

DOI 10.19656/j.cnki.1002-2406.20230909

临床研究

急性冠脉综合征气虚血瘀患者LC-MS 血清代谢组学分析

陈婷¹, 任广胜², 李珊珊^{1✉}, 徐燕³(1. 上海市嘉定区中医医院, 上海 201899; 2. 上海市嘉定区中心医院, 上海 201899;
3. 上海中医药大学附属曙光医院, 上海 201203)

【摘要】目的:研究急性冠脉综合征气虚血瘀患者的血清代谢组学变化情况,找出其相关的生物标志物。方法:检测40例急性冠脉综合征气虚血瘀患者及40例健康人的血清标本,采用液相色谱-质谱联用(LC-MS)非靶向法进行代谢组学分析其异常代谢物及代谢产物。结果:共纳入观察组40例、对照组40例样本进行检测,发现急性冠脉综合征气虚血瘀患者与健康人的显著差异代谢物32种,关键代谢通路共4条;蕨内酰胺、烟酰胺、次黄嘌呤、乙酰肼、7-甲基鸟嘌呤、苯丙氨酸、三丙酸甘油酯、左旋缬氨酸、左旋正亮氨酸、谷氨酸、乙醇酸、花生四烯酸、 α -D-葡萄糖及肌酐等代谢物可作为鉴别二者的潜在生物标志物;涉及的关键通路包括精氨酸和脯氨酸代谢,嘧啶代谢,甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢,谷胱甘肽代谢等。结论:急性冠脉综合征气虚血瘀患者与健康人血清代谢组分存在显著差异,代谢组学相关研究对探求其生物学本质以及中医“证”的实质具有一定指导意义。

【关键词】急性冠脉综合征;气虚血瘀证;代谢组学;液相色谱-质谱联用

【引用格式】

陈婷,任广胜,李珊珊,等.急性冠脉综合征气虚血瘀患者LC-MS血清代谢组学分析[J].中医药信息,2023,40(9):54-61.

CHEN T, REN G S, LI S S, et al. LC-MS serum metabonomic analysis in patients with acute coronary syndrome with qi deficiency and blood stasis[J]. Information on TCM, 2023, 40(9):54-61.

2019年调查显示,每5例死亡病例中就有2例死于心血管病(cardiovascular disease, CVD),推算冠心病患者1139万,且CVD给国家及个人造成严重的医疗负担,缺血性心脏病(ischemic heart disease, IHD)的次均住院费用为14060.20元,其中心绞痛15486.51元、急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)30368.54元^[1]。急性冠脉综合征(acute coronary syndrome, ACS)是冠心病中的急危重症,发病后病死率高(一年后病死率约15%,五年后病死率约20%^[2]),包括ST段抬高型心肌梗死(ST elevated myocardial infarction, STEMI)、非ST抬高型心

肌梗死(non ST elevated myocardial infarction, NSTEMI)以及不稳定型心绞痛(unstable angina pectoris, UAP)。ACS属“胸痹心痛”“真心痛”“卒心痛”范畴,常见本虚标实或者虚实夹杂,本虚常见“气虚、阳虚、阴虚、血虚”,标实常见“血瘀、寒凝、气滞、痰凝”,其中气虚血瘀证是“胸痹心痛”病中的常见证型。代谢组学通过检测代谢物水平的整体和动态变化,提取相关的生物代谢标志物群体或标志物簇^[3],有助于发现不同证型的特殊生物标记物,加强对疾病发展过程中物质代谢的了解^[4],促进疾病证型诊断的客观化^[5],更帮助了解“证”的内涵与实质。因

基金项目:上海市嘉定区卫生和计划生育委员会项目(2019-QN-ZYY-12);上海市嘉定区卫生健康系统“嘉医新星”青年人才培养计划项目(2019JDJYXX009);徐燕上海市名老中医学术经验研究办公室(SHGZS-202245)

第一作者简介:陈婷(1984-),女,主治医师,主要研究方向:中西医结合诊治心血管疾病。

✉通信作者简介:李珊珊(1983-),女,主治医师,主要研究方向:中西医结合诊治心血管疾病。

此,本研究采用LC-MS非靶向法分析急性冠脉综合征气虚血瘀患者与健康人的代谢产物,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取2020年9月—2022年6月在上海嘉定区中医医院门诊或急诊确诊为ACS同时辨证符合气虚血瘀证型的40例患者作为观察组,其中男性31例、女性9例,年龄(64.75 ± 11.77)岁,体重指数(26.3 ± 2.51) kg/m^2 ,吸烟27例,合并高血压34例[病程(7.32 ± 3.03)年,平均收缩压(139.09 ± 14.23) mm Hg,平均舒张压(80.18 ± 18.75) mm Hg],合并血脂异常者28例,合并糖尿病16例,合并慢性肾脏病8例。本研究同时纳入同期在我院体检的健康人群为对照组,其中男性23例、女性17例,年龄(51.88 ± 6.97)岁,体重指数(25.38 ± 1.88) kg/m^2 ,吸烟16例。本研究已通过上海市嘉定区中医医院伦理委员会批准,批准号:JZY201906。

1.2 诊断标准

ACS西医诊断标准参照非ST段抬高型急性冠状动脉综合征基层诊疗指南(2019年)^[6]及急性ST段抬高型心肌梗死诊断和治疗指南(2019)^[7]。中医诊断标准参照《中药新药临床研究指导原则(试行)》^[8]中气虚血瘀证辨证标准,胸闷胸痛,心悸气短,神倦乏力,面色紫暗,舌淡紫,脉弱而涩。健康人群中医诊断参照《中医体质分类与判定》^[9]中平和质的判定标准。

1.3 排除标准

主动脉夹层、肺栓塞等非冠脉堵塞引起的胸痛;严重心力衰竭;严重肺功能不全;肝功能衰竭;肾功能衰竭;恶性肿瘤;精神疾病患者;受孕或哺乳期女性,意识障碍等。

1.4 标本采集和制备

观察组取治疗前在室温下采取静脉血4 mL,对照组取清晨空腹静脉血4 mL,3 000 r/min离心10 min后收集血清置1.5 mL Eppendorf管中,转至 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存备用。

1.5 代谢物检测和分析

代谢组学的检测和分析由上海百趣生物科技有限公司完成,包括样品的处理、LC-MS非靶向血清代谢组检测 and 数据处理分析。

1.5.1 主要实验仪器与试剂

超高效液相(Thermo Fisher Scientific,型号:Vanquish);质谱仪(Thermo Fisher Scientific,型号:Orbitrap Exploris 120);离心机(Thermo Fisher Scientific,型号:Heraeus Fresco17);天平(Sartorius,型号:BSA124S-CW);超声仪(深圳市雷德邦电子有限

公司,型号:PS-60AL)。

甲醇(CNW Technologies);乙腈(CNW Technologies);乙酸铵(SIGMA-ALDRICH);氨水(Fisher Chemical);超纯水(屈臣氏)。

1.5.2 样品处理及检测

移取50 μL 样品至EP管中,加入200 μL 提取液,甲醇:乙腈=1:1(V/V),含同位素标记内标混合物(正离子模式含氧化三甲胺-d₉N-氧化物、4-氨基丁酸-2,2,3,3,4,4-d₆、L-亮氨酸-5,5,5-d₃;负离子模式含琥珀酸-2,2,3,3-d₄、L-亮氨酸-5,5,5-d₃、马尿酸-d₅),涡旋混匀30 s,超声冰水浴10 min, $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 静置1 h;将样品 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$,12 000 r/min[离心力 $13\,800\times g$,半径8.6 cm]离心15 min;取上清于进样瓶中上机检测。使用Vanquish超高效液相色谱仪,通过Waters ACQUITY UPLC BEH Amide (2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.7 μm)液相色谱柱对目标化合物进行色谱分离。液相色谱A相为水相,含25 mmol/L乙酸铵和25 mmol/L氨水,B相为乙腈。样品盘温度: $4\text{ }^{\circ}\text{C}$,进样体积:2 μL 。Orbitrap Exploris 120质谱仪能够在控制软件控制下进行一级、二级质谱数据采集。

1.6 数据处理

使用ProteoWizard软件将原始数据转成mzXML格式后,经自主编写的R程序包(内核为XCMS)进行峰识别、峰提取、峰对齐和积分等处理,然后与BiotreeDB(V2.1)自建二级质谱数据库匹配进行物质注释,算法打分的Cutoff值设为0.3。数据采用平均中心化或Pareto标度化进行预处理之后采用PCA分析。为强化组间差异,进一步采用偏最小二乘法-判别分析(PLS-DA)分析。基础数据分析包括数据预处理,PCA分析,PLS-DA分析,正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA),差异化化合物筛选和鉴定。高级数据分析包括代谢通路分析。

2 结果

2.1 质量控制

所有样品另取等量上清混合成质量控制(quality control, QC)样品, QC样品相关性越接近于1(至少应 >0.8),说明整个方法稳定性越好以及数据质量越高。正负离子QC样品相关性分析见图1、图2,可以看出QC样品相关性很高,说明本次实验方法稳定性高以及数据质量也很高。

2.2 两组正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA)比较

观察组对对照组的OPLS-DA模型由置换检验的点状图见图3、图4。正离子模式(positive ion mode, POS)下两组间模型对Y变量数据集的可解释度(R^2 Y

值)为 0.973、模型可预测度(Q^2 值)为 0.93,负离子模式(negative ion mode, NEG)下两组间 R^2 Y 值分别为

0.961、 Q^2 值分别为 0.914,说明观察组与对照组两者有良好的区分特性,两者之间存在显著的差异。

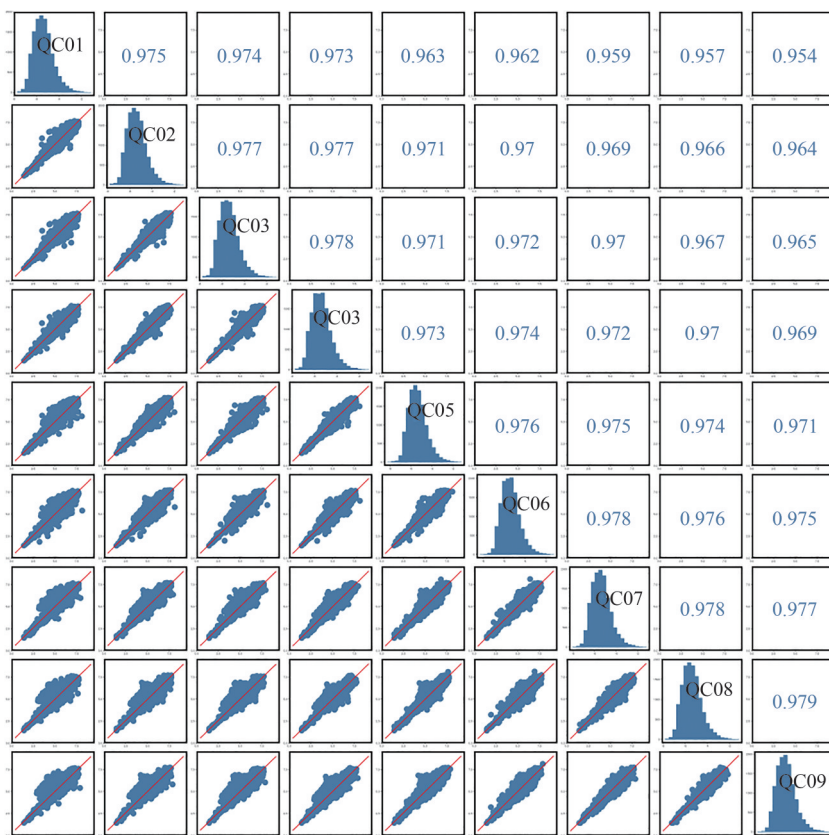


图1 正离子QC样品相关性分析

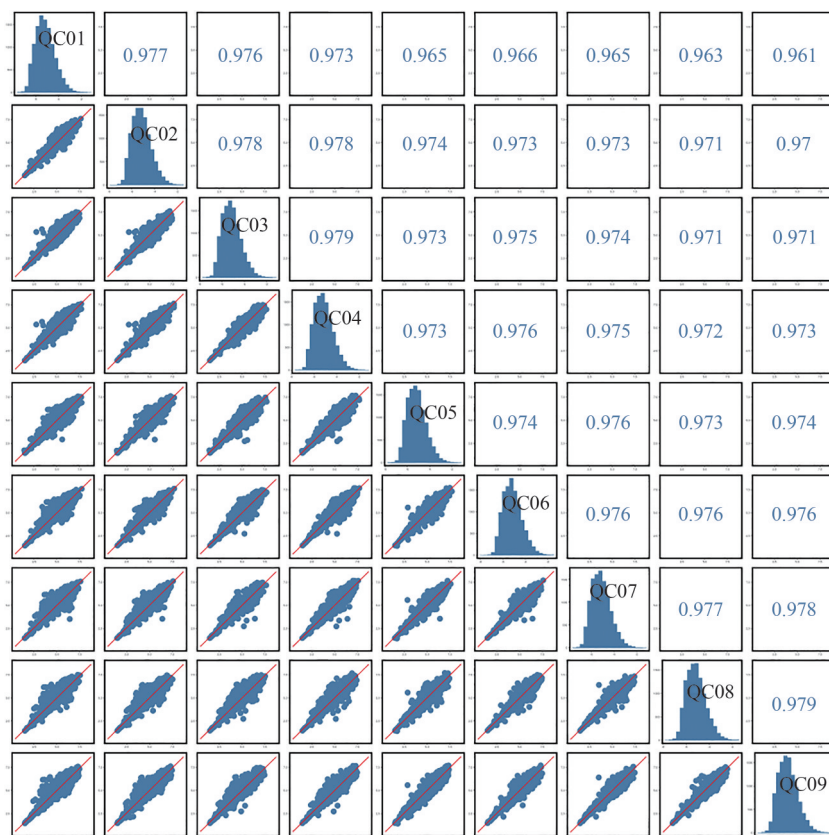


图2 负离子QC样品相关性分析

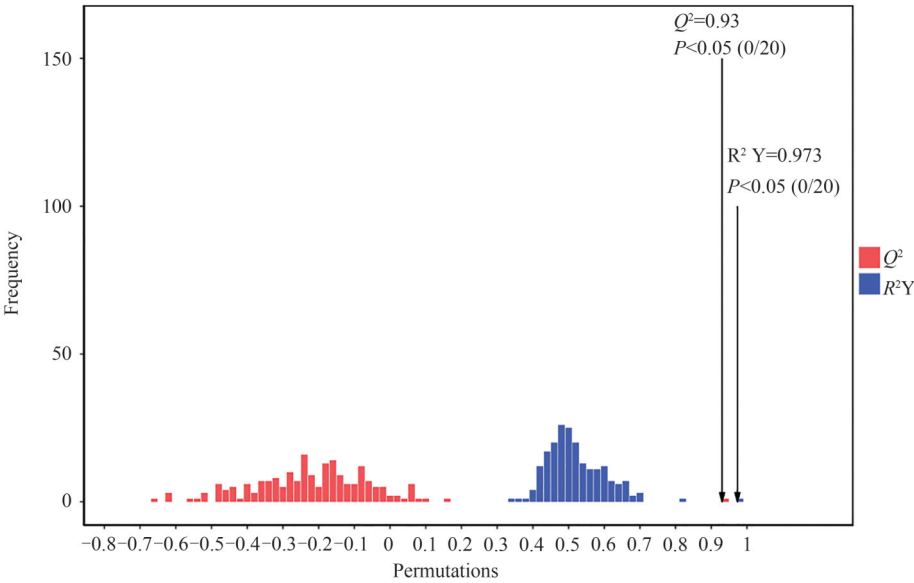


图3 观察组对对照组 OPLS-DA 模型的置换检验结果柱状图 (POS)

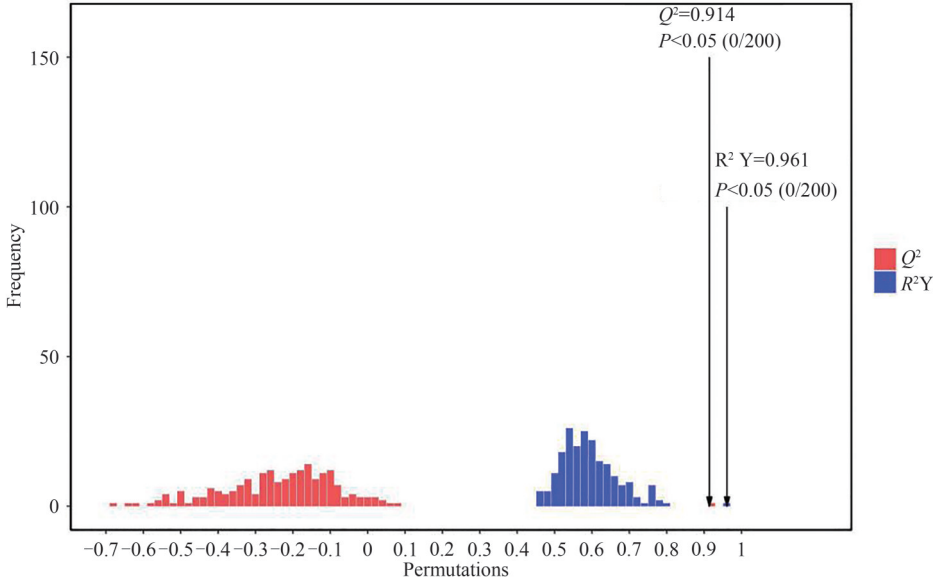


图4 观察组对对照组 OPLS-DA 模型的置换检验结果柱状图 (NEG)

2.3 观察组与对照组的差异代谢物比较

本研究使用的卡值标准基于以下指标： t 检验的 P 值 < 0.05 ，OPLS-DA 模型第一主成分的变量投影重要度 (VIP) > 1 ，以及二级匹配的打分 (MS2 score) 取值 $[0, 1]$ ，数值越大越好。 Q 值是假设检验统计量 (P 值) 经多重假设检验校正之后的结果，是对 P 值的再统计。由此筛选出 32 个符合条件的差异代谢物，POS 模式下分别为蕨内酰胺、烟酰胺、次黄嘌呤、乙酰肼、7-甲基鸟嘌呤、苯丙氨酸、三丙酸甘油酯等，NEG 模式下分别为左旋缬氨酸、左旋正亮氨酸、谷氨酸、乙醇酸、花生四烯酸、 α -D-葡萄糖、肌酐等。见表 1。

2.4 观察组与对照组的代谢通路比较

本研究共得出 58 条可能受差异代谢物扰动的代

谢通路，其中 8 条通路 P 值 < 0.05 ，11 条通路 Impact ≥ 0.1 ，说明这些通路受差异代谢物扰动较大，可作为 ACS 气虚血瘀患者病理机制的潜在通路，其中 4 条代谢通路 (精氨酸和脯氨酸代谢，嘧啶代谢，甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢，谷胱甘肽代谢) 同时满足 $P < 0.05$ 及 Impact ≥ 0.1 ，可能是与代谢物差异相关性最高的关键通路。见表 2。

2.5 差异代谢物的调控网络分析

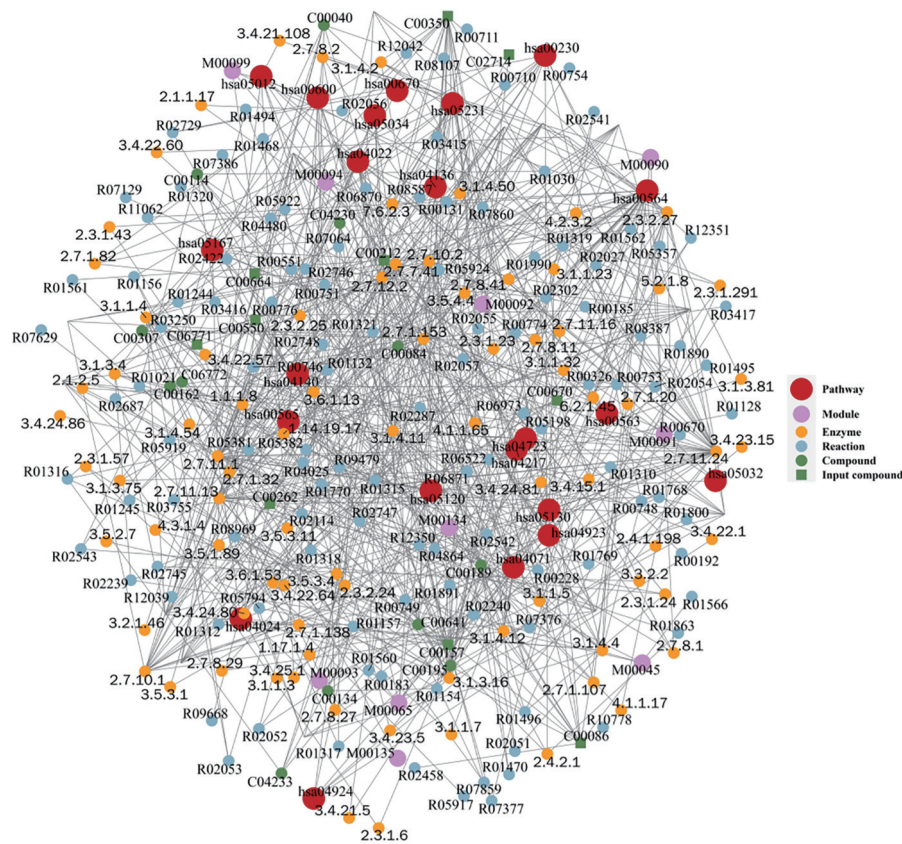
在取得每组对比差异代谢物的匹配信息后，分别对对应物种 human (hsa) 的 KEGG 数据库进行通路搜索和调控互作网络分析。调控分析的结果以网络图展示，结果见图 5。

表 1 差异代谢物质信息汇总

差异代谢物名称	模式	MS2 score	VIP	P 值	Q 值	Up/down
蕨内酰胺(Pterolactam)	+	0.999 970 461 538 461	1.048 127 397	$2.456\ 29 \times 10^{-6}$	$2.295\ 77 \times 10^{-6}$	↑
烟酰胺(Nicotinamide)	+	0.999 748 307 692 308	1.164 575 177	$1.632\ 57 \times 10^{-6}$	$1.550\ 18 \times 10^{-6}$	↓
次黄嘌呤(Hypoxanthine)	+	0.999 454 538 461 538	1.420 732 214	$1.580\ 48 \times 10^{-5}$	$1.336\ 68 \times 10^{-6}$	↓
乙酰肼(Acetylhydrazine)	+	0.998 444 153 846 154	1.124 444 857	$2.225\ 47 \times 10^{-8}$	$2.552\ 97 \times 10^{-8}$	↓
7-甲基鸟嘌呤(7-Methylguanine)	+	0.998 184 769 230 769	1.172 227 901	$5.673\ 83 \times 10^{-5}$	$4.426\ 85 \times 10^{-5}$	↑
苯丙氨酸(Phenylalanylphenylalanine)	+	0.995 272 538 461 538	1.746 889 581	$9.828\ 71 \times 10^{-17}$	$1.915\ 62 \times 10^{-16}$	↓
三丙酸甘油酯(Glycerol tripropanoate)	+	0.992 487 923 076 923	1.675 749 723	0.000 458 321	0.000 312 635	↓
去甲丙氧酚(Norpropoxyphene)	+	0.973 562 461 538 461	1.345 727 935	$7.628\ 7 \times 10^{-9}$	$9.095\ 55 \times 10^{-9}$	↓
三乙醇胺(Triethanolamine)	+	0.962 207 230 769 231	1.059 881 754	0.001 400 683	0.000 876 012	↑
美洲茶碱 E(Ceanothine E)	+	0.960 188 000 000 000	1.773 776 083	$4.782\ 58 \times 10^{-5}$	$3.774\ 32 \times 10^{-5}$	↓
鹿花菌素(Gyromitrin)	+	0.950 394 692 307 692	1.304 255 674	$1.757\ 72 \times 10^{-9}$	$2.225\ 8 \times 10^{-9}$	↓
三丙胺(Tripropylamine)	+	0.938 316 153 846 154	1.788 270 836	$2.931\ 57 \times 10^{-29}$	$2.265\ 77 \times 10^{-28}$	↓
糖苷(Glycosides)	+	0.934 609 230 769 231	1.754 409 584	$3.299\ 6 \times 10^{-7}$	$3.352\ 38 \times 10^{-7}$	↓
左旋脯氨酸(L-Proline)	+	0.908 233 000 000 000	1.240 831 304	$2.634\ 79 \times 10^{-7}$	$2.701\ 98 \times 10^{-7}$	↑
芸香碱(Graveoline)	+	0.904 858 076 923 077	1.255 611 465	0.000 256 849	0.000 181 745	↓
鸟氨酸(L-Ornithine)	+	0.897 999 153 846 154	1.300 613 377	$1.355\ 12 \times 10^{-11}$	$1.989\ 88 \times 10^{-11}$	↓
牛磺酸(Taurine)	+	0.895 690 538 461 538	1.575 496 888	$4.540\ 36 \times 10^{-21}$	$1.161\ 77 \times 10^{-20}$	↓
左旋缬氨酸(L-Valine)	-	0.999 851 769 230 769	1.153 450 223	$5.541\ 61 \times 10^{-6}$	$8.500\ 46 \times 10^{-6}$	↓
左旋正亮氨酸(L-Norleucine)	-	0.999 790 000 000 000	1.172 890 178	$2.094\ 59 \times 10^{-6}$	$3.454\ 51 \times 10^{-6}$	↓
谷氨酸(Pyroglutamic acid)	-	0.999 785 307 692 308	1.393 322 083	$3.464\ 39 \times 10^{-7}$	$6.693\ 7 \times 10^{-7}$	↓
乙醇酸(Glycolic acid)	-	0.999 478 923 076 923	1.755 481 455	$4.808\ 84 \times 10^{-10}$	$1.492\ 82 \times 10^{-9}$	↓
甘氨酸(Glycine)	-	0.999 154 769 230 769	1.773 599 315	$1.874\ 1 \times 10^{-17}$	$2.049\ 46 \times 10^{-16}$	↓
花生四烯酸(Arachidonic acid)	-	0.998 761 615 384 615	1.126 403 049	0.000 380 077	0.000 414 766	↓
α-D-葡萄糖(Alpha-D-Glucose)	-	0.994 204 307 692 308	1.618 639 837	$3.869\ 83 \times 10^{-9}$	$1.030\ 22 \times 10^{-8}$	↑
肌酐(Creatinine)	-	0.994 133 230 769 231	1.175 565 345	$2.386\ 32 \times 10^{-7}$	$3.258\ 45 \times 10^{-5}$	↑
黄嘌呤(Xanthine)	-	0.994 083 461 538 461	1.189 343 732	0.007 928 563	0.006 264 765	↓
十二酸(Dodecanoic acid)	-	0.990 664 076 923 077	1.150 370 131	$7.768\ 15 \times 10^{-5}$	$9.719\ 27 \times 10^{-5}$	↓
假尿嘧啶核苷(Pseudouridine)	-	0.984 546 923 076 923	1.396 494 461	0.003 647 312	0.003 175 559	↑
左旋别苏氨酸(L-Allothreonine)	-	0.975 370 615 384 615	1.494 682 616	$1.531\ 29 \times 10^{-7}$	$3.160\ 63 \times 10^{-7}$	↓
甘油酸(Glyceric acid)	-	0.964 705 384 615 385	1.089 881 802	0.003 342 65	0.002 938 286	↓
D-木糖(D-Xylose)	-	0.958 920 308 000 000	1.632 747 236	$3.508\ 88 \times 10^{-9}$	$9.416\ 98 \times 10^{-9}$	↑
D-丝氨酸(D-Serine)	-	0.947 907 230 769 231	6.194 93E-19	8.765×10^{-18}	0.485 235 28	↓

表 2 差异代谢物代谢通路汇总表

差异代谢物代谢通路	模式	P 值	Impact
精氨酸和脯氨酸代谢(Arginine and proline metabolism)	+	0.035 186 00	0.137 32
嘧啶代谢(Pyrimidine metabolism)	-	0.000 051 59	0.212 73
甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢(Glycine, serine and threonine metabolism)	-	0.004 541 80	0.308 19
谷胱甘肽代谢(Glutathione metabolism)	-	0.010 778 00	0.250 28
牛磺酸和亚牛磺酸代谢(Taurine and hypotaurine metabolism)	+	0.175 350 00	0.330 94
咖啡因代谢(Caffeine metabolism)	+	0.183 290 00	0.184 29
氨酰 tRNA 合成酶(Aminoacyl-tRNA biosynthesis)	-	0.001 464 40	0.056 34
氮代谢(Nitrogen metabolism)	-	0.001 791 00	0.007 63
二羧酸代谢(Glyoxylate and dicarboxylate metabolism)	-	0.027 375 00	0.043 03
磷酸戊糖途径(Pentose phosphate pathway)	-	0.036 732 00	0.064 70
丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢(Alanine, aspartate and glutamate metabolism)	-	0.105 950 00	0.222 22
D-谷氨酰胺和 D-谷氨酸代谢(D-Glutamine and D-glutamate metabolism)	-	0.228 560 00	0.112 30
组氨酸代谢(Histidine metabolism)	-	0.273 030 00	0.140 39
苯丙氨酸代谢(Phenylalanine metabolism)	-	0.281 770 00	0.279 66
亚油酸代谢(Linoleic acid metabolism)	-	0.298 230 00	0.114 58



注:红色圆点代表一条代谢通路;黄色圆点代表一种物质相关调控酶信息;绿色圆点代表一个代谢通路的背景物质;紫色圆点代表一类物质分子模块信息;蓝色圆点代表一种物质化学互作反应;绿色方块代表此次对比得到的差异物质。

图5 调控网络分析图

3 讨论

冠心病是一种与炎症和氧化应激相关的复杂人类疾病,代谢组学有助于阐明冠心病发生和发展的潜在机制^[10]。ACS属“胸痹心痛”范畴,《金匱要略》描述“胸痹之病,喘息咳唾,胸背痛,短气,寸口脉沉而迟”,指出其病机为“阳微阴弦”,认为胸痹是由于胸阳不振,气虚血停瘀滞不通,阴邪下盛,导致气机不畅,不通则痛。所以胸痹病虚实夹杂,而气虚血瘀则是其重要的证型。自古以来,中医药一直是治疗胸痹心痛的有效且重要的手段,但是无法客观化、标准化一直是困扰中医药发展的难题。利用代谢组学检测提取相关的生物代谢标志物簇,有助于发现不同证型的差异代谢物及代谢通路、调控网络,进一步了解疾病发展过程中的物质代谢,帮助了解疾病及证型的本质,为中医药防治疾病提供理论依据。

本研究发现,ACS气虚血瘀患者与健康人的显著差异代谢物 32 种,蕨内酰胺、烟酰胺、次黄嘌呤、乙酰肼、7-甲基鸟嘌呤、苯丙氨酸、三丙酸甘油酯、L-缬氨酸、L-正亮氨酸、谷氨酸、乙醇酸、花生四烯酸、 α -D-葡萄糖、肌酐、黄嘌呤、十二酸、假尿嘧啶核苷、左

旋别苏氨酸、甘油酸、D 木糖及 D-丝氨酸等代谢物可作为鉴别二者的潜在生物标志物。动脉粥样硬化伴 IHD 涉及两个方面:第一是氧化应激,过量产生降低谷胱甘肽(GSH)水平的活性氧(ROS),第二就是炎症^[11]。蕨内酰胺是一种生物活性较强的谷胱甘肽酶,谷氨酸是谷胱甘肽的组成成分,两者是体内谷胱甘肽代谢的重要催化物及底物。谷胱甘肽是体内能维持足够的氧化还原细胞信号以控制生命过程所必需的氧化应激的生理水平,还能限制导致细胞和组织损伤的过度氧化应激,对生命至关重要^[11]。烟酰胺主要用作维生素 B₃ 的营养补充,而维生素 B₃ 可以被用于合成辅酶烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD)以助细胞能量代谢和防御,烟酰胺还可恢复细胞 NAD 池和线粒体能量,减轻氧化应激和炎症反应^[12]。次黄嘌呤(HX)是黄嘌呤的前体,是嘌呤代谢的重要原料,HX 在黄嘌呤氧化酶(XOD)催化下形成尿酸,而尿酸升高是冠心病的重要危险因素^[13]。甲基鸟嘌呤是一种抑制聚腺苷二磷酸核糖聚合酶 1 (PARP-1)的天然化合物,PARP-1 被公认为与 DNA 修复有关,所以甲基鸟嘌呤可能阻止遗传毒性 DNA 的复制^[14]。假尿嘧啶核苷目前常用于基因调控,在癌症

RNA编辑修饰中应用广泛,常用于阐述基因表达、功能和潜在的分子机制^[15]。苯丙氨酸、左旋缬氨酸、左旋正亮氨酸、左旋别苏氨酸、D-丝氨酸等主要被用来合成人体蛋白质,以达到机体蛋白质的不断更新和修复。花生四烯酸在细胞内主要通过环氧合酶(COX)途径、脂氧合酶(LOX)途径、细胞色素P450单氧化酶(CYP450)途径等进行代谢^[16],可以产生大量的活性物质,具有促炎和促血小板聚集作用,可能增加冠心病的风险^[17]。D-木糖与葡萄糖的化学性质相似,参与磷酸戊糖代谢途径(pentosephosphate pathway, PPP)。研究发现,脾胃气虚、脾失健运会导致代谢失调,出现消化动力不足、肠道吸收功能障碍,出现为血清D-木糖降低及尿D-木糖排出水平下降^[18-20]。D-丝氨酸参与大脑发育、神经元兴奋、突触可塑性以及学习和记忆的调节^[21],D-丝氨酸生成、氧化代谢途径与糖尿病、癫痫、阿尔茨海默病等的发生、发展有密切关系^[22]。

本研究共得出4条(精氨酸和脯氨酸代谢,嘧啶代谢,甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢,谷胱甘肽代谢)代谢通路可能是ACS气虚血瘀患者代谢物差异相关性最高的关键通路。MARTIN等^[23]发现,精氨酸-脯氨酸代谢可以被确定为监测动脉粥样硬化、ACS和恢复的新靶点,不管是基于动物模型还是人类的代谢研究中,在ACS中共同的代谢途径是精氨酸和脯氨酸代谢以及谷胱甘肽代谢。DURANTE^[24]发现,在动脉粥样硬化和动脉损伤中,精氨酸酶活性增加,鸟氨酸合成多胺,组织中多胺水平升高,激活的多胺抑制血小板聚集,与ACS事件密切相关。既往研究发现,在冠心病患者中心肌嘌呤和嘧啶核苷酸含量存在一定的紊乱,推测这些紊乱在肌肉功能障碍的发病机制中起一定作用^[25],但由于证据比较久远,还需进一步试验论证。甘氨酸和丝氨酸以及苏氨酸代谢常被用于抗生素及耐药性等相关试验,未见与冠心病相关报道,可能与ACS发生后炎症因子的清除有关。此外,ACS气虚血瘀患者代谢物差异相关性较高的通路为牛磺酸和亚牛磺酸代谢,咖啡因代谢,氨酰tRNA合成酶,氮代谢,二羧酸代谢,磷酸戊糖途径,丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢,D-谷氨酰胺和D-谷氨酸代谢,组氨酸代谢,苯丙氨酸代谢和亚油酸代谢,其中牛磺酸和亚牛磺酸代谢、氨酰tRNA合成酶、氮代谢、组氨酸代谢、苯丙氨酸代谢是体内的氨基酸代谢的重要途径;二羧酸代谢、亚油酸代谢与体内脂肪代谢有关;PPP是体内重要的糖代谢途径,除了提供能量,PPP向细胞提供核糖-5-磷酸(R5P)和NADPH,后者在消除细胞内的活性氧、还

原生物合成中起关键作用^[26]。

本研究证明ACS气虚血瘀患者血清代谢谱发生了特异性变化,除了氧化应激和炎症反应,能量代谢、脂肪代谢、氨基酸代谢均发生了紊乱,可以为ACS气虚血瘀证型提供一定的证据,但样本量少,未进行ACS患者的进一步分型,仍需进一步实验论证。

【参考文献】

- [1] 中国心血管健康与疾病报告编写组. 中国心血管健康与疾病报告2021概要[J]. 中国循环杂志,2022,37(6):553-578.
- [2] FOX K A, CARRUTHERS K F, DUNBAR D R, et al. Underestimated and under-recognized: the late consequences of acute coronary syndrome (GRACE UK-Belgian Study) [J]. Eur Heart J,2010,31(22):2755-2764.
- [3] 杜智,刘树业,刘运德. 临床代谢组学[M]. 天津:天津科技翻译出版有限公司,2013:4.
- [4] 贾伟,蒋健,刘平,等. 代谢组学在中医药复杂理论体系研究中的应用[J]. 中国中药杂志,2006,31(8):621-624.
- [5] 张宜帆,周曼丽,罗晓欣,等. 代谢组学在冠心病中医证候中的研究进展[J]. 中医药通报,2022,21(1):57-60.
- [6] 中华医学会,中华医学会杂志社,中华医学会全科医学分会,等. 非ST段抬高型急性冠状动脉综合征基层诊疗指南(2019年)[J]. 中华全科医师杂志,2021,20(1):6-13.
- [7] 中华医学会心血管病学分会,中华心血管病杂志编辑委员会. 急性ST段抬高型心肌梗死诊断和治疗指南(2019)[J]. 中华心血管病杂志,2019,24(10):766-783.
- [8] 郑筱蓂. 中药新药临床研究指导原则(试行)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2002:68.
- [9] 中华中医药学会. 中医体质分类与判定[M]. 北京:中国中医药出版社,2009:124-125.
- [10] JIANG H L, LI L, CHEN W J, et al. Application of metabolomics to identify potential biomarkers for the early diagnosis of coronary heart disease[J]. Frontiers in Physiology, 2021, 12(12):775135.
- [11] LABARRERE C A, KASSAB G S. Glutathione: a samsonian life - sustaining small molecule that protects against oxidative stress, ageing and damaging inflammation[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9(9):1007816.
- [12] BOO Y C. Mechanistic basis and clinical evidence for the applications of nicotinamide (niacinamide) to control skin aging and pigmentation[J]. Antioxidants, 2021, 10(8):1315-1315.
- [13] SERENA D T, LUCA B, FABRIZIO M, et al. Interaction of uric acid and neutrophil-to-lymphocyte ratio for cardiometabolic risk stratification and prognosis in coronary artery disease patients [J]. Antioxidants (Basel, Switzerland), 2022, 11(11):2163.
- [14] NILOV D, MALUCHENKO N, KURGINA T, et al. Molecular mechanisms of PARP-1 inhibitor 7-methylguanine [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(6):2159.
- [15] XUE C, CHU Q F, ZHENG Q X, et al. Role of main RNA modifications in cancer: N6-methyladenosine, 5-methylcytosine, and pseudouridine[J]. Signal Transduction and Targeted Therapy, 2022, 7(1):142.
- [16] 李沙,苏文,张晓燕,等. 花生四烯酸代谢与肝脏糖脂代谢稳态调

- 控[J]. 生理学报, 2021, 73(4): 657 – 664.
- [17] LIU X, SUN L C, WEN W X, et al. Association between the ratio of serum eicosapentaenoic acid to arachidonic acid and risk of coronary artery disease in Young Chinese patients[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022, (9): 1019058.
- [18] 余华, 黄迪君, 王再谟. 灸法对脾虚大鼠血清 D – 木糖含量及红细胞免疫功能的影响[J]. *上海针灸杂志*, 1999, 18(2): 36 – 37.
- [19] 郑俊, 段晨晨, 邢燕青, 等. 黄芪多糖通过肠道菌群对脾虚水湿不化大鼠胃肠功能的影响[J]. *时珍国医国药*, 2022, 33(5): 1029 – 1032.
- [20] 高洁, 韩冰冰, 韩旭, 等. 复合造模因素诱导脾虚水湿不化模型大鼠胃肠功能的改变[J]. *辽宁中医杂志*, 2014, 41(9): 1999 – 2000.
- [21] 张雨楠, 张洋铭, 卞芳, 等. D – 丝氨酸在中枢神经系统中的作用[J]. *神经解剖学杂志*, 2022, 38(4): 467 – 470.
- [22] 谭茹尹, 韦庆臣, 罗佐杰. D – 丝氨酸的氧化代谢途径与疾病关系的研究进展[J]. *广东医学*, 2018, 39(10): 1575 – 1577, 1582.
- [23] MARTIN M L, ZUBIRI I, AROA S M, et al. KLK1 and ZG16B proteins and arginine – proline metabolism identified as novel targets to monitor atherosclerosis, acute coronary syndrome and recovery[J]. *Metabolomics : Official journal of the Metabolomic Society*, 2015, 11(5): 1056 – 1067.
- [24] DURANTE W. Role of arginase in vessel wall remodeling [J]. *Frontiers in Immunology*, 2013, 4(4): 111.
- [25] SWAIN J L, SABINA R L, PEYTON R B, et al. Derangements in myocardial purine and pyrimidine nucleotide metabolism in patients with coronary artery disease and left ventricular hypertrophy [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1982, 79(2): 655 – 659.
- [26] 张梦雅, 孙艳娣, 骆严. 磷酸戊糖途径重编程与肿瘤生长策略[J]. *生命的化学*, 2017, 37(5): 726 – 732.
- (收稿日期: 2023 – 03 – 10)

LC – MS Serum Metabonomic Analysis in Patients with Acute Coronary Syndrome with Qi Deficiency and Blood Stasis

CHEN Ting¹, REN Guangsheng², LI Shanshan^{1✉}, XU Yan³

(1. *Shanghai Jiading District Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201899, China;*

2. *Shanghai Jiading District Central Hospital, Shanghai 201899, China;* 3. *Shuguang Hospital*

Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

【Abstract】 Objective: We aimed to investigate the metabolomic changes and find associated biomarkers in serum of the patients with qi deficiency and blood stasis in acute coronary syndrome. Methods: Serum specimens were collected for 40 patients with qi deficiency and blood stasis and with acute coronary syndrome and for 40 healthy adults were collected in this study. Metabolomics analysis of abnormal metabolites and metabolites was performed using liquid chromatography – mass spectrometry (LC – MS) non targeted method. Results: We found that 32 metabolites were significantly different between the two groups, and 4 key metabolic pathways had been identified. Metabolites, including pterinactam, nicotinamide, hypoxanthine, acetylhydrazine, 7 – methylguanine, phenylalanine, tripropionate, L – valine, L – norleucine, glutamic acid, glycolic acid, arachidonic acid, α – D – glucose, and creatinine, can serve as potential biomarkers for differential diagnosis of the two groups. The key pathways involved include arginine and proline metabolism, pyrimidine metabolism, glycine, serine and threonine metabolism, glutathione metabolism, etc. Conclusion: There is a significant difference in serum metabolic components between patients with acute coronary syndrome with qi deficiency and blood stasis and healthy individuals. Metabolomics related research has certain guiding significance in exploring its biological essence and the essence of traditional Chinese medicine "syndrome".

【Key words】 Acute coronary syndrome; Qi deficiency and blood stasis syndrome; Metabolomics; LC – MS technique