

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.15.043

磷脂分析方法的研究进展*

姚凯 薛芸 李静 王彦[△] 闫超

(上海交通大学药学院 上海 200240)

摘要: 磷脂是细胞膜的重要结构组成成分,是许多生理活性物质的前体物质,还发挥着细胞信号传导,细胞增殖,细胞凋亡等作用。研究表明许多疾病与磷脂的代谢异常有关,对磷脂的分析有助于疾病的诊断和治疗,对磷脂的研究已经成为医学、生物和药学等众多学科的研究热点,因为磷脂结构复杂,种类繁多,对磷脂的分析一直比较困难,随着分析技术的不断进步,特别是质谱技术,文献报道应用 HPLC-ESI-MS 进行磷脂分析的报道也越来越多,为了更好地认识磷脂的结构、功能及其代谢过程等,本文从磷脂的提取方法,色谱分析,质谱检测方法和代谢组学研究等四个方面对近年来针对磷脂分析的研究进展加以综述。

关键词: 磷脂;分析方法;质谱;脂质组学;综述

中图分类号: O657.63 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2014)15-2972-04

The Recent Advances in Analysis of Phospholipids*

YAO Kai, XUE Yun, LI Jing, WANG Yan[△], YAN Chao

(School of Pharmacy, Shanghai Jiaotong University, Shanghai, 200240, China)

ABSTRACT: Phospholipids is major constituents of cell membrane, and also plays an important role in cellular signal transduction, cell proliferation and apoptosis, and as a precursor substance of many physiologically relevant molecules. Recent researches have shown that phospholipids abnormal metabolism are closely related to the aggravation of many diseases. The analysis of phospholipids is very important for the diagnosis and the treatment of disease. More and more attention have been paid to the annalysis of phospholipids. It is difficult to analyse the phospholipids due to the complex structure and species of Phospholipids. With the progress of analysis technology, especially, the mass spectrometry, more and more attenntion have been paid on the analysis of phospholipid by using HPLC-ESI-MS. In order to understand the function and metabolism of phospholipids better, the research of the extraction method, the chromatographic analysis, mass spectrometry and metabolomics of phospholipids were summarized. In this article, the recent advances of analysis of phospholipids are reviewed.

Key words: Phospholipids; Analytical method; Mass spectrometry; Lipidomics; Review

Chinese Library Classification: O657.63 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)15-2972-04

前言

磷脂(Phospholipids)不仅维持细胞膜的正常形态,还参与生物体大量的生命活动,具有重要的生理意义。其中磷脂在信号传导,物质交换,细胞凋亡和增殖等方面发挥了重要作用^[1],如甘油磷脂(Glycerophospholipids)是脂质第二信使的前体;磷脂代谢产物在发热,炎症反应和血小板聚集等方面也发挥了重要作用,如花生四烯酸,前列腺素,血小板活化因子等。分子生物学研究表明磷脂是人体内重要的生物活性物质及信息分子前体的贮存形式,其水解产物和氧化产物可以通过影响分泌或神经系统来调节人体代谢,改善记忆力等,也是许多疾病形成的化学介质。另外,据报道,很多疾病都与磷脂代谢异常有关^[2],如糖尿病^[3],阿兹海默病^[4],胰腺癌^[5]等。因此,近年来,针对磷脂的结构、功能、代谢等研究已经成为生物学、医学、药学的研究热点。

磷脂分子是一类具有磷酸基团的两性化合物,既含有脂肪

酸链组成的疏水尾(Hydrophobic tail),又具有由磷酸相连的取代基团构成的亲水头(Hydrophilic head)^[6],按其分子结构组成可分为甘油磷脂和鞘磷脂两大类,前者是甘油酯的衍生物,后者是以鞘氨醇为主链的衍生物。其中血浆中的磷脂主要有以下七大类:磷脂酰胆碱(Phosphatidylcholine, PC),溶血磷脂酰胆碱(Lyso-phosphatidylcholine, Lyso-PC),磷脂酰乙醇胺(Phosphatidylethanolamine, PE),磷脂酰丝氨酸(Phosphatidylserine, PS),磷脂酰肌醇(Phosphatidylinositol, PI),磷脂酰甘油(Phosphatidylglycerol, PG)和鞘磷脂(Sphingomyelin, SM)。每种磷脂都不是单纯的化合物,根据极性头基,根据极性头基的不同、碳链长短的不同和不饱和键的多少,磷脂的组成高度复杂,且呈现多样化的特点,所以磷脂的分析具有相当的难度。

1 磷脂的提取方法

通过分析生物样品中的磷脂及其代谢产物种类和含量的变化,有助于我们更好地了解磷脂在疾病的作用。目前从生物

* 基金项目:国家自然科学基金项目(21175092; 21105064)

作者简介:姚凯(1987-),男,硕士研究生,电话:021-34205988,主要研究方向:脂质分析

[△]通讯作者:王彦,职称:副教授, E-mail: wangyan11@sjtu.edu.cn

(收稿日期:2013-10-28 接受日期:2013-11-25)

样品中提取磷脂一般采用多步液-液萃取 (liquid-liquid extraction) 和固相萃取 (Solid-Phase Extraction, SPE) 法。

在液-液萃取法提取磷脂中, Bligh-Dyer 法^[4]最经典, 简单来说, 在 1 mL 的样品中, 加入 3.75 mL 氯仿: 甲醇混合液 (v/v, 1:2), 不断振荡, 然后再加入 1.25 mL 氯仿, 振荡, 再次加入 1.25 mL 水, 振荡, 静置 5 分钟, 离心取下层有机液体。另外也有甲基叔丁基乙醚法提取样品中的磷脂^[6], 或使用正己烷: 异丙醇 (3:2)^[7], 溶剂毒性较小。但是以上这些方法提取的磷脂都不可避免地混有胆固醇、甘油三酯等中性脂, 需要进一步色谱分离。固相萃取相对液-液萃取提取的总脂来说, 可以特异性地萃取磷脂, 这无疑是富集磷脂的好方法。SPE 固相萃取小柱内部一般填充有硅胶或者硅胶改性后的填料 (通常为氨基、氰基、二羟基丙氨基硅胶等)^[8,9]。SPE 使用的有机溶剂包括甲醇、氯仿或己烷。与传统的液-液萃取相比, 使用的有机溶剂更少, 更适合小样品量磷脂的提取。

Andrea Avalli^[10]等使用硅胶的 SPE 小柱分离和纯化磷脂, 采用正己烷活化, 上样后再分别用 3 mL 正己烷-乙醚 (8:2, v/v) 和正己烷-乙醚 (1:1, v/v) 溶液清洗出非极性脂质, 再用 2 mL 甲醇和 2 mL 的氯仿-甲醇-水 (3:5:2, v/v/v) 溶液洗脱得到磷脂。

Hee-Yong Kim^[11]等使用氨基硅胶基质的 SPE 小柱分离和纯化磷脂, 具体步骤为先用正己烷平衡小柱, 加样之后, 用 4 mL 的氯仿: 2-丙醇 (v/v, 2:1) 溶液清洗出中性脂质流分。然后 4 mL 含 2% 乙酸的乙醚和 4 mL 甲醇溶液分别洗脱出游离脂肪酸和中性磷脂。最后, 使用 4 mL 含有 5% 的磷酸-正己烷-异丙醇-0.1 mol/L 乙酸铵水溶液-甲酸 (420:350:100:50:0.5) 溶液洗脱得到酸性脂质。

2 磷脂的色谱分析

基于磷脂结构的复杂性和多样性, 磷脂分析是一个挑战^[12]。常用的有薄层色谱法 (TLC)、核磁共振 (NMR)、质谱 (MS)、气质联用 (GC-MS) 和液质联用 (LC-MS) 技术等。TLC 法灵敏度和分辨率都较低, 且在样品分析过程中由于样品直接暴露在空气中, 易引起磷脂的氧化和分解, 破坏其结构; GC-MS 不适合于直接分析磷脂, 因为磷脂没有挥发性, 需要经水解、甲酯化等^[13]处理; ³¹P-NMR 可利用磷原子 ³¹P 的核磁共振效应来分析各种磷脂, 但 NMR 法的灵敏度较低, 仅限于对磷脂酰胆碱等组织中含量较高的磷脂样品的测定^[14]。

生物样品中的磷脂不饱和键较多, 表现为受热易分解, 易在空气中氧化, 故而高效液相色谱 (HPLC) 是最适合分离磷脂的色谱方法, 高效液相具有分离速度快, 分辨率高, 可以分析不易挥发的物质, 避免了 GC 对不饱和磷脂的氧化和异构化。正相色谱分离不同种类的磷脂主要基于头部基团极性大小, 即头基极性弱的先流出, 极性强的后流出, 大致顺序为 PE, PI, PS, PC, SM, LysoPC^[15,16]。但是反相色谱分离磷脂主要基于磷脂上脂肪酸酰基链的疏水性不同, 在反相柱上的保留时间不同而顺序流出, 但是相比而言一般分离度较差, 峰重合严重, 容易在质谱中导致离子抑制^[17,18]。目前 HPLC-ESI-MS 由于能够提供可靠、精确的相对分子质量及结构信息, 具有高分辨率、高灵敏度和特异性强等优点, 特别是电喷雾 MS (ESI-MS) 是目前磷脂分

析中应用最多的软电离法, 并且不需要对样品进行衍生化处理, 因而目前已成为磷脂分析最强有力的工具^[19]。

3 磷脂的质谱检测方法

3.1 磷脂的定性

质谱检测器在磷脂分析中得到越来越多的应用, 主要得益于软电离技术: 电喷雾技术 (electrospray ionization, ESI)^[20] 和基质辅助激光解析技术 (matrix-assisted laser desorption ionization, MALDI)^[21], 因为其几乎不产生碎片离子, 特别适合复杂化合物的分子量的鉴定, 而以高分辨飞行时间 TOF 为代表的质谱具有强大的定性能力, 特别适合鉴定种类复杂的磷脂混合物。而普通色谱检测器 (如 TLC、RI、ELSD 等) 只能对某大类磷脂定性和定量, 而质谱可以对磷脂中单一一种类磷脂进行定性, 可以说质谱对磷脂的鉴定起到了革命性的作用。

因为磷脂每个类的结构不同, 电离主要是发生在其特征的磷酸基团或极性头基。不同磷脂在正负模式下电离效率差别很大。如 PC、PE、SM 类在正离子模式下响应较好, 而在负离子模式下几乎不产生负离子。但是 PG、PS、PI、PA 等由于其具有较强的酸性头基, 在负离子模式下较易电离, 最好在负离子模式检测^[9]。在正离子模式下, 扫描 m/z 184 能够识别 PC 类和 SM 类磷脂, 而扫描 m/z 260 可测定 PI 类磷脂。扫描 m/z 185 能够鉴别 PS 类磷脂, 扫描 m/z 172 能够鉴别磷脂酰甘油 PG 类磷脂, 扫描 m/z 141 能够鉴别 PE 类磷脂。而在负离子模式下, 扫描 m/z 153 能够鉴定磷脂酸 PA 类磷脂^[9]。若要确定磷脂的种类, 包括 sn-1 和 sn-2 脂肪酸的组成, 还需要进行 MS/MS 扫描脂酰阴离子^[22], 一般需要碰撞诱导解离 (collision induced dissociation, CID), 且低碰撞能往往丢失 sn-2 脂肪酸, 高碰撞能丢失 Sn-1 脂肪酸^[19]。Han 等开发了基于源内分离的“鸟枪法”^[23] 和多维质谱法^[24] 测定磷脂和其他脂质分子。

3.2 磷脂的定量分析

尽管 ESI 在定量的线性范围不如 UV 检测器宽, 但质谱检测具有检测限低、专一性好的优点。相比较其他色谱普通检测器, 在进行色谱定量分析时, 必须确保色谱峰的单一性, 色谱谱峰中不得含其它干扰组分, 而质谱分析在这方面得要求不太高, 可以进行多反应监测、母离子、子离子扫描和中性丢失扫描等模式, 故更适于复杂基质中低浓度磷脂分析的鉴定。

应用质谱方法测定磷脂含量主要以离子强度和离子浓度呈正比为依据, 磷脂的定量分析需要选择合适的内标, 内标具有校正溶剂提取效率和离子响应的作用, 理想的磷脂内标是同位素标记的各种磷脂, 但是这种内标很少能购买到, 目前主要使用外源性磷脂标准品作为内标, 鉴于每一类磷脂都有不同的离子电离效率^[25], 如 PC 类磷脂电离效率比 PS 类高, 且不饱和键越多, 电离效率越高^[19]。因此有必要对每一类磷脂选择一种合适内标, 且应包括饱和和不饱和磷脂内标, 一般来说, 可以使用 PC (14:0/C14:0), PC (15:0/15:0), PE (14:0/C14:0) 和 lyso-PC (17:0) 等, 这些磷脂在多数细胞中含量都小于 1%。

Li-qiong pang^[20]等利用二醇柱, 联用 ESI-Q-TOF, 采用外标法和半定量的方式对血浆中的七大类磷脂进行了分离和定量, 鉴定了超过 100 种磷脂, 发现了正常人与糖尿病和肾病不同分期患者血浆中 7 类磷脂变化规律。为糖尿病和肾病患者的分型

提出了基于磷脂的参考。

Uhl O^[26]等采用各选一种或两种外源性磷脂作为每类磷脂的内标,并结合外标法,利用 RPLC-MS/MS 测定血浆中的五大类磷脂,共 112 种血浆磷脂的含量,结果显示线性范围宽,RSD 较小,测得的血浆中磷脂的含量与和之前文献报道相符合。

4 LC-MS 在磷脂代谢中的应用

鉴于 LC-MS 在磷脂分析中越来越重要的地位,故特别将 LC-MS 在磷脂代谢中的应用综述如下,液相色谱-电喷雾质谱(LC-ESI/MS)是磷脂组学研究最核心的研究手段。特别是高辨别、高灵敏度、高通量的质谱的应用,目前磷脂组学在疾病诊断,新药研发等方面已经得到广泛应用。

Lewen Jia^[27]等采用液相色谱四级杆复合线性离子阱串联质谱,采用二醇基色谱柱(Nucleosil, 100-5 OH, Germany, 250 mm × 3.9 mm, 5.0 μm),流动相组成 A 是正己烷/正丙醇/甲酸/氨水(79/20/0/6/0.06, v/v);流动相 B 为正丙醇/水/甲酸/氨水(88/10/0.6/0.06, v/v),实现了血浆中磷脂快速分离。结合多维统计分析 PCA 和 PLS-DA,发现 PS (18:0/C18:0), PS (C18:0/C22:5)和 PI(C18:0/C20:4)可能为 Berger 疾病潜在的生物标记物。

Chang Wang^[28]等采用相同色谱条件,将 LC/MS 和多变量统计成功应用到血浆中磷脂的轮廓分析,同时采用无监督 PCA 和有监督的 PLS-DA 用于糖尿病和正常人的分类,发现 PE (C16:0/C22:6), PE(C18:0/C20:4), lyso-PC(C16:0) 和 lyso-PC(18:0)可能是糖尿病磷脂代谢异常标记物。

赵素敏^[29]用 LC-MS 分析采集到糖尿病两个阶段的血浆中代谢组学及磷脂轮廓的原始谱图,通过软件的峰匹配等步骤得到峰表,之后利用多种统计分析方法进行数据分析,通过正交校正的偏最小二乘法(OSC-PLS)对样品进行分型,根据模型的变量重要因子(VIP)、显著性差异等筛选出差异性代谢物。结果显示发生变化的化合物主要为游离脂肪酸、溶血磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、鞘磷脂和磷脂酰胆碱等。

5 展望

目前磷脂分离分析还存在诸多挑战,尽管已有很多磷脂代谢方面的研究,但是生物样品中提取磷脂方法大家不尽相同,也没形成针对不同生物样品的标准提取方法,自然结果也有出入,而且虽然 LC-MS 联用技术显示具有快速、高通量、高精度等特点,但是疾病的潜在标记物中的某些磷脂含量非常低,需要极高灵敏的分析方法,所以磷脂分析方法的改进还有很大的空间。

参考文献(References)

- [1] Rabagny Y, Herrmann W, Geisel J, et al. Quantification of plasma phospholipids by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. Anal Bioanal Chem, 2011, 401(3): 891-899
- [2] 朱超. 基于液相色谱质谱联用技术的磷脂组学平台的建立、改进及应用[D]. 华东理工大学, 2011
Zhu Chao. Development and application of phospholipidomics Platform Based on LC-MS[D]. East China University of Science and Technology, 2011
- [3] 庞丽琼. 糖尿病肾病相关磷脂代谢研究[D]. 清华大学, 2008
Pang Li-qiong. Phospholipid metabonomic Research Related with Diabetes nephropathy[D]. Tsinghua University, 2008
- [4] 张惠萍. 基于多种分析技术的胰腺癌与糖尿病血清代谢组学研究[D]. 上海交通大学, 2011
Zhang Hui-ping. Serum Metabonomics research of pancreatic cancer and type2 diabetes mellitus based on different analytical methods[D]. Shanghai Jiao Tong University, 2011
- [5] 田庆龙, 赵丽丽, 冯毅凡. 质谱技术在磷脂分析中的应用研究进展[J]. 化学与生物工程, 2012, v.29; No.181(02): 21-27.
Tian Qing-long, Zhao Li-li, Feng Yi-fan. Application and Research progress of Mass spectrometry in analysis of Phospholipids[J]. Chemical and biological engineering, 2012, v.29; No.181(02): 21-27
- [6] Matyash V, Liebisch G, Kurzchalia T V, et al. Lipid extraction by methyl-tert-butyl ether for high-throughput lipidomics [J]. Journal of lipid research, 2008, 49(5): 1137-1146
- [7] 韩菊, 魏福祥, 云自厚. 采用低毒溶剂提取脂质[J]. 分析化学, 2002, 30(4): 450-453
Han Ju, Wei Fu-xiang, Yun Zi-hou. Extraction of lipids with a low Toxicity Solvent[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2002, 30(4): 450-453
- [8] Ruiz-Gutiérrez V, Pérez-Camino M C. Update on solid-phase extraction for the analysis of lipid classes and related compounds [J]. Journal of Chromatography A, 2000, 885(1-2): 321-341
- [9] Mills C T, Goldhaber M B. On silica-based solid phase extraction techniques for isolating microbial membrane phospholipids: Ensuring quantitative recovery of phosphatidylcholine-derived fatty acids [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2010, 42(7): 1179-1182
- [10] Avalli A, Contarini G. Determination of phospholipids in dairy products by SPE/HPLC/ELSD[J]. Journal of Chromatography A, 2005, 1071(1): 185-190
- [11] Kim H Y, Salem N. Separation of lipid classes by solid phase extraction[J]. Journal of lipid research, 1990, 31(12): 2285-2289
- [12] Bou Khalil M, Hou W, Zhou H, et al. Lipidomics era: Accomplishments and challenges[J]. Mass Spectrometry Reviews, 2010, 29(6): 877-929
- [13] Tu W C, Mühlhölzer B S, Yelland L N, et al. Correlations between blood and tissue omega-3 LCPUFA status following dietary ALA intervention in rats[J]. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, 2013, 88(1): 53-60
- [14] Estrada R, Stolowich N, Yappert M C. Influence of temperature on ³¹P NMR chemical shifts of phospholipids and their metabolites I. In chloroform-methanol-water[J]. Analytical Biochemistry, 2008, 380(1): 41-50
- [15] 赵素敏, 郑虹, 路鑫, 等. 基于液相色谱与质谱联用的代谢组学及磷脂轮廓分析在糖代谢异常研究中的应用[J]. 色谱, 2011, (4): 307-313
Zhao Su-min, Zheng Hong, Lu Xin, et al. Metabonomics and phospholipid metabolic profiling of abnormal glucose metabolism based on high performance liquid chromatography-electrospray mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2011, (4): 307-313
- [16] 赵素敏, 王宜生, 窦阿波, 等. 液相色谱-质谱用于卵巢肿瘤中磷脂轮廓的分析[J]. 色谱, 2011, (09): 843-850

- Zhao Su-min, Wang Yi-sheng, Dou A-bo, et al. Study of phospholipids of ovarian tumor by high performance liquid chromatography-mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2011, (9): 843-850
- [17] Kim H, Min H, Kong G, et al. Quantitative analysis of phosphatidylcholines and phosphatidylethanolamines in urine of patients with breast cancer by nanoflow liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2009, 393(6-7): 1649-1656
- [18] Bang D Y, Ahn E j, Moon M H. Shotgun analysis of phospholipids from mouse liver and brain by nanoflow liquid chromatography/tandem mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography B, 2007, 852 (1-2): 268-277
- [19] Peterson B L, Cummings B S. A review of chromatographic methods for the assessment of phospholipids in biological samples[J]. Biomedical Chromatography, 2005, 20(3): 227-243
- [20] Pang LQ, Liang QL, Wang YM, et al. Simultaneous determination and quantification of seven major phospholipid classes in human blood using normal-phase liquid chromatography coupled with electrospray mass spectrometry and the application in diabetes nephropathy[J]. Journal of Chromatography B, 2008, 869(1-2): 118-125
- [21] Schiller J, Süß R, Arnhold J, et al. Matrix-assisted laser desorption and ionization time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry in lipid and phospholipid research[J]. Progress in Lipid Research, 2004, 43(5): 449-488
- [22] Nakanishi H, Iida Y, Shimizu T, et al. Separation and quantification of sn-1 and sn-2 fatty acid positional isomers in phosphatidylcholine by RPLC-ESIMS/MS [J]. Journal of biochemistry, 2010, 147 (2): 245-256
- [23] Han X, Gross R W. Shotgun lipidomics: Electrospray ionization mass spectrometric analysis and quantitation of cellular lipidomes directly from crude extracts of biological samples[J]. Mass Spectrometry Reviews, 2004, 24(3): 367-412
- [24] Yang K, Cheng H, Gross R W, et al. Automated lipid identification and quantification by multidimensional mass spectrometry-based shotgun lipidomics[J]. Analytical Chemistry, 2009, 81(11): 4356-4368
- [25] Zacarias A, Bolanowski D, Bhatnagar A. Comparative measurements of multicomponent phospholipid mixtures by electrospray mass spectroscopy: relating ion intensity to concentration[J]. Analytical Biochemistry, 2002, 308(1): 152-159
- [26] Uhl O, Glaser C, Demmelmaier H, et al. Reversed phase LC/MS/MS method for targeted quantification of glycerophospholipid molecular species in plasma[J]. Journal of Chromatography B, 2011, 879(30): 3556-3564
- [27] Jia L, Wang C, Kong H, et al. Plasma phospholipid metabolic profiling and biomarkers of mouse IgA nephropathy[J]. Metabolomics, 2006, 2(2): 95-104
- [28] Wang C, Kong H, Guan Y, et al. Plasma phospholipid metabolic profiling and biomarkers of type 2 diabetes mellitus based on high-performance liquid chromatography/electrospray mass spectrometry and multivariate statistical analysis [J]. Analytical Chemistry, 2005, 77 (13): 4108-4116
- [29] 赵素敏, 郑虹, 路鑫, 等. 基于液相色谱与质谱联用的代谢组学及磷脂轮廓分析在糖代谢异常研究中的应用 [J]. 色谱, 2011, 29(4): 307-313
- Zhao Su-min, Zheng Hong, Lu Xin, et al. Metabolomics and phospholipid metabolic profiling of abnormal glucose metabolism based on high performance liquid chromatography-electrospray mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2011, (4): 307-313

(上接第 2966 页)

- [10] Essex-Lopresti M. Operating theatre design [J]. Lancet, 1999, 353: 1007-1010
- [11] Vanermen H. Live surgery should not be outlawed at national and regional cardiothoracic meetings[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2010, 4: 822-825
- [12] Markey CN, Markey PM. A correlational and experimental examination of reality television viewing and interest in cosmetic surgery[J]. Body Image, 2010, 2: 165-171
- [13] Price MJ, Kandzari DE, Teirstein PS. Change we can believe in: the hyper-evolution of percutaneous coronary intervention for unprotected left main disease with drug-eluting stents [J]. Circ Cardiovasc Interv, 2008, 1: 164-166
- [14] 穆杰, 刘玉华. 医院手术转播的三种方式 [J]. 中国数字医学, 2008, 3(04): 70-71
- Mu Jie, Liu Yu-hua. Three methods of surgery broadcasting [J]. Chinese Digital Medicine, 2008, 3(04): 70-71
- [15] Sade R. The American Association for Thoracic Surgery Ethics Committee and The Society of Thoracic Surgeons Standards and Ethics Committee Broadcast of surgical procedures as a teaching instrument in cardiothoracic surgery [J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2008, 136: 273-277
- [16] Mutter D, Bouras G, Marescaux J. Digital technologies and quality improvement in cancer surgery [J]. Eur J Surg Oncol, 2005, 6: 689-694
- [17] Franke J, Reimers B, Scarpa M, et al. Complications of carotid stenting during live transmissions [J]. JACC Cardiovasc Interv, 2009, 9: 887-891
- [18] Burkow TM, Vognild LK, Stengen G, et al. Internet-enabled pulmonary rehabilitation and diabetes education in group settings at home: a preliminary study of patient acceptability [J]. BMC Med Inform Decis Mak, 2013, 5(13): 33
- [19] 冉梓垠, 韩乾. 数字化手术室的应用 [J]. 中国医疗设备, 2008, 23 (10): 130-133
- Ran Zi-yin, Han Qian. The application of digital operating room [J]. Chinese Medical Equipment, 2008, 23(10): 130-133
- [20] 居健, 李涛, 李伟. 远程手术示教系统在我院的构建与实现 [J]. 医疗卫生装备, 2011, 32(09): 29-30
- Ju Jian, Li Tao, Li Wei. The accomplishment of long-range surgery broadcasting [J]. Medical Equipment, 2011, 32(09): 29-30