

本文引用格式:黄云霞,黄雪霞,文静.基于GC-MS代谢组学分析MK-801诱导精神分裂症大鼠血浆代谢特征[J].安徽医学,2023,44(11):1297-1301.DOI:10.3969/j.issn.1000-0399.2023.11.005

· 基础医学 ·

基于GC-MS代谢组学分析MK-801诱导精神分裂症大鼠血浆代谢特征

黄云霞 黄雪霞 文 静

[摘 要] 目的 基于代谢组学方法探索MK-801诱导精神分裂症大鼠的特征性生物标志物及代谢途径,为精神分裂症病理提供新见解。方法 于2020年8月选用20只4周龄雄性SD大鼠,随机数字表法将大鼠分为对照组(腹腔注射生理盐水)和试验组(腹腔注射MK-801),每组各10只,2周后,依次进行旷场实验、高架十字迷宫实验和Y迷宫实验评价大鼠自主活动、焦虑样行为和学习记忆能力。采用气相色谱-质谱联用技术分析大鼠血浆代谢物,采用偏最小二乘判别分析(PLS-DA)和KEGG通路富集分析筛选MK-801诱导精神分裂症大鼠血浆差异代谢物和显著变化的代谢通路。结果 与对照组相比,慢性MK-801给药导致大鼠在旷场行为学测试中运动路程显著降低、在高架十字迷宫行为测试进入开臂的次数和在开臂持续的时间显著降低和在新物体识别实验中测试期探索新物体时间显著降低($P<0.05$),成功模拟精神分裂样症状。根据代谢组学分析在对照组与试验组之间的差异代谢物为苏氨酸、丝氨酸、肌氨酸、丙氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸、柠檬酸、酪氨酸、D-核糖、核糖醇、色氨酸,且与对照组相比,其相对浓度均呈下降趋势;这些差异代谢物主要富集在两条代谢通路,即氨酰-tRNA(aminoacyl-tRNA)生物合成及苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成代谢通路。结论 MK-801慢性给药诱导的精神分裂症发生可能与MK-801给药诱导血浆代谢紊乱,显著变化的代谢物和代谢途径与密切相关。

[关键词] MK-801;气相色谱-质谱联用;代谢组学;血浆;精神分裂症

doi:10.3969/j.issn.1000-0399.2023.11.005

精神分裂症是一种严重而复杂的精神障碍,全球发病率约为1%^[1],主要表现为阴性症状、阳性症状及认知缺陷等^[2-5]。精神分裂症多发于青春期且发病机制十分复杂,目前尚未完全阐明其发病机制。地佐西平(dizocilpine, MK-801)是一种N-甲基-D-天门冬氨酸受体(NMDAR)非竞争性拮抗剂,国内外广泛用于诱导精神分裂症的动物模型的工具药^[6-8]。然而,其诱导精神分裂症症状的机制也尚不完全清楚。代谢组学是研究内源性代谢物的方法,通过识别正常或病理代谢变化及相关的生化途径,挖掘分子机制和发现生物标志物,为探索疾病机制提供新的研究思路^[9-10]。因此,本研究采用气相色谱-质谱联用(gas chromatography-mass spectrometer, GC-MS)的非靶向代谢组学方法,探讨MK-801诱导精神分裂症的大鼠血浆显著代谢物影响及相关代谢途径,为进一步阐明精神分裂症的发病机制提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 SPF级雄性SD大鼠20只,选购于北京

维通利华实验动物技术有限公司;许可证编号:SCXK(京)2020-0005。饲养环境为:室温20~24℃,相对湿度15%~55%,实验动物自由饮食,自然光照,通风良好。

1.1.2 药物与试剂 MK-801(德国Sigma公司,77086-22-7),L-2-氯苯丙氨酸(98%)(北京百灵威科技有限公司),硬脂酸甲酯(99.5%)(美国Sigma-Aldrich公司),甲氧胺盐酸盐(99%)(北京百灵威科技有限公司),BSTFA+1%TMCS(98%)(北京Solarbio科技有限公司),乙腈(色谱纯)(美国Thermo Fisher公司);其他试剂均为分析纯。

1.1.3 仪器设备 气相色谱-质谱联用仪7890A-5975C(美国Agilent公司);冷冻研磨仪JXFSTPRP-CL(上海净信实业发展有限公司);高速冷冻离心机STR16R(美国Thermo Fisher公司);十万分之一电子天平BSA124S-CW(德国Startorius公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组、造模及行为学测试 20只雄性SD大鼠分为对照组(腹腔注射生理盐水, $n=10$)和试验组(腹腔注射MK-801制备精神分裂症大鼠模型, 0.5 mg/

作者单位:637000 四川南充 川北医学院附属医院药剂科(黄云霞,黄雪霞)

637000 四川南充 川北医学院药学院(文静)

通信作者:文静,414697669@qq.com

kg, $n=10$)^[11], 每天上午9点给药1次, 连续给药2周。最后一次给药后24 h依次参照文献方法^[12-13]进行旷场(open field test, OFT)、高架十字迷宫(elevated plus-maze test, EPM)和新物体识别实验(novel object recognition test, NOR)对精神分裂样症状进行评价。OFT观察指标为总路程反映大鼠自主运动量(即中枢神经系统的状态兴奋或抑制)。EPM观察指标为大鼠进入开臂次数和在开臂停留时间(在开放臂的活动多少), 用于评价大鼠的焦虑状态。NOR测试包括两个试验熟悉期(T1, 探索两个相同物体)和测试期(T2, 更换一个物体为新物体), 通过识别新旧物体的时间评价大鼠的学习记忆能力。

1.2.2 溶液配制 准确称取L-2-氯苯丙氨酸适量, 配制成浓度约为250 $\mu\text{g/mL}$ 的L-2-氯苯丙氨酸甲醇溶液作为内标1。准确称取甲氧胺盐酸盐适量, 配制成浓度约20 mg/mL甲氧胺盐酸盐吡啶溶液作为脎化试剂。准确称取硬脂酸甲酯适量配制成浓度约为50 $\mu\text{g/mL}$ 硬脂酸甲酯正庚烷工作液作为内标2。配制好的溶液均保存于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱备用。

1.2.3 血浆样品的制备 SD大鼠麻醉后, 采集大鼠心血(约0.5 mL)置于有肝素钠(12 500单位)离心管并离心, 取澄清血浆于冻存管中保存。取样后迅速将样本置于液氮中, 待全部取样完成后转移至 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保持。

1.2.4 血浆样本的预处理 分别从两组7个解冻血浆样本中移取血浆约100 μL 置于1.5 mL离心管中, 加250 $\mu\text{g/mL}$ L-2-氯苯丙氨酸溶液20 μL 混匀, 加冰乙腈300 μL 涡旋混匀, 离心取上清液100 μL 氮气挥干。于残渣中加30 μL 浓度为20 mg/mL的甲氧胺盐酸盐吡啶溶液, 涡旋15 s后于 $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘箱中脎化15 min, 放冷后加50 μL 浓度为50 $\mu\text{g/mL}$ 的硬脂酸甲酯庚烷溶液, 涡旋, 高速离心取上清90 μL 置于进样小瓶。

质控样本:取所有血浆样本各30 μL 于5 mL EP管中混匀, 制得质控(quality control, QC)样本。根据样本数量计算所需要质控样本数量, 需要5个质控样本。取血浆质控样本100 μL 于1.5 mL EP管中, 加250 $\mu\text{g/mL}$ L-2-氯苯丙氨酸溶液20 μL 混匀。加冰乙腈300 μL , 其余操作同血浆样本。对照样本:取100 μL 冰乙腈于1.5 mL EP管中, 加入250 $\mu\text{g/mL}$ 的L-2-氯苯丙氨酸甲醇溶液20 μL , 其余操作同血浆样本。

1.2.5 GC-MS仪器条件

1.2.5.1 色谱条件 DB-5MS型号毛细色谱柱(30 m $\times$ 0.25 mm, 0.25 μm);载气:高纯He气流速:1.0 mL/min;进样口温度:250 $^{\circ}\text{C}$;辅助加热器温度:230 $^{\circ}\text{C}$;进样

方式:不分流进样;程序升温:起始温度60 $^{\circ}\text{C}$, 保持1 min, 8 $^{\circ}\text{C/min}$ 升至300 $^{\circ}\text{C}$, 最后保持7 min, 进样程序需38 min。质谱条件四极杆温度150 $^{\circ}\text{C}$, 离子源温度230 $^{\circ}\text{C}$, 电子轰击电离(electron impact, EI)方式, 电离能量70 eV, 溶剂延迟4.5 min, 全扫描模式(SCAN), 扫描范围M/Z 50~600 amu。

1.2.5.2 进样条件 自动进样器进样, 进样体积2 μL , 检测样本前先进行内标、空白以及QC样本进样(连续3个)。在整个分析检测过程中, 每进7个样本安插进1个QC样本。内标用于确定色谱峰的位置, 空白用于排除外源性物质干扰, QC用于考察GC-MS分析检测过程中的稳定性。

1.2.6 血浆代谢物筛选 血浆样本经过前处理及GC-MS分析后, 色谱图经过AMDIS 6.51软件及NIST14数据库(安捷伦科技, 美国)进行去卷积及色谱峰识别, 匹配度 $>80\%$ 的色谱峰为可定性代谢物, 导出数据至EXCEL, 色谱信息包含化合物名称、保留时间及峰面积。

将用于定性的所有代谢物的峰面积均除以L-2-氯苯丙氨酸(内标1)的峰面积得到代谢物的相对浓度, 同时删除QC样本中相对标准偏差(Relative Standard Deviation, RSD)大于30%的物质, 将剩余部分的数据处理成矩阵的形式。

1.2.7 血浆差异代谢物筛选 数据导入Metaboanalyst 4.0数据库中进行多元统计分析。首先采用主成分分析法(principal components analysis, PCA)分析, 观察包括QC在内的各组间区分度及组内聚集情况, 初步评价实验的组内和组间差异是否明显, 并通过QC样本的聚集情况判断样本分析的总体质量。然后通过偏最小二乘法-判别式分析(partial least squares-discriminant analysis, PLS-DA)分析MK-801组与对照组之间的效果, 根据变量投影重要度(variable importance in the projection, VIP), VIP值大于1, t 检验 P 值小于0.05筛选差异代谢物。

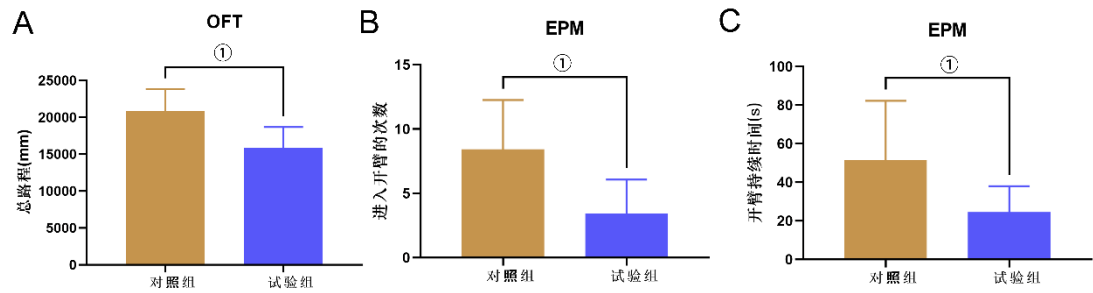
1.2.8 血浆差异代谢物通路分析 将上述统计学分析筛选出的差异代谢物导入Metaboanalyst 4.0数据库的“通路分析”模块进行通路分析。通路分析参数:通路数据库为Rattus Norvegicus(rat);通路富集分析算法为超几何检验(hypergeometric test);拓扑分析算法为相对中介中心性(relative-betweenness centrality)。通路分析结果中, P 值小于0.05的通路认定为显著改变的代谢通路。

3 结果

3.1 行为学检测 OFT实验结果显示, 与对照组相

比, 试验组大鼠运动距离显著降低(图 1A)。EPM 实验结果显示, 试验组大鼠在进入开臂的次数和在开臂持续的时间较对照组显著降低(图 1B、1C)。NOR 实验结果显示, 在熟悉期(T1)对照组和试验组大鼠对两个相同物体探索时间均无显著差异; 在测试期(T2)对照组

大鼠对新物体探索时间较熟悉物体显著增加($P<0.05$), 而试验组大鼠对新物体探索时间较熟悉物体没有显著差异。见表 1。以上结果提示, 试验组大鼠精神分裂症模型制备成功。



注: A 为 OFT 中的总路程; B 为 EPM 中进入开臂的次数; C 为 EPM 中开臂持续时间; 与对照组比, ① $P<0.05$ 。

图 1 OFT 和 EPM 实验

表 1 新物体识别实验头部探索时间统计($\bar{x}\pm s$)

测试	熟悉期(T1)(s)		测试	测试期(T2)(s)	
	对照组	试验组		对照组	试验组
物体 1	10.65±3.63	5.82±6.35	熟悉物体	7.01±10.15	5.99±4.18
物体 2	9.89±4.83	3.79±4.57	新物体	33.53±16.97 ^①	8.17±4.16
F 值	1.457	1.931	F 值	2.796	1.009
P 值	0.7719	0.575	P 值	0.0134	0.4288

注: 与大鼠识别熟悉物体时间相比, 对照组和试验组大鼠识别新物体的时间, ① $P<0.05$ 。物体 1 和 2 为两个相同物体。

3.2 血浆代谢物筛选结果 与 NIST14 谱库比对, 匹配度 $>80\%$ 为定性标准, 分别在 QC 样本中定性出 80 种代谢物。见图 2。

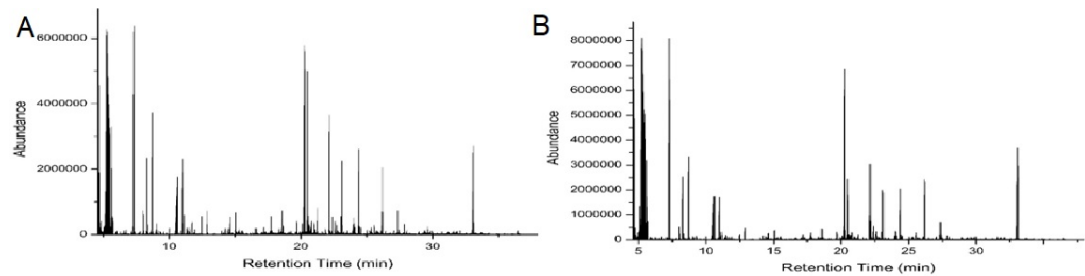
3.3 血浆差异代谢物筛选结果 PCA 分析结果如图 3A 所示, 对照组与试验组有部分重合, QC 样本聚集较好。PLS-DA 分析显示, 两组样本能有效区分(图 3B)。交叉验证模型变量结果 $R^2=0.864\ 72$, $Q^2=0.775\ 38$ 。以 VIP 值大于 1 和 t 检验 P 值小于 0.05 为标准筛选差异代谢物结果见表 2, 试验组与对照组相比共筛出 10 种差异代谢物, 其浓度变化均呈下降趋势。

3.4 血浆差异代谢物的通路分析 差异代谢物代谢通路分析结果见表 3。血浆差异代谢物主要参与氨酰

-tRNA 生物合成和苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成代谢。即苯丙氨酸、丝氨酸、丙氨酸、苏氨酸、酪氨酸、谷氨酸参与氨酰-tRNA 生物合成代谢通路; 苯丙氨酸、酪氨酸参与苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成代谢。

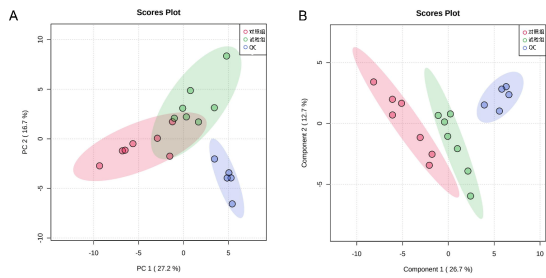
4 讨论

精神分裂症是一种严重的精神疾病, 发病机制复杂, 已经成为全球卫生资源的沉重负担。然而, 精神分裂症的病因和机制仍未阐明。精神分裂症研究公认的药理模型是 NMDA 受体的非竞争性拮抗剂(MK-801 和氯胺酮), 因此本研究参照文献^[11]方法采用 MK-801



注: A 为对照组; B 为试验组。

图 2 血浆样本 GC-MS 总离子色谱图



注:A 为 PCA 得分图;B 为 PLS-DA 得分图。

图 3 两组样本 PCA 和 PLS-DA 得分图

表 2 血浆样本差异代谢物

名称	HMDB	保留时间	VIP 值	P 值	浓度变化趋势
苏氨酸	HMDB0000167	9.798	1.1554	0.006	↓
丝氨酸	HMDB0000187	10.663	1.7322	0.005	↓
肌氨酸	HMDB0000271	11.259	1.468	0.008	↓
丙氨酸	HMDB0000161	12.222	1.3957	0.005	↓
谷氨酸	HMDB0000148	13.957	1.0936	0.024	↓
苯丙氨酸	HMDB0000159	15.654	1.6718	0.038	↓
柠檬酸	HMDB0000094	16.166	1.0409	0.019	↓
酪氨酸	HMDB0000158	17.421	1.6159	0.005	↓
D-核糖	HMDB0000283	17.749	1.0688	0.003	↓
核糖醇	HMDB0001851	17.931	1.5539	0.011	↓
色氨酸	HMDB0030396	20.014	1.5334	0.009	↓

注:HMDB 是指人类代谢组数据库(Human Metabolome Database)中代谢物编号。

给药,模拟大鼠的精神分裂症样行为,构建了精神分裂症的大鼠模型。通过代谢组学的技术探索 MK-801 诱导类似精神分裂症模型大鼠体内内源小分子的代谢,挖掘与精神分裂症相关的特征性生物标志物及代谢途径,为精神分裂症病理提供新的见解。

自主活动、焦虑及认知障碍是精神分裂症的典型症状,分别用旷场、高架十字迷宫和新物体识别试验进行评价。在 OFT 中,与对照组相比,试验组大鼠自主运动显著降低。在 EPM 测试中,试验组大鼠进入开臂次数和在开臂持续的时间较对照组显著减少,表明 MK-801 慢性给药诱导大鼠焦虑样行为。NOR 试验中模型

大鼠识别能力较对照组显著降低,表明认知障碍。这与一项以 MK-801 构建精神分裂为模型进行治疗药物机制研究中的结果一致^[14]。上述行为学结果表明采用 MK-801 给药成功构建实验性精神分裂症大鼠模型。

生物体代谢组的改变往往是受基因、疾病、环境、药毒物等多因素作用后的最末端反应,可以为寻找表型变化的“线索”^[15]。本实验采用基于 GC-MS 的代谢组学检测方法对亚慢性 MK-801 给药后大鼠血浆样本进行检测,PCA 分析结果显示 QC 样本聚集较好,提示 GC-MS 在样品分析过程中较为稳定,系统误差小;对照组与试验组有部分重合说明两组存在一定代谢物差异。PLS-DA 分析结合交叉验证结果表明该模型可靠、拟合准确性好。经过差异代谢物筛选,试验组多种氨基酸浓度较对照组显著降低,包括苏氨酸、丝氨酸、肌氨酸、丙氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸、柠檬酸、酪氨酸和色氨酸,其浓度均显著下降。提示 MK-801 诱导的精神分裂症可能导致血浆氨基酸代谢紊乱。

氨基酸是三羧酸循环的前体,影响蛋白质合成和能量代谢^[16]。氨基酸代谢异常与多种神经精神障碍有关,包括自闭症谱系障碍^[17]、智力残疾、癫痫^[18]和精神分裂症^[19]等。如谷氨酸和 D-丝氨酸水平与抑郁症、精神分裂症和认知缺陷的严重程度呈负相关^[20-22],其中,谷氨酸能缺陷被认为是精神分裂症中常见的许多症状的基础,特别是阴性和认知症状。研究表明,谷氨酸和 D-丝氨酸均是 NMDAR 激动剂,可以改变 NMDAR 的功能。而 NMDAR 对神经兴奋性传递、突触可塑性、学习和记忆^[23]至关重要,NMDAR 功能减退是精神分裂症的一个重要病因成分^[21]。此外,氨基酸对于蛋白质合成、能量代谢和神经传递等代谢过程至关重要。本研究结果显示,MK-801 引起大鼠血浆谷氨酸和丝氨酸水平的下降,表明 MK-801 扰乱二者体内代谢的稳态,进而影响 NMDAR 甘氨酸位点的底物代谢,导致 NMDAR 功能障碍,这与人类慢性精神分裂症患者中发现谷氨酸合成全面下调结果一致^[24]。精神分裂症是复杂行为和精神心理的综合状态,可能与多条代谢通路有关。本研究发现了部分差异代谢物,并筛选出主要参与的相关代谢通路,其中显著改变的丝氨酸、色氨酸、谷氨

表 3 血浆代谢通路信息表

通路名称	Total	Hit	差异代谢物	-log p	impact
氨酰-tRNA 生物合成	48	6	苯丙氨酸、丝氨酸、丙氨酸、苏氨酸、酪氨酸、谷氨酸	6.8364	0.16667
苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成	4	2	苯丙氨酸、酪氨酸	3.6261	1.0
丙氨酸、天门冬氨酸和谷氨酸代谢	28	3	丙氨酸、谷氨酸、柠檬酸	3.068	0.197
二羧酸代谢	32	3	柠檬酸、丝氨酸、谷氨酸	2.895	0.074
甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢	34	3	甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸	2.817	0.317
苯丙氨酸代谢	12	2	苯丙氨酸、酪氨酸	2.514	0.357

注:Total 指该通路包含的代谢物总数,Hit 指差异代谢物在该代谢通路的个数。

酸、苯丙氨酸等可能成为与精神分裂症相关的潜在生物标志物,下一步将利用靶向代谢组学进行深入研究,希望能为精神分裂症相关机制的研究提供更进一步的基础。

参考文献

- [1] INSEL T R. Rethinking schizophrenia [J]. *Nature*, 2010, 468(7321): 187–193.
- [2] TANDON R, GAEBEL W, BARCH D M, et al. Definition and description of schizophrenia in the DSM-5 [J]. *Schizophr Res*, 2013, 150(1): 3–10.
- [3] OWEN M J, SAWA A, MORTENSEN P B. Schizophrenia [J]. *Lancet*, 2016, 388(10039): 86–97.
- [4] GAEBEL W, ZIELASEK J. Schizophrenia in 2020: trends in diagnosis and therapy [J]. *Psychiatry Clin Neurosci*, 2015, 69(11): 661–673.
- [5] KAHN R S. On the origins of schizophrenia [J]. *Am J Psychiatry*, 2020, 177(4): 291–297.
- [6] BUBENIKOVA-VALESOVA V, HORACEK J, VRAJOVA M, et al. Models of schizophrenia in humans and animals based on inhibition of NMDA receptors [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2008, 32(5): 1014–1023.
- [7] MK-801 建立谷氨酸功能低下精神分裂症大鼠模型的研究 [J]. *中国神经精神疾病杂志*, 2011, 37(10): 621–624.
- [8] KRUK-SŁOMKA M, BIALA G. Cannabidiol attenuates MK-801-induced cognitive symptoms of schizophrenia in the passive avoidance test in mice [J]. *Molecules*, 2021, 26(19): 5977.
- [9] FILLET M, FREDERICH M. The emergence of metabolomics as a key discipline in the drug discovery process [J]. *Drug Discov Today Technol*, 2015, 13: 19–24.
- [10] ZAITSU K, HAYASHI Y, KUSANO M, et al. Application of metabolomics to toxicology of drugs of abuse: a mini review of metabolomics approach to acute and chronic toxicity studies [J]. *Drug Metab Pharmacok*, 2016, 31(1): 21–26.
- [11] XIAO X, XU X, LI F, et al. Anti-inflammatory treatment with beta-asarone improves impairments in social interaction and cognition in MK-801 treated mice [J]. *Brain Res Bull*, 2019, 150: 150–159.
- [12] NIKIFORUK A, KOS T, HOLUJ M, et al. Positive allosteric modulators of alpha 7 nicotinic acetylcholine receptors reverse ketamine-induced schizophrenia-like deficits in rats [J]. *Neuropharmacology*, 2016, 101: 389–400.
- [13] KALLAI V, TOTH A, GALOSI R, et al. The MAM-E17 schizophrenia rat model: comprehensive behavioral analysis of pre-pubertal, pubertal and adult rats [J]. *Behav Brain Res*, 2017, 332: 75–83.
- [14] GOMES F V, LLORENTE R, DEL BEL E A, et al. Decreased glial reactivity could be involved in the antipsychotic-like effect of cannabidiol [J]. *Schizophr Res*, 2015, 164(1/3): 155–163.
- [15] FIEHN O. Metabolomics—the link between genotypes and phenotypes [J]. *Plant Mol Biol*, 2002, 48: 155–171.
- [16] ALIU E, KANUNGO S, ARNOLD G. L. Amino acid disorders [J]. *Ann Transl Med*, 2018, 6(24): 471.
- [17] SMITH A M, KING J J, WEST P R, et al. Amino acid dysregulation metabolites: potential biomarkers for diagnosis and individualized treatment for subtypes of autism spectrum disorder [J]. *Biol Psychiatry*, 2019, 85(4): 345–354.
- [18] TARLUNGEANU D C, DELIU E, DOTTER C P, et al. Impaired amino acid transport at the blood brain barrier is a cause of autism spectrum disorder [J]. *Cell*, 2016, 167(6): 1481–1494.
- [19] MEDNOVA I A, CHERNONOSOV A A, KASAKIN M F, et al. Amino acid and acylcarnitine levels in chronic patients with schizophrenia: a preliminary study [J]. *Metabolites*, 2021, 11(1): 34.
- [20] MACKAY M B, KRAVTSENYUK M, THOMAS R, et al. D-serine: potential therapeutic agent and/or biomarker in schizophrenia and depression? [J]. *Front Psychiatry*, 2019, 10: 25.
- [21] BALU D T, COYLE J T. The NMDA receptor ‘glycine modulatory site’ in schizophrenia: D-serine, glycine, and beyond [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2015, 20: 109–115.
- [22] ISHIWATA S, HATTORI K, SASAYAMA D, et al. Cerebrospinal fluid D-serine concentrations in major depressive disorder negatively correlate with depression severity [J]. *J Affect Disord*, 2018, 226: 155–162.
- [23] TRAYNELIS S F, WOLLMUTH L P, MCBAIN C J, et al. Glutamate receptor ion channels: structure, regulation, and function [J]. *Pharmacol Rev*, 2010, 62(3): 405–496.
- [24] THEBERGE J, AL-SEMAAN Y, WILLIAMSON P C, et al. Glutamate and glutamine in the anterior cingulate and thalamus of medicated patients with chronic schizophrenia and healthy comparison subjects measured with 4.0-T proton MRS [J]. *Am J Psychiatry*, 2003, 160(12): 2231–2233.

(2022-11-07 收稿)

(本文编校: 刘菲, 胡欣)