

肌肉 ^{31}P -MRS 的临床研究进展 *

秦 斌 齐 静[△]

(南京医科大学附属第一临床医学院放射科 江苏 南京 210029)

摘要 磁共振波谱分析(magnetic resonance spectroscopy MRS)是目前唯一无创性定量研究人体组织细胞代谢、生理生化改变的方法。磁共振磷谱(^{31}P -MRS)可对无机磷(Pi)、磷酸肌酸(PCr)、三磷酸腺苷(ATP)等含磷高能化合物进行定量分析,是在体研究骨骼肌能量代谢的有力工具。动态磷谱技术可测量肌肉在静息状态、收缩过程和恢复过程中细胞内高能磷酸化合物的变化,评价骨骼肌做功时的能量的转换效率,实现对线粒体功能的无创性评价。本文将对肌肉磷谱的研究进展做综述,尤其侧重于动态磷谱的应用,为以后利用磷谱客观研究肌肉相关疾病奠定良好的基础。

关键词 磁共振磷谱(^{31}P -MRS); 骨骼肌; 氧化磷酸化; 能量代谢

中图分类号: R445.2 文献标识码: A 文章编号: 1673-6273(2011)01-176-04

Clinical Research of ^{31}P -MRS for Skeletal Muscle*

QIN Bin, QI Jing[△]

(Department of Radiology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China)

ABSTRACT: As one type of Magnetic Resonance Spectroscopy (MRS), Phosphorus MR spectroscopy (^{31}P -MRS) has special effect in the analysis of energy metabolism of human tissue and cell in vivo, it can quantitatively analyse of the concentrations of inorganic phosphate(Pi), phosphocreatine(PCr), adenosine triphosphate(ATP) and so on. so it plays an important role in the study of skeletal muscle and energy metabolism. Dynamic ^{31}P -MRS technique can survey the change of high energy phosphate compounds in muscle cells during resting state, during and after exercise, evaluate energy conversion efficiency during muscle contraction. This paper reviewed the research of muscle ^{31}P -MRS, particularly focused on the application of the dynamic ^{31}P -MRS. It will lay a good foundation for using the ^{31}P -MRS to study the diseases related to muscles.

Key words: phosphorus-31 magnetic resonance spectroscopy (^{31}P -MRS); skeletal muscle; Oxidative phosphorylation; energy metabolism

Chinese Library Classification(CLC): R445.2 Document code: A

Article ID:1673-6273(2011)01-176-04

磁共振氢谱(^1H -MRS)可用普通 MRI 线圈,操作方便,而且自动匀场抑水技术也很成熟,是目前研究最多的波谱技术。而磷原子的共振频率距离水的共振频率较远,可以不受水峰的影响,另外由于含磷化合物频谱较宽,各种含磷化合物波峰重叠少,所以磷谱比氢谱更早用于生化研究。1973 年, Moon 和 Richards 对完整红细胞及离体鲜肉标本进行了 ^{31}P 频谱测定; 1978 年, Gordon 得到了第一个人体 ^{31}P 标本,从此 ^{31}P -MRS 技术进入临床活体研究。磷谱(^{31}P -MRS)可对磷酸肌酸(PCr)、三磷酸腺苷(ATP)等含磷高能化合物进行定量分析,是在体研究能量代谢的重要工具^[1]。

肌肉组织相对均匀,高能磷酸化合物含量高,是磷谱研究最理想的器官。另外,骨骼肌可以主动收缩,可以进行动态磷谱的研究,评价线粒体的功能。是目前唯一无创在体研究线粒体功能的工具。最近 2-3 年,基于磁共振波谱技术研究线粒体功能越来越受到关注。笔者就 ^{31}P -MRS 对肌肉功能的临床研究进展作一综述。

1 正常肌肉的 ^{31}P -MRS 表现

细胞内超过 1mM 的含磷化合物均可以在磷谱上观察到。正常肌肉磷谱包括 7 个与能量代谢有关的波峰,3 个来自于 ATP 分子,一个来自于磷酸肌酸(PCr),还有一个来自于无机磷酸盐(Pi)。还有两个与细胞膜代谢相关的波峰即磷酸单酯(PME)和磷酸二酯(PDE)。各个化合物的化学位移依次为 PME (6.8ppm)、Pi(4.9ppm)、PDE(3.0ppm)、PCr(0ppm)、 γ -ATP(-2.5ppm)、 α -ATP(-7.6ppm)和 β -ATP(-16.2ppm),肌肉能量代谢比较活跃,所以磷酸肌酸(PCr)和三磷酸腺苷(ATP)波峰明显。根据峰下面积可以测量各含磷化合物的浓度。很多研究根据峰下面积的比值进行半定量分析。绝对定量较为复杂,需要校正不同化合物的弛豫差别,射频线圈的不均匀性及主磁场不均匀性,可以得到标准化后的峰下面积,然后相对于内标准或外标准进行绝对定量。由于有 3 个途径补充 ATP 的含量: (1)肌肉收缩时 PCr 直接将高能磷酸键传递给 ADP 生成 ATP; (2)线粒体内氧化磷酸化直接生成 ATP; (3)细胞浆内无氧酵解生成 ATP,所以生理状态下体内 ATP 变化较小,可作为磷谱定量的内标准,从而对各含磷化合物进行定量分析。单位为每千克肌肉组

* 基金项目 国家自然科学基金资助项目(30700191); 江苏省自然科学基金资助项目(BK2006578)

作者简介 秦斌(1985-) 男,硕士研究生,主要研究方向 磷谱的临床应用

[△]通讯作者 齐静 E-mail: qijinglx@126.com

(收稿日期 2010-10-07 接受日期 2010-10-30)

织内该化合物的毫摩尔量(mmole/kg)。

Pi 峰来自于 HPO_4^{2-} 分子和 H_2PO_4^- 分子,两个离子处于快速转换的状态,所以 Pi 峰的化学位移与细胞内的 PH 值有关,而 PCr 的化学位移非常稳定,不容易受酸碱度或其他离子浓度的影响,用 Gadian^[2]的方法,根据 Pi 和 PCr 波峰的相对距离可计算细胞内的 PH 值。 $\text{PH} = 6.75 + \text{LOG}(\text{dis}-3.35)/(5.6-\text{dis})$,其中 dis 为 Pi 和 PCr 的相对位移。

PCr 是高能磷酸盐的储存形式,是肌肉磷谱最显著的一个波峰。其含量的多少代表了组织的能量状态,因而是组织能量代谢的状态的一个敏感指标,当肌肉中 ATP 含量降低,ADP 含量升高时,肌酸激酶(CK)催化平衡反应: $\text{PCr} + \text{ADP} = \text{ATP} + \text{Cr}$,从而维持人体组织的能量状态。相反,当 ATP 生成增多时可以生成 PCr 以保持 ATP 的浓度。

ATP 是能量代谢过程中直接供能的化合物,在磷谱上表现 α 、 β 、 γ 为三个波峰,主要是三磷酸腺苷与镁离子的化合物。ATP 的 α 、 γ 峰与 ADP 的 α 、 β 峰相重叠,只有 β -ATP 峰不与其他峰重叠,因而常用 β -ATP 的峰下面积代表 ATP 的含量。

镁离子是高能化合物 ATP 进行能量代谢的重要活性成分,它的含量与肌肉的很多病理状态有关。镁离子含量直接影响 -ATP 的化学位移,而 -ATP 的化学位移比较稳定。一般根据 -ATP 和 -ATP 的化学位移来计算细胞内镁离子的浓度^[3]。 $\text{Mg}^{2+} = K^{\text{Mg-ATP}} (10.832 - \text{dis}) / (10.832 - 8.255)$,其中 $K^{\text{Mg-ATP}} = 53 \mu\text{M}$,dis 为磷谱所显示的 -ATP 和 -ATP 之间的相对位移。

ADP 在 ATP 的合成调节中占据重要的位置,大部分 ADP 与肌原纤维结合,细胞浆内游离的可溶 ADP 很少,不能够直接探测到。但是用 chance^[4]的方法,通过肌酸激酶催化的平衡反应,可以计算出 ADP 的含量。 $\text{ADP} = \{(28.5 - \text{PCr})(\alpha + \beta + \gamma) / 3\} / \{1.66 \times 10^9 \times \text{PCr} \times 10^{-\text{PH}}\} \times 1000$ 。

2 肌肉的动态 ^{31}P -MRS 技术

大部分研究设计都包括标准的静息-运动-恢复三个阶段,从每个阶段的谱线的变化可以最大限度获得骨骼肌能量代谢的信息。静息状态时 ^{31}P -MRS 可以直接测量出肌肉内未与大分子结合而且含量高于 1mmol 的代谢物质,如无机磷(Pi)、磷酸肌酸(PCr)及 ATP 等,也可以间接测量与能量代谢相关的化合物浓度及指标,如 ADP、PH 等,可以无创性评价活细胞能量代谢,明确其能量代谢特点^[5]。David Bendahan^[6]等人用磷谱对 8 名健康男性指屈肌进行研究,在短暂 18s 手指屈曲运动后再经过 180s 的恢复期,记录 PCR 和 ATP 浓度在这过程中的变化,同时检测细胞内 PH 值的变化,以此来研究 ATP 再合成和糖酵解的机制。

在运动过程中,骨骼肌内的高能磷酸键互相转换维持肌肉的正常功能。肌肉收缩时,分解 ATP 释放能量,形成 Pi 和 ADP,PCr 在胞浆内磷酸肌酶(CK)的催化下平衡反应 $\text{Pcr} + \text{ADP} = \text{ATP} + \text{Cr}$,将高能磷酸键传递给 ATP 补充肌肉的化学能,从而维持人体组织的能量状态,谱线上可观察到 PCr 峰降低, Pi 和 ADP 峰升高。

在运动恢复过程中,糖酵解停止而以 ADP 浓度调控的氧化磷酸化合成 ATP 过程仍以一定的加速度持续进行,线粒体内 ATP 生成增多,产生的 ATP 大部分用于重新合成 PCr,在线

粒体内膜上的 CK 催化下可以生成 PCr。在谱线上可以观察到各个化合物含量逐渐恢复到静息状态。PCr 的生成过程完全在线粒体内膜上进行,因为线粒体氧化磷酸化产生的 ATP 完全用来恢复 PCr 的储备,所以 PCr 的恢复速率直接反映线粒体氧化磷酸化的功能^[7-9],可以为线粒体相关疾病的研究提供客观信息。Marcinek DJ^[10]通过 ^{31}P -MRS 对代谢物恢复速率进行研究进而对线粒体功能的定量评价。

动态磷谱可测量运动时和恢复期每分钟 PCr 的含量,计算 PCr 的恢复速率,从而评价线粒体氧化磷酸化的功能。大量研究证实运动停止后 PCr 和 ADP 的恢复速率和半值恢复时间是定量评价线粒体功能的敏感指标。成为无创性评价线粒体氧化磷酸化功能的成熟技术。

3 肌肉线粒体相关疾病

线粒体是重要的细胞器,它在细胞的能量代谢中起着重要作用。线粒体与细胞生长、损伤和凋亡有着密切的关系。与衰老有关,而且可以参与肿瘤、心血管病、糖尿病、代谢综合征和神经退行性疾病等许多疾病的发病。呼吸链酶缺陷是导致线粒体疾病最普遍的类型,他们发展到最后都造成 ATP 生成缺陷从而导致运动耐受降低。部分由于其遗传和生化异质性,线粒体功能异常临床上表现的谱线比较复杂,并且大部分这种疾病除有肌肉症状外还伴有神经系统症状,其中在一些病例中,又以肌肉疲劳为最主要的表现^[11]。

目前常用评价线粒体功能的方法有:电镜观察线粒体数量和结构^[12]、通过实验室方法探测线粒体磷酸激酶或内质网蛋白的活性^[13,14]、以及骨骼肌活检方法测量 ATP 的生成效率等^[15,16],均为离体研究或有创检查。

磷谱在 20 世纪 80 年代初期就开始用于研究肌肉疾病,所用的磁场强度也在逐渐增加。肌肉是 MRS 理想的研究对象,因为肌肉可以在磁场中运动收缩,所以可以对其进行生化反应进行检测。由于其具有可重复性和无创性,使之对疗效或者疾病进展进行客观和无创性评估成为可能^[17]。

尤其是与线粒体功能异常的相关肌肉疾病,因其具有无创性和可重复性,在评价原发性肌病如特发性肌炎、纤维肌痛和肌肉疼痛综合征等疾病的发展和监测治疗发挥独特的作用,而日益成为研究肌肉功能的有力工具^[18]。

4 动态磷谱研究骨骼肌线粒体相关疾病

4.1 动态磷谱对 2 型糖尿病的研究

2 型糖尿病是临床上最常见的内分泌疾病,胰岛细胞分泌缺陷和/或靶组织对胰岛素敏感性降低是 2 型糖尿病的关键病理特征,可引起糖、脂肪和蛋白质等一系列代谢紊乱,病程较长可导致多个系统损害^[19],但 2 型糖尿病的基础病因和发病机理尚不明确。近年来随着对线粒体研究的不断深入,线粒体功能缺陷和 2 型糖尿病相关病理机制的研究受到广泛关注,为探索糖尿病的基础病因开拓了思路^[20,21]。

一般认为,线粒体功能障碍是胰岛素抵抗的病理机制中的关键环节。线粒体通过氧化作用将糖和脂肪酸转化为能量,线粒体功能障碍导致脂肪酸的蓄积,影响肌肉和肝组织对胰岛素的敏感性,诱发胰岛素抵抗。有研究表明,老年人骨骼肌内线粒

体活性下降,细胞内脂肪酸含量增加,即使体型偏瘦,也多伴有胰岛素抵抗,胰岛素抵抗是2型糖尿病的早期表现,线粒体功能异常又可能早于胰岛素抵抗出现,是2型糖尿病的超早期表现。Green等人认为增强线粒体氧化磷酸化功能可预防甚至有效治疗2型糖尿病^[22]。但是,也有证据表明,线粒体功能障碍是2型糖尿病发展的结果。高血糖可促进解偶联蛋白的生成,影响线粒体呼吸链的功能,导致氧化磷酸化功能障碍^[23]。可见线粒体功能异常和胰岛素抵抗的相关病理机制尚不明确。Schrauwen-Hinderling VB等^[24]运用³¹P-MRS在体研究2型糖尿病患者骨骼肌功能,分别采集2分钟静息期、5分钟运动期及5分钟恢复期的磷谱,结果2型糖尿病患者PCr恢复到静息水平的1/2所用的时间(T1/2)较对照组延长45%,表明2型糖尿病患者线粒体功能受损。

4.2 动态磷谱对炎性肌病及线粒体肌病的研究

Gabriel Cea等^[25]通过磷谱检测骨骼肌的能量代谢情况,以此来评估线粒体功能异常在皮肤炎和多发性肌炎患者中的发病机理和临床表现中的作用。实验结果发现,这两组患者中,PCr和ATP半值恢复时间几乎是对照组的两倍,线粒体ATP最大产生速率是正常人的半,表明肌肉氧化代谢功能受损。

动态磷谱可以在体探测细胞内糖元分解代谢和氧化磷酸化的异常,使其对线粒体功能的研究具有独特的价值。磷谱研究发现,肌炎患者线粒体氧化磷酸化功能受损,导致能量代谢受损,高能磷酸化合物含量明显低于正常人,其运动后恢复期的PCr半值恢复时间明显长于正常人,从而导致了患者疲劳乏力的临床症状。

Tarnopolsky MA和Park JH^[26,27]等跟正常对照组相比,皮肤炎患者静息时Pi/PCr值较高,相对运动量相似时,PCr/Pi消耗增加。³¹P-MRS表明皮肤炎和多发性肌炎患者肌肉氧化代谢功能受损。

线粒体肌病是由于线粒体遗传物质缺陷引起细胞内线粒体的结构与功能异常,导致细胞呼吸链及能量代谢障碍的一组多系统疾病,诊断依赖于电镜和酶组织化学染色。磷谱技术的运用,摆脱了诊断的束缚,为临床筛查提供可能。

静息期时线粒体肌病患者的肌肉磷谱表现为Pi峰较高,PCr峰较低。在运动期,线粒体ATP生成不足的结果是导致无氧代谢增加,线粒体肌病的病人在运动中表现为PCr消耗率增加。在恢复期,磷谱可以观察到PCr恢复期的延长,PH恢复率提高和ADP恢复率降低^[28]。

5 磷谱技术在肌肉其他方面的应用

5.1 ³¹P-MRS与糖酵解功能缺陷

糖类代谢的不足能导致一系列的运动相关性症状,比如疼痛痉挛、挛缩和横纹肌溶解症或者渐进性虚弱^[29]。糖酵解或糖原分解功能受损的肌肉不能在运动过程中产生乳酸。³¹P-MRS能直接发现运动中缺乏生成的酸,同时PCr消耗率明显增加,生成较多Pi。

因为病人可以很好耐受MRS检查,同时此项检查具有一定的可重复性,所以作为病理生理研究的工具,这项技术可以用来研究疾病的纵向发展进程和治疗效果。这项技术也成为研究对肌肉糖酵解功能有影响的常见系统性疾病的重要工具,

如,肾衰、心衰、外周血管和甲状腺疾病。

5.2 ³¹P-MRS作为研究基因功能的工具

³¹P-MRS联合其他无创性技术研究相关基因功能对代谢的影响,Lodi R^[30]等用磷谱研究Frataxin蛋白,此种蛋白缺乏导致弗里德赖希共济失调,³¹P-MRS研究再次证实了线粒体代谢缺陷,并且线粒体ATP生成的最大速度的降低与相关基因异常程度呈正相关。因此可以反映相关基因的表达情况。

6 结语

磁共振磷谱是目前唯一能无创性监测活体组织能量代谢的可靠方法,动态磷谱可以实现在体评价线粒体功能,在研究线粒体相关疾病方面表现出其独特的优势,随着高场磁共振的广泛应用,脉冲序列的不断改进以及后期处理软件的不断完善,动态磷谱的研究必将越来越深入和广泛。

参 考 文 献(References)

- [1] Mattei JP, Bendahan D, Cozzone P. ³¹P Magnetic Resonance Spectroscopy-A tool for diagnostic purposes and pathophysiological insights in muscle disease[J]. Reumatismo, 2004;56:9
- [2] Gadian DG, Radda GK, Brown TR, et al. The activity of creatine kinase in frog skeletal muscle studied by saturation - transfer nuclear magnetic resonance[J]. Biochem J, 1981, 194 (1) : 215 - 28
- [3] Mosher TJ, Williams GD, Doumen C, et al. Error in the calibration of the MgATP chemical-shift limit: effects on the determination of free magnesium by P - ³¹ NMR spectroscopy [J]. Magn Reson Med, 1992, 24 (1) : 163-169
- [4] Taylor DJ, Fore PJ, Styles P, et al. Bioenergetics of intact human muscles: A ³¹P nuclear magnetic resonance study [J]. Mol Biol Med, 1983, 1:77
- [5] 齐静,王德杭,朱晓梅.磁共振磷谱(³¹P-MRS)探测不同年龄正常人骨骼肌能量代谢的特点[J].实用放射学杂志, 2007,23(10):1355-58. QI Jing, WANG De-hang, ZHU Xiao-mei. Study on the metabolism of skeletal muscle of healthy people in different age group using phosphorus MR spectroscopy. [J]. Pract Radiol, 2007,23 (10): 1355-58. (In Chinese)
- [6] David Bendahan, Graham J. Kemp, Magali Roussel, et al. ATP synthesis and proton handling in muscle during short periods of exercise and subsequent recovery[J]. J Appl Physiol, 2003,94(6):2391-2397
- [7] Larson-Meyer DE, Newcomer BR, Hunter GR, et al. ³¹P MRS measurement of mitochondrial function in skeletal muscle: reliability, force-level sensitivity and relation to whole body maximal oxygen uptake[J]. NMR Biomed, 2000;13:14-27
- [8] Larson-Meyer DE, Newcomer BR, Hunter GR, et al. Relation between in vivo and in vitro measurements of skeletal muscle oxidative metabolism[J]. Muscle&Nerve, 2001;24;1665
- [9] Smith SA, Montain SJ, Zientara GP, et al. Use of phosphocreatine kinetics to determine the influence of creatine on muscle mitochondrial respiration: an in vivo ³¹P-MRS study of oral creatine ingestion[J]. Journal of Applied Physiology, 2004;96:2288-2292
- [10] Marcinek DJ. Mitochondrial dysfunction measured in vivo [J]. Acta Physiol Scand, 2004, 182;343
- [11] J.P.Mattei, D.Bendahan, P.Cozzone, P-31 magnetic resonance spectroscopy,a tool for diagnostic purposes and pathophysiological in-

- sights in muscle diseases[J]. *Reumatismo*, 2004,56(1):9-14
- [12] Dickson LM, Rhodes CJ. Pancreatic beta-cell growth and survival in the onset of type 2 diabetes: a role for protein kinase B in the Akt? [J]. *Am J. Physiol. Endocrinol Metab*, 2004, 287:E192-8
- [13] Green K, Brand MD, Murphy MP. Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes [J]. *Diabetes*, 2004,53:S110-S118
- [14] Duchen MR. section III: mitochondria, B-cell function, and type 2 diabetes-roles of mitochondrial in health and disease [J]. *Diabetes*, 2004,53:s96-102
- [15] Stump CS, Short KR, Bigelow ML, Schimke JM, Nair KS: Effect of insulin on human skeletal muscle mitochondrial ATP production, protein synthesis, and mRNA transcripts [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003,100:7996-8001
- [16] Asmann YW, Stump CS, Short KR. Skeletal muscle mitochondrial functions, mitochondrial DNA copy numbers, and gene transcript profiles in type 2 diabetic and nondiabetic subjects at equal levels of low or high insulin and euglycemia[J]. *Diabetes*, 2006, 55:3309-19
- [17] Tarnopolsky MA, Parise G. Direct measurement of high-energy phosphate compounds in patients with neuro-muscular disease [J]. *Muscle Nerve*, 1999,22:1228-1233
- [18] Argov Z, Joffberg M, Arnold DL. Insights into muscle diseases gained by phosphorus magnetic resonance spectroscopy [J]. *Muscle Nerve*, 2000,23(9):1316-1334
- [19] Locatelli F, Canaud B, Eckardt KU, et al. The importance of diabetic nephropathy in current nephrological practice [J]. *Nephrol Dial Transpl*, 2003, 18(9): 1716-1725
- [20] Lowell BB, Shulman GI. Mitochondrial dysfunction and type 2 diabetes[J]. *Science*, 2005;307:384-7
- [21] Maechler P, Wollheim CB. Mitochondrial function in normal and diabetic [beta]-cells[J]. *Nature*, 2001,414:807-12
- [22] Green K, Brand MD, Murphy MP. Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes [J]. *Diabetes*, 2004,53:S110-S118
- [23] Langin D. Diabetes, insulin secretion, and the pancreatic BETA -cell mitochondrion[J]. *N Engl J Med*, 2001,345 :1772 - 1774
- [24] Schrauwen-Hinderling VB, Kooi ME, Hesselink MK, Jeneson JA, Backes WH, van Echteld CJ, et al. Impaired in vivo mitochondrial function but similar intramyocellular lipid content in patients with type 2 diabetes mellitus and BMI-matched control subjects [J]. *Diabetologia*, 2007,50(1):113-20
- [25] Gabriel Cea, David Bendahan, David Manners, et al. Reduced oxidative phosphorylation and proton efflux suggest reduced capillary blood supply in skeletal muscle of patients with dermatomyositis and polymyositis: a quantitative 31P-magnetic resonance spectroscopy and MRI study[J]. *Brain*, 2002,125:1635-1645
- [26] Tarnopolsky MA, Parise G. Direct measurement of high-energy phosphate compounds in patients with neuromuscular disease [J]. *Muscle Nerve*, 1999, 22: 1228-33
- [27] Park JH, Niermann KJ, Ryder NM, Nelson AE, Das A, Lawton AR et al. Muscle abnormalities in juvenile dermatomyositis patients: P-31 magnetic resonance spectroscopy studies [J]. *Arthritis Rheum*, 2000, 43: 2359-67
- [28] Taylor DJ, Kemp GJ, Radda GK. Bioenergetics of skeletal muscle in mitochondrial myopathy[J]. *J Neurol Sci*, 1994,127:198-206
- [29] Ross BD, Radda GK, Gadian DG, Rocker G, Esiri M, Falconer-Smith J. Examination of a case of suspected McArdle's syndrome by 31P nuclear magnetic resonance[J]. *N Engl J Med*, 1981, 304: 1338-42
- [30] Lodi R, Cooper JM, Bradley JL. Deficit of in vivo mitochondrial ATP production in patients with Friedreich ataxia [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 11492-5