酰 -L- 甲硫氨酸、苏 -β- 羟基天门冬氨酸、尿素、氧代脯氨酸、赖氨酸、柠檬酸、D- 丙氨酰 -D- 丙氨酸、谷氨酰胺、丙氨酸、L- 谷氨酸、脯氨酸、反式 -4- 羟基 -L- 脯氨酸、N- 甲基 -L- 谷氨酸、甲硫氨酸、苏氨酸、丝氨酸、N- 甲基 -DL- 丙氨酸、瓜氨酸、3- 氰丙氨酸、羟基正缬氨酸、N- 氨甲酰谷氨酸。与假手术组比较,脓毒症组血浆中腐胺、N- 氨甲酰谷氨酸、羟基正缬氨酸、3- 氰丙氨酸、D- 丙氨酰 -D- 丙氨酸、尿素含量均明显升高,而氧代脯氨酸、瓜氨酸、谷氨酰胺、苏 -β- 羟基天门冬氨酸、柠檬酸、N- 甲基 -DL- 丙氨酸、丝氨酸、赖氨酸、苏氨酸、N- 甲酰 -L- 甲硫氨酸、甲硫氨酸、丙氨酸、烟酰胺、N- 甲基 -L- 谷氨酸、反式 -4- 羟基 -L- 脯氨酸、脯氨酸、L- 谷氨酸含量均明显降低(均 $P < 0.05$)。

3 讨论

脓毒症时机体处于氧供需失衡、高耗能等状态^[12-13]。机体主要的供能物质葡萄糖不能通过三羧酸循环进行有氧氧化,而是进入无氧酵解途径^[14],从而导致机体产能减少;在脓毒症时肾上腺皮质激素、胰高血糖素、儿茶酚胺等物质水平可明显升高^[15-17],以上激素参与调节脓毒症的高代谢状态,最终导致体内糖、蛋白质、脂类三大营养物质及其代谢产物比例发生明显变化^[18-19]。

氨基酸是机体重要的营养素,通过检测血液中氨基酸的水平可以反映脓毒症时机体的能量代谢状况^[20]。本研究结果显示,脓毒症组血浆中 L- 谷氨酸、脯氨酸、反式 -4- 羟基 -L- 脯氨酸、N- 甲基 -L- 谷氨酸、烟酰胺、丙氨酸、甲硫氨酸、N- 甲酰 -L- 甲硫氨酸、苏氨酸、赖氨酸、丝氨酸、N- 甲基 -DL- 丙氨酸、柠檬酸、苏 -β- 羟基天门冬氨酸、谷氨酰胺、瓜氨酸、氧代脯氨酸含量均明显低于假手术组。导致氨基酸降低的因素非常复杂,

主要有三大原因:①蛋白质摄入不足以及胃肠道吸收功能障碍;②酸中毒使蛋白质分解增加并加重内分泌紊乱,有研究显示,机体在应激状态下交感神经兴奋,使甲状旁腺素、胰高血糖素、儿茶酚胺等物质分泌增加,出现胰岛素抵抗、分解代谢亢进^[21];③营养物质丢失,如氨基酸的氧化供能。

本研究还显示,脓毒症组血浆中腐胺、N- 氨甲酰谷氨酸、羟基正缬氨酸、3- 氰丙氨酸、D- 丙氨酸-D- 丙氨酸、尿素含量均较假手术组明显升高。腐胺在体内升高的原因可能为:①脓毒症时机体存在大量坏死组织,组织中释放出来的腐胺被大量吸收入血^[22];②多胺的基本成分为腐胺,机体可通过氨基酸的降解促进腐胺的产生;③大剂量的腐胺对肝、肾具有损害作用,当肾脏受到损害后,对腐胺的排泄降低。N- 氨甲酰谷氨酸作为谷氨酸的衍生物,可促进精氨酸合成,而精氨酸有提高免疫、促进伤口愈合、保护和维持肠道功能等作用,所以,N- 氨甲酰谷氨酸可能因机体的各种保护机制而代偿性升高。尿素在体内由尿素循环产生,脓毒症时机体处于高代谢状态,导致机体出现负氮平衡,使体内尿素含量增加^[23];同时,因大部分脓毒症患者可能都合并有不同程度的肾功能损害,使尿素排泄受阻^[24],进而导致体内尿素水平升高。

氨基酸在机体内的相互转化与合成主要通过三羧酸循环来进行,丙氨酸、丝氨酸、苏氨酸、谷氨酰胺、赖氨酸、甲硫氨酸、脯氨酸、瓜氨酸等氨基酸均可从不同途径进入三羧酸循环参与能量代谢。乙酰辅酶 A 则是一个关键的中间代谢产物,如苏氨酸、赖氨酸的中间代谢产物均为乙酰辅酶 A。丙氨酸、丝氨酸、苏氨酸、谷氨酰胺亦可通过转换成丙酮酸后经乙酰辅酶 A 进入三羧酸循环。另外,一些氨基酸如甲硫氨酸经琥珀酰辅酶 A 进入三羧酸循环;谷氨酰胺、脯氨酸可从 α - 酮戊二酸进入三羧酸循环。三羧酸循环既是一条分解代谢途径,同时又为一些物质的合成提供前体分子。如上述氨基酸进入三羧酸循环后可转化为草酰乙酸,而草酰乙酸是合成天冬氨酸的前体,可用于合成葡萄糖对机体进行供能。

综上所述,本研究基于 GC-MS 检测显示,脓毒症时机体氨基酸代谢紊乱,能量代谢异常,检测血浆氨基酸含量可以了解脓毒症大鼠的能量利用状态,本实验仅对脓毒症大鼠差异氨基酸代谢产物进行了初步研究,仍需进一步深入研究;其有望成为临床早期诊断脓毒症和评估能量代谢状态的有效工具。

参考文献

- [1] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3) [J]. JAMA, 2016, 315 (8): 801-810. DOI: 10.1001/jama.2016.0287.
- [2] 谈定玉,夏仲芳,郑爱东,等. 急诊脓毒症死亡风险评分联合血乳酸对急诊严重脓毒症患者危险分层的价值研究 [J]. 中华危重病急救医学, 2014, 26 (3): 159-164. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.03.007.
- [3] Tan DY, Xia ZF, Zheng AD, et al. The value of combination of the mortality in emergency department sepsis score and blood lactate level in the risk stratification of severe sepsis in the emergency department [J]. Chin Crit Care Med, 2014, 26 (3): 159-164. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.03.007.
- [4] Van Cromphaut SJ, Vanhorebeek I, Van den Berghe G. Glucose metabolism and insulin resistance in sepsis [J]. Curr Pharm Des, 2008, 14 (19): 1887-1899.
- [5] 夏炎火,童秋玲,王丹,等. 血脂水平在脓毒症患者预后判断中的意义 [J]. 中华全科医学, 2014, 12 (6): 894-895, 970.
- [6] Xia YH, Tong QL, Wang D, et al. Clinical value of the blood lipid level in the evaluation of prognosis in septic patients [J]. Chin J General Prac, 2014, 12 (6): 894-895, 970.
- [7] 白静,林瑾,庄海舟,等. 脓毒症患者血浆胆固醇水平变化特点及死亡危险因素分析 [J]. 中华危重病急救医学, 2016, 28 (2): 164-168. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2016.02.015.
- [8] Bai J, Lin J, Zhuang HZ, et al. Changes in plasma cholesterol level and risk factors of death in patients with sepsis [J]. Chin Crit Care Med, 2016, 28 (2): 164-168. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2016.02.015.
- [9] Nicholson JK, Lindon JC, Holmes E. 'Metabonomics': understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data [J]. Xenobiotica, 1999, 29 (11): 1181-1189. DOI: 10.1080/004982599238047.
- [10] Trifonova O, Lokhov P, Archakov A. Postgenomics diagnostics: metabolomics approaches to human blood profiling [J]. OMICS, 2013, 17 (11): 550-559. DOI: 10.1089/omi.2012.0121.
- [11] Gomez-Casati DF, Zanol MI, Busi MV. Metabolomics in plants and humans: applications in the prevention and diagnosis of diseases [J]. Biomed Res Int, 2013, 2013: 792527. DOI: 10.1155/2013/792527.
- [12] 宋德婷,刘智玲,张义雄,等. 代谢组学测定对急性百草枯中毒大鼠的判定作用 [J]. 中华危重病急救医学, 2016, 28 (4): 329-333. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2016.04.008.
- [13] Song CT, Liu ZL, Zhang YX, et al. Diagnostic effect of metabolomics determination method on acute paraquat poisoning [J]. Chin Crit Care Med, 2016, 28 (4): 329-333. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2016.04.008.
- [14] 刘树业. 质谱技术在肝细胞肝癌诊断中的应用价值 [J]. 实用检验医师杂志, 2016, 8 (2): 65-66. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2016.02.001.
- [15] Liu SY. Application of mass spectrometry in diagnosis of hepatocellular carcinoma [J]. Chin J Lab Pathol, 2016, 8 (2): 65-66. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2016.02.001.
- [16] 何振华,宋现青,张森,等. 盲肠结扎穿孔与腹腔持续置管引流两种脓毒症大鼠模型比较 [J]. 中华实验外科杂志, 2013, 30 (11): 2452-2454. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2013.11.078.
- [17] He ZH, Song XQ, Zhang S, et al. Comparison of the cecal ligation and puncture vs.colon ascendens stent peritonitis in the rat model of sepsis [J]. Chin J Exp Surg, 2013, 30 (11): 2452-2454. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2013.11.078.
- [18] 陈玮. 氧摄取率在脓毒症患者中的变化及意义 [D]. 温州:温州医学院, 2012.
- [19] Chen W. Changes and significance of oxygen uptake rate in patients with sepsis [D]. Wenzhou: Wenzhou Medical University, 2012.
- [20] Duran-Bedolla J, de Oca-Sandoval MA M, Saldaña-Navor V, et al. Sepsis, mitochondrial failure and multiple organ dysfunction [J]. Clin Invest Med, 2014, 37 (2): E58-69.
- [21] Garcia-Alvarez M, Marik P, Bellomo R. Sepsis-associated hyperlactatemia [J]. Crit Care, 2014, 18 (5): 503. DOI: 10.1186/s13054-014-0503-3.
- [22] Jung WJ, Park BH, Chung KS, et al. Glucagon levels, disease

- severity, and outcome in severe sepsis [J]. Shock, 2015, 43 (6): 563–568. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000344.
- [16] Kanczkowski W, Sue M, Zacharowski K, et al. The role of adrenal gland microenvironment in the HPA axis function and dysfunction during sepsis [J]. Mol Cell Endocrinol, 2015, 408 : 241–248. DOI: 10.1016/j.mce.2014.12.019.
- [17] Jung WJ, Park BH, Chung KS, et al. Glucagon levels, disease severity, and outcome in severe sepsis [J]. Shock, 2015, 43 (6): 563–568. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000344.
- [18] Liu TF, Vachharajani VT, Yoza BK, et al. NAD⁺-dependent sirtuin 1 and 6 proteins coordinate a switch from glucose to fatty acid oxidation during the acute inflammatory response [J]. J Biol Chem, 2012, 287 (31): 25758–25769. DOI: 10.1074/jbc.M112.362343.
- [19] Su L, Li H, Xie A, et al. Dynamic changes in amino acid concentration profiles in patients with sepsis [J]. PLoS One, 2015, 10 (4): e0121933. DOI: 10.1371/journal.pone.0121933.
- [20] 贺洪, 刘建红, 黄金丽, 等. 运动中补充支链氨基酸对肌肉代谢的影响 [J]. 中国运动医学杂志, 2004, 23 (4): 461–464. DOI: 10.3969/j.issn.1000–6710.2004.04.027.
- He H, Liu JH, Huang JL, et al. The effect of branched-chain amino acid (BCAA) supplementation on the muscle metabolism in motion [J]. Chin J Sports Med, 2004, 23 (4): 461–464. DOI: 10.3969/j.issn.1000–6710.2004.04.027.
- [21] 骆彬, 胡环宇, 杜红珍, 等. 谷氨酰胺对脓毒症小鼠保护作用的实验研究 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2016, 23 (3): 269–272. DOI: 10.3969/j.issn.1008–9691.2016.03.012.
- Luo B, Hu HY, Du HZ, et al. An experimental research of protective effect of glutamine on septic mice [J]. Chin J TCM WM Crit Care, 2016, 23 (3): 269–272. DOI: 10.3969/j.issn.1008–9691.2016.03.012.
- [22] 刘思容, 荣新洲, 樊桂成, 等. 糖尿病足患者坏死组织与血液及尿液中多胺含量测定与相关分析 [J]. 中华烧伤杂志, 2013, 29 (6): 526–530. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009–2587.2013.06.009.
- Liu SR, Rong XZ, Fan GC, et al. Determination and correlation analysis of contents of putrescine, cadaverine, and histamine in necrotic tissue, blood, and urine of patients with diabetic foot [J]. Chin J Burns, 2013, 29 (6): 526–530. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009–2587.2013.06.009.
- [23] 曹同瓦. 重视蛋白质与氨基酸在脓毒症营养疗法中的作用 [J]. 中华急诊医学杂志, 2006, 15 (8): 677–678. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671–0282.2006.08.001.
- Cao TW. The effect of attention protein and amino acid on the nutritional therapy for sepsis [J]. Chin J Emerg Med, 2006, 15 (8): 677–678. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671–0282.2006.08.001.
- [24] Vanmassenhove J, Glorieux G, Hoste E, et al. Urinary output and fractional excretion of sodium and urea as indicators of transient versus intrinsic acute kidney injury during early sepsis [J]. Crit Care, 2013, 17 (5): R234. DOI: 10.1186/cc13057.

(收稿日期: 2016–09–26)

• 学术活动预告 •

中国危重病医学大会 (CCCC 2017) 会议通知及征文通知

由中国医师协会、中国医师协会重症医学医师分会、中国病理生理学会危重病医学专业委员会共同主办, 青岛市科学技术协会、青岛大学附属医院承办的“中国危重病医学大会 (CCCC 2017)” 将于 2017 年 9 月 14 日至 17 日于青岛召开。

- 会议基本信息:** 会议报到时间: 2017 年 9 月 14 日; 正式会议: 2017 年 9 月 15 日至 17 日; 会议地点: 青岛银沙滩温德姆至尊酒店; 酒店地址: 青岛黄岛区银沙滩路 178 号, 近环岛路酒店。在线报名截止时间: 2017 年 7 月 31 日。现场报到时间: 2017 年 9 月 14 日。
- 会议注册:** 注册费包括: 会议费、资料费及会议期间午餐。申请注册成为中国医师协会重症医学医师分会会员和中国病理生理学会危重病医学专业委员会会员, 可与会务组联系。2017 年 7 月 31 日之前未完成注册缴费, 或只进行在线注册但未缴纳注册费的代表请直接到现场报到注册。

中国医师协会重症医学医师分会、中国病理生理学会危重病医学专业委员会现面向全国征集论文, 录取的论文将发表在本次会议的论文集上。欢迎大家积极投稿!

- 征文内容:** ① 重症医学相关疾病的诊断治疗, 包括重症医学新技术、新方法、基础理论研究及应用等; ② 重症医师执业过程中基本问题的观念更新和深入探讨; ③ 重症医学学科建设与科室管理方面的经验交流。
- 征文要求:** ① 大会接受中、英文投稿; ② 英文稿件标题请用大写字母三号 Arial Black 字体, 正文用小四号 Arial 字体, 1.5 倍行距; ③ 中文稿件标题请用三号黑体字, 正文请用小四号宋体字, 1.5 倍行距; ④ 所有稿件请使用 WORD 文档格式, 稿件内容需包括全文 (4 000 字左右) 和摘要 (800 字左右) 两部分, 其中摘要部分应包括文题、作者姓名、作者单位、地址、邮政编码、研究目的、材料与结果、结论等部分; ⑤ 投稿时请务必注明作者的联系方式 (联系电话、Email 地址)、单位名称、单位地址和邮政编码; ⑥ 征文稿件必须为未曾公开研讨或未在国内外刊物上发表的论文, 论文要求突出科学性、先进性、实用性, 对专业实践和行业管理具有一定的指导意义; ⑦ 所有稿件请自留底稿, 恕不退稿。
- 大会交流:** 凡是通知选定大会发言的人员, 请自行制作中文 PPT 文件, 并于 2017 年 8 月 30 日前以 Email 的形式发送至组委会。壁报展示论文请自行制作展示海报, 规格 0.9 m (宽) × 1.2 m (高), 按规定时间展出。
- 投稿方式:** 本次会议仅接受电子投稿, 邮件主题请注明“CCCC2017–投稿”; 来稿请务必注明投稿去向: ① 论文发言, ② 壁报交流; 投稿邮箱: cccc2017@126.com; 投稿开放日期: 2017 年 2 月 15 日; 截稿日期: 2017 年 7 月 31 日; 如希望了解更多征文信息, 请致电大会会务组。

大会会务组: 联系人: 杜老师 13810369767, 林老师 13671005863; Email: ccccservice@126.com。

大会组委会: 联系人: 姜主任 13601366055, 李主任 13601097813; Email: ccccservice@126.com。