

· 综 述 ·

代谢组学在冠心病及中医证候中应用的研究进展

赵琳琳 邱新建 李若梦 王东生

冠心病(coronary heart disease, CHD)严重威胁人类健康。CHD 的发生、发展常伴随代谢障碍。代谢相关的危险因素,如高脂血症、糖尿病等在一定程度上能够预测 CHD 事件^[1,2]。精确且敏感的诊断方法对 CHD 的早期发现、早期治疗至关重要^[3]。代谢组学技术在 CHD 诊断中具有较大的应用潜力^[4],它是一门新兴的系统生物学学科,通过分析差异性代谢物可获得疾病潜在的生物标记物和受干扰的代谢通路及药物作用的代谢通路^[5]。中医学理论的“整体观”、“动态观”和“辨证观”恰好与代谢组学的“整体性”、“系统性”及“动态性”的特点相吻合,这使得代谢组学技术在中医学研究中具有得天独厚的优势。基于代谢组学的中医证候研究不仅能够提高中医辨证的稳定性,同时有助于探索辨证论治理论的科学内涵,促进中医药的现代化。笔者就近年来代谢组学及其在 CHD 和中医证候研究中的应用进展综述如下。

1 代谢组学概况

1.1 代谢组学概念 代谢组学(metabonomics)是 1999 年由 Nicholson JK 等^[6]在一项评价药物毒性的研究中提出,旨在为基因组、蛋白质和代谢物分析提供一个整体的框架,寻找药物临床前安全性评价的生物标志物。2000 年 Fiehn O 等^[7]将代谢组学定义为“对限定条件下的特定生物样品中所有代谢产物的定性定量分析”。

1.2 代谢组学的特点及用途 代谢组学是一门继基因组学、转录组学、蛋白质组学后新发展起来的交叉学科,融合了分析化学、化学计量学以及医学等领域的知识。代谢组学采用“自上而下”的研究方法,相对于基因和蛋白质,代谢物更多地反映了细胞所处的环境,与细胞的营养状态、药物以及其他环境因素有关。代谢组学关注的对象是分子量 1 000 以下的小分子化

合物。与其他组学相比具有以下特点:(1)基因和蛋白表达的细微变化可在代谢物上得到放大,代谢组学检测更容易;(2)代谢组学研究不需全基因组测序或建立大量表达序列标签的数据库;(3)代谢物的数量远小于基因和蛋白;(4)代谢物图谱在不同生物样本中是类似的,研究方法更通用^[8]。

代谢组学研究既可以发现生物体在受到各种内外环境扰动后的应答不同,也可以区分同种类不同个体之间的表型差异,有助于发现个体差异的产生机制。另外,代谢组学能够通过对药物代谢动力学及对因药产生的内源性代谢物变化的研究,阐明药物作用靶点或受体,指导药物个体化治疗,评价临床疗效和安全性。

1.3 代谢组学的研究方法 包括样品的采集与制备、数据采集、模式识别、数据分析及生物解释等。同时对生物体内不同来源的生物样品进行代谢组学研究,可以使代谢组学的结果更全面、更准确^[9]。

代谢组学研究平台主要由分析技术平台和分析平台构成。分析技术平台以灵敏和强大的分析仪器为支撑,其中色谱—质谱联用方法兼备色谱的高分离度、高通量及质谱的普适性、高选择性和检测限低等特点^[10]。NMR 特别是¹H-NMR 以其对含氢代谢产物的无偏向性、选择性好、样品处理简单且不造成破坏等优点而成为最主要的分析工具^[11]。在新发展的魔角旋转—核磁共振技术(MAS-NMR)中,仪器分辨率提高,可应用于生物样品的直接分析^[12]。现有的分析技术有各自的优点和适用范围^[13],最好采用联用技术和多种方法综合分析。

数据分析平台应用一系列的化学计量学方法,通过对生物样品进行判别分类进而发现生物标记物和代谢调控机制。数据分析的主要手段为模式识别技术,包括主成分分析(PCA)、层次聚类分析(HCA)、非线性映射(NLM)等非监督(unsupervised)分类方法,以及 Fisher 线性判别分析(fisher linear discriminate analysis, FLDA)、偏最小二乘法—判别分析(PLS-DA)、人工神经网络(artificial neural network, ANN)、支持向量机(support vector machine, SVM)、随机森林(random forest, RF)等监

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81173198, No. 81373554, No. 81202807, No. 81703963);国家科技部国际合作项目(No. 2010DFA32370)

作者单位:中南大学湘雅医院中西医结合科(长沙 410008)

通讯作者:王东生, Tel: 0731-89753532, E-mail: wdsh666@126.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20171213.373

督分类方法。

2 代谢组学在 CHD 诊断中的应用

冠脉造影是目前诊断 CHD 的金标准,但此方法有创,且不能识别稳定性和不稳定性心绞痛,后者是决定患者将来是否发生心肌梗死(MI)的主要因素。代谢组学的优势使其在 CHD 的预测和诊断研究中大放光彩。Brindle JT 等^[4]率先应用¹H-NMR 技术,通过 PLS-DA 和正交信号校正技术(OSC)处理后,实现了对 CHD 及其严重程度的判别。然而上述结论主要依赖于脂质差异性代谢物,而脂质代谢物的变化受到饮食、性别、生活方式和药物等影响,如未考虑此混杂变量可能会导致错误的结论。Kirschenlohr HL 等^[14]的一项研究中,控制用药(他汀类)因素,收集经冠脉造影确诊的男性 CHD 与健康者的血浆进行分析,未用药组的 CHD 患者与健康者区分的准确度为 80.3%,他汀用药组 CHD 患者与健康人区分的准确度为 61.3%,研究者认为基于 NMR 的代谢组学方法对 CHD 的诊断效力较低,仅高于危险因素联合的诊断效力。扩大样本量,并对危险因素分层能够降低已知临床混杂因素的影响^[14]。几项大样本研究显示代谢组学可作为 CHD 风险评估的有效工具^[15-18]。例如,一项大型的前瞻性流行病学研究中,利用液相色谱质谱联用技术(LC-MS)对超过 3 600 名受试者进行研究,发现 4 种 CHD 的潜在标记物,并与传统危险因素进行相关分析,发现这 4 种代谢物与 CHD 的发展具有因果关系^[17]。

靶标分析具有高敏感性和特异性,Shah SH 等^[19]利用色谱质谱联用技术对 69 种(涉及酰基肉碱、氨基酸、脂质、C-反应蛋白等)代谢物进行靶标分析。PCA 显示 CHD 的发病与支链氨基酸通路及尿素循环通路中的代谢物相关,多元回归分析显示,除上述代谢通路外,乙二酸乙酰肉碱能够预测死亡及 MI 事件的发生。

另外,研究者从试验设计、临床模型、数据分析方法等方面进行改进。Sabatine MS 等^[5]将 36 例进行运动负荷试验的 CHD 患者分为运动诱发可逆性心肌缺血组和无心肌缺血组,运用 LC-MS 技术研究急性心肌缺血患者代谢产物的变化。实验发现在诱导心肌缺血组有 23 种代谢物发生变化,其中,草酰乙酸和瓜氨酸与运动负荷试验中发生的心肌灌注缺损程度呈中等强度相关。然而有学者提出,运动诱发心肌缺血模型存在两个弊端,首先,约有 50% 的受试者不能耐受运动测试或者运动测试无效,另外,在运动测试中,骨骼肌产生的代谢反应可能会干扰心肌缺血所致的外周

血浆代谢物的变化^[20]。Barba I 等^[21]采用 NMR 技术分析 31 例不稳定心绞痛且既往无 MI 病史患者的血清,发现乳酸、葡萄糖、脂类和长链氨基酸水平发生显著性改变,研究者认为此方法可预测不稳定心绞痛患者诱导性心肌缺血的发生,有助于筛查 CHD 患者,并对危险因素进行分级。Bernini P 等^[22]通过 NMR 技术及多元统计方法(回归和分类)研究 CHD 传统的危险因素(如年龄、性别、高血压、高脂血症、吸烟、肥胖、糖尿病等)的生物学基础。发现代谢组方法能够区分临床指标(如总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白、高密度脂蛋白等)定义的高/低风险患者。另外 3-羟基丁酸、 α -酮戊二酸等这些以往不被认为与 CHD 相关的代谢物也发生了显著性改变。Lewis GD 等^[23]测定 36 例临床 MI 模型患者,发现在嘧啶代谢物、三羧酸循环及上游通路和磷酸戊糖代谢通路上,相对于传统心肌细胞损伤指标肌酸激酶同工酶(CK-MB),代谢组学技术在心肌细胞损伤 10 min 时就可检测到差异性代谢物,且能够追踪代谢物随时间发生的变化。

Xia JD 等^[24]利用气相色谱质谱联用技术(GC-MS),采用蒙特卡洛树分析法(MCTree)对不同严重程度 CHD 患者进行了判别分析,3 类患者分类趋势比较明显。Malik A 等^[25]在一项双盲研究中,利用 NMR 技术发现 CHD 组与对照组比较,脂质和氨基酸含量增加。另一项双盲研究中,层次聚类分析(HCA)和 PCA 显示 CHD 清晰的分类趋势^[26]。基于 NMR 的代谢组学技术和临床参数结合,如年龄、性别、腹围、收缩压、舒张压、C 反应蛋白/乳酸脱氢酶(CRP/LDH)等能够准确预测 CHD。

3 代谢组学在 CHD 中医证候研究中的应用

CHD 属于中医学“胸痹”范畴,病机本虚标实,本虚为气血阴阳亏虚,标实为痰凝、血瘀。辨证论治是中医学理论的基本特点之一,由于证候是一个非线性的“内实外虚”、“动态时空”和“多维界面”^[27],具有复杂多变性,使中医证候本质的研究较难进行。代谢组学的特点与研究方法与中医学理论不谋而合,为中医证本质研究提供新的见解。CHD 中医证候研究是近年来国内代谢组学研究最为活跃的领域之一,通过代谢组学分析,CHD 中医证候的内在实质和演变规律得到科学阐释。

王伟课题组利用 NMR 技术检测 CHD 患者及健康者的血浆和尿液代谢物,CHD 患者的异常代谢过程包括了氨基酸、糖、脂质及能量代谢等^[28,29],获得 CHD 血瘀证两种潜在标记物:缬氨酸和丙酮,CHD 血

瘀证的异常代谢过程主要包括了氨基酸代谢、脂质代谢^[30];CHD 不稳定心绞痛血瘀证患者在糖类、脂质物质以及氨基酸代谢方面存在异常,尿液样品中柠檬酸、脯氨酸、异亮氨酸、牛磺酸等代谢物的改变构成了 CHD 不稳定性心绞痛血瘀证患者的代谢组学特征^[31]。另外,课题组还利用 GC-MS 技术对 27 例 CHD 血瘀证患者和 15 名健康者进行代谢组学分析并与 MI 猪模型比较,有 20 个代谢物对分类有贡献,其中 1,4-苯二甲酸、1,5-脱水葡萄糖醇、壬二酸、庚二酸、戊二酸、核糖醇、丝氨酸等 8 种代谢物是人与模型猪共有的,在代谢组学对 CHD 血瘀证发病机制研究中建立了临床病例与动物模型之间的桥梁^[32]。

王东生课题组采用 GC-MS 技术,收集 CHD 血瘀证患者 48 例,非血瘀证患者 52 例及健康对照组 40 名,发现血浆内源性代谢物种类 46 种。MCTree 结果显示,健康对照组与 CHD 患者血浆代谢物完全分离,对二者分离贡献最大是 L-缬氨酸、甘氨酸、丙氨酸、L-丝氨酸;血瘀证与非血瘀证之间有明显分离趋势,44 种物质对分类有影响。这些物质包括脂肪酸类、酯类、氨基酸类、糖类、醇类、醇酸类、有机酸类等^[33]。另外,利用 GC-MS 测定 CHD 痰浊证和气虚证患者的血浆内源性代谢物,MCTree 分析结果显示两种证型可被分开,对分类贡献大的化合物有丝氨酸、缬氨酸、2-羟基丙酸等^[34]。课题组采用 LC-Q-TOF/MS 技术对 CHD 血瘀证和痰浊证患者进行研究,结果显示 26 种差异性代谢物 ($VIP > 1.5, P < 0.05$) 对 CHD 及健康人分类有贡献,涉及炎症、氨基酸代谢和能量代谢等通路。19 种差异性代谢物对 CHD 血瘀证和痰浊证分类贡献大^[35]。

贾钰华课题组对 12 例 CHD 心绞痛痰浊证患者和 12 例 CHD 心绞痛血瘀证患者的尿液样本进行 NMR 检测^[36]。结果显示,CHD 心绞痛痰浊证组尿液中柠檬酸、 α -酮戊二酸、顺式-乌头酸、葡萄糖、3-羟基丁酸、丙酮、酪氨酸、肌酐、氧化三甲胺、二甲胺、马尿酸的含量高于血瘀证组,而胆汁酸、组氨酸的含量低于血瘀证组。对 CHD 血瘀证和痰浊证血浆样本进行 NMR 检测^[37],结果显示,两种证型病机涉及能量代谢、脂质代谢、氨基酸代谢障碍,血瘀证组高密度脂蛋白、不饱和脂肪酸、丙氨酸、瓜氨酸、精氨酸等高于痰浊证组等。另外,课题组对 CHD 心绞痛 3 种血瘀证的血浆样本进行 NMR 检测。与另外两组血瘀证比较,气虚血瘀证组血浆柠檬酸、3-羟基丁酸、丙酮、氧化三甲胺含量较高,葡萄糖、N-乙酰糖蛋白、酪氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、亮氨酸含量较低^[38]。

王广基等^[39]应用 GC-TOF/MS 技术对痰阻心脉和气阴两虚型 CHD 患者血浆中小分子化合物进行检测,结果显示 CHD 发病与能量代谢、脂代谢、氨基酸代谢和核苷酸代谢异常等相关。痰阻心脉组色氨酸和天(门)冬酰胺显著高于气阴两虚组,而琥珀酸、硬脂酸、3-羟基丁酸显著低于气阴两虚组。另外课题组选取气虚血瘀、痰阻心脉、气阴两虚、气滞血瘀 4 种证型 CHD 患者共 90 例,利用 GC-TOF/MS 技术对受试者血清进行测定分析,结果表明男性患者中气虚血瘀型和痰阻心脉型可明显区分,女性患者中气虚血瘀型、痰阻心脉型和气阴两虚型 CHD 患者间可明显区分^[40]。

袁肇凯课题组^[41]采用 GC-MS 技术检测 CHD 血瘀证组和非血瘀证组及健康对照组血浆代谢产物,差异性分析显示花生四烯酸、硬脂酸、乳酸、尿素、 β -羟基丁酸、油酸在 CHD 中均有不同程度提高,以 CHD 血瘀证中增高最为明显($P < 0.01$)。研究者认为花生四烯酸、硬脂酸、乳酸、尿素、柠檬酸、 β -羟基丁酸、油酸、葡萄糖、丙氨酸为 CHD 血瘀证的血浆代谢产物谱。CHD 血瘀证与脂质代谢、糖代谢相关,同时也与缺氧、剧痛引起的应激相关。尿液代谢组学显示葡萄糖、甘油、油酸酰胺、丙酮在 CHD 中均有不同程度升高,以血瘀证中增高最为明显,核糖醇、马尿酸在 CHD 组中降低,而以血瘀证组降低最为明显。研究者认为葡萄糖、甘油、木糖醇、马尿酸、油酸酰胺、丙酮是 CHD 血瘀证尿液的代谢产物谱,CHD 血瘀证代谢途径涉及脂质代谢紊乱以及应激因素,同时与肝、肾也有一定相关性^[42]。

朱明丹等^[43]应用 LC/TOF-MS 技术对痰阻心脉证、气阴两虚证、气滞血瘀证 CHD 患者进行检测,结果显示,CHD 组磷脂代谢、脂肪酸代谢、氨基酸代谢出现障碍。葡萄糖、花生四烯酸、亚油酸在气滞血瘀证组中显著增高,气阴两虚证组苯丙氨酸、甘氨酸、高丝氨酸、葡萄糖、磷酸肌酸含量较低,痰阻心脉证组的葡萄糖含量比气滞血瘀证组高。魏岩等^[44]利用 NMR 技术对 CHD 心绞痛先天伏寒兼心血瘀阻证和非先天伏寒兼心血瘀阻证患者的血清样本进行检测。PLS-DA 结果显示,两组存在明显差异的代谢产物有丙氨酸、低密度脂蛋白、极低密度脂蛋白、脂类化合物、谷氨酸、谷氨酰胺、 α -葡萄糖、高密度脂蛋白,涉及能量代谢、糖代谢、脂代谢、氨基酸代谢方面的异常。Zheng XT 等^[45]利用 GC-MS 技术对 25 名健康被试者及 23 例 CHD 患者的血浆脂肪酸代谢谱进行分析,PCA 分析显示,脂肪酸的变化影响 CHD 的发展,n-3 (C22:6, C20:5) 和 n-6 (C20:4) 多不饱和脂肪酸 (PUFA) 对

CHD 血瘀证和气虚证的分类有贡献。陈夏等^[46]使用 KEGG 和 HMDB 代谢组学数据库对 CHD 血瘀证进行代谢通路分析,代谢产物路径可视化采用 MetPA 网络软件构建。结果显示,代谢通路中 6 个差异性代谢产物共参与了 10 条代谢路径,其中半乳糖代谢、酮体的合成和降解通路参与 CHD 血瘀证的病理过程。

代谢组学由于方法学上的独特优势,在 CHD 研究中已取得较多成果,可作为 CHD 诊治手段的有益补充。通过与中医学理论结合,为 CHD 中医微观辨证提供客观依据。然而,目前代谢组学技术上还存在一些不足,例如在代谢物提取方面缺少系统化的方法,尚不能对生物体所有的代谢物进行检测和分析,只能提取浓度较高的代谢物,导致检测特异性降低;代谢物往往受诸如年龄、性别、生活方式、合并症、药物、饮食等因素影响,大多研究未排除上述混杂因素对代谢物的影响,需要有效的统计学方法和生物信息学方法。这些不足在 CHD 的代谢组学研究中同样存在。CHD 中医证候研究尚处于起步阶段,多数研究停留在证候与几个代谢物的相关性层面上,未建立代谢物与基因、蛋白之间相互作用的网络模型,不能体现系统生物学整合性的研究思想,离 CHD 中医证型诊断模型的建立尚有一段距离。此外,CHD 中医证候的代谢组学研究多采用横向研究方法,缺乏随时间变化的动态研究。最后,研究样本量少,缺少验证研究等问题值得关注。不可否认的是,代谢组学的特点及其研究思路、方法为中医证候本质的研究带来了新的机遇,尤其在 CHD 辨证论治、中药药效等方面研究中发挥着重要作用。建立多层次的组学技术平台,发展更为广谱的、即时、通用的检测方法,进行多组学数据的融合、关联分析等,对揭示中医证候本质具有十分重要的意义。

参 考 文 献

- [1] Ansar S, Koska J, Reaven PD. Postprandial hyperlipidemia, endothelial dysfunction and cardiovascular risk: focus on incretins [J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2011, 10 (1): 61.
- [2] Lacoste L, Lam JY, Hung J, et al. Hyperlipidemia and coronary disease. Correction of the increased thrombogenic potential with cholesterol reduction [J]. *Circulation*, 1995, 92 (11): 3172 - 3177.
- [3] Bassand JP, Hamm CW, Ardissino D, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of non-ST-segment elevation acute coronary syndromes [J]. *Eur Heart J*, 2007, 28: 1598 - 660.
- [4] Brindle JT, Antti H, Holmes E, et al. Rapid and non-invasive diagnosis of the presence and severity of coronary heart disease using ¹H-NMR-based metabolomics [J]. *Nat Med*, 2002, 8 (12): 1439 - 1444.
- [5] Sabatine MS, Liu E, Morrow DA, et al. Metabolomic identification of novel biomarkers of myocardial ischemia [J]. *Circulation*, 2005, 112 (25): 3868 - 3875.
- [6] 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.
- [7] Fiehn O, Kopka J, Dörmann P, et al. Metabolite profiling for plant functional genomics [J]. *Nat Biotechnol*, 2000, 18 (11): 1157 - 1161.
- [8] Taylor J, King RD, Altmann T, et al. Application of metabolomics to plant genotype discrimination using statistics and machine learning [J]. *Bioinformatics*, 2002, 18 (suppl 2): 241 - 248.
- [9] Waters NJ, Holmes E, Williams A, et al. NMR and pattern recognition studies on the time-related metabolic effects of alpha-naphthylisothiocyanate on liver, urine, and plasma in the rat: an integrative metabolomic approach [J]. *Chem Res Toxicol*, 2001, 14 (10): 1401 - 1412.
- [10] Dettmer K, Aronov PA, Hammock BD. Mass spectrometry-based metabolomics [J]. *Mass Spectrom Rev*, 2007, 26 (1): 51 - 78.
- [11] Lindon JC, Nicholson JK, Holmes E, et al. Metabonomics: Metabolic processes studied by NMR spectroscopy of biofluids [J]. *Concept Magnetic Res*, 2000, 12 (5): 289 - 320.
- [12] Yulan W, Bollard ME, Hector K, et al. Spectral editing and pattern recognition methods applied to high-resolution magic-angle spinning ¹H nuclear magnetic resonance spectroscopy of liver tissues [J]. *Anal Biochem*, 2003, 323 (1): 26 - 32.
- [13] Katherine H, Brison DR, Royston G. Metabolomics: current technologies and future trends [J]. *Proteomics*, 2006, 6 (17): 4716 - 4723.
- [14] Kirschenlohr HL, Griffin JL, Clarke SC, et al. Proton NMR analysis of plasma is a weak predictor of coronary artery disease [J]. *Nat Med*, 2006, 12 (6): 705 - 710.
- [15] Wang Z, Klipfell E, Bennett BJ, et al. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease [J]. *Nature*, 2011, 472 (7341): 57 - 63.
- [16] Würtz P, Soininen P, Kangas AJ, et al. Characterization of systemic metabolic phenotypes associated with subclinical atherosclerosis [J]. *Mol Biosyst*, 2011, 7 (2): 385 - 393.
- [17] Andrea G, Samira S, Johan S, et al. Large-scale metabolomic profiling identifies novel biomarkers for incident coronary heart disease [J]. *PLoS Genet*, 2014, 10 (12): e1004801.

- [18] Vaarhorst AA, Verhoeven A, Weller CM, et al. A metabolomics profile is associated with the risk of incident coronary heart disease: A metabolomics profile and CHD risk[J]. *Am Heart J*, 2014, 168 (1): 45–52.
- [19] Shah SH, Bain JR, Muehlbauer MJ, et al. Association of a peripheral blood metabolic profile with coronary artery disease and risk of subsequent cardiovascular events[J]. *Circ Cardiovasc Genet*, 2010, 3 (2): 207–214.
- [20] Bodi V, Marrachelli VG, Husser O, et al. Metabolomics in the diagnosis of acute myocardial ischemia[J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2013, 6 (5): 808–815.
- [21] Ignasi B, Gustavo DL, Eva M, et al. Nuclear magnetic resonance-based metabolomics predicts exercise-induced ischemia in patients with suspected coronary artery disease[J]. *Magn Reson Med*, 2008, 60 (1): 27–32.
- [22] Bernini P, Bertini I, Luchinat C, et al. The cardiovascular risk of healthy individuals studied by NMR metabolomics of plasma samples[J]. *J Proteome Res*, 2011, 10 (11): 4983–4992.
- [23] Lewis GD, Wei R, Liu E, et al. Metabolite profiling of blood from individuals undergoing planned myocardial infarction reveals early markers of myocardial injury[J]. *J Clin Invest*, 2008, 118 (10): 3503–3512.
- [24] Xia JD, Yi LZ, Liu N, et al. Human plasma metabolic profiles of coronary heart disease by gas chromatography-mass spectrometry with monte carlo tree approach[J]. *Anal Lett*, 2012, 45 (15): 2185–2197.
- [25] Malik A, Sharma U, Lakshmy R, et al. Biochemical characterization of blood plasma of coronary artery disease patients by *in vitro* high-resolution proton NMR spectroscopy[J]. *J Bioscience*, 2015, 40 (1): 1–9.
- [26] Shahbazy M, Zahraei A, Vafaeimanesh J, et al. Rapid and non-invasive diagnosis of coronary artery disease via clinical laboratory parameters and ¹H-NMR spectra of human blood plasma[J]. *Rsc Adv*, 2015, 5: 104054–104061.
- [27] 郭蕾, 王永炎, 张志斌, 等. 关于证候概念的诠释[J]. *北京中医药大学学报*, 2003, 26 (2): 5–8.
- [28] 史琦, 王伟, 李友林, 等. 基于代谢组学的冠心病患者气虚证识别模式[J]. *中华中医药杂志*, 2015, 30 (2): 372–375.
- [29] Shi Q, Zhao H, Chen J, et al. Study on qi deficiency syndrome identification modes of coronary heart disease based on metabolomic biomarkers[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2014: 281829.
- [30] 史琦, 王伟, 李友林, 等. 基于代谢组学的冠心病患者血瘀证识别模式研究[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2014, (5): 513–516.
- [31] 王娟, 李中峰, 赵慧辉, 等. 冠心病不稳定心绞痛血瘀证患者尿液代谢组学特征的研究[J]. *北京中医药大学学报*, 2012, 35 (4): 284–288.
- [32] Zhao H, Chen J, Shi Q, et al. Metabolomics-based study of clinical and animal plasma samples in coronary heart disease with blood stasis syndrome[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012: 638723.
- [33] 魏星, 万玲, 刘石蜜, 等. 冠心病血瘀证血浆代谢组学研究[J]. *中医杂志*, 2013, 54 (7): 587–591.
- [34] 程鹏, 陈泽奇, 王东生. 冠心病痰浊证与气虚证的代谢组学研究[J]. *中国中西医结合杂志*, 2015, 35 (2): 193–197.
- [35] Zhao L, Wan L, Qiu X, et al. A metabonomics profiling study on phlegm syndrome and blood-stasis syndrome in coronary heart disease patients using liquid chromatography/quadrupole time-of-flight Mass spectrometry[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2014: 385102.
- [36] 张红栓, 贾钰华, 华何与, 等. 冠心病心绞痛痰浊证、血瘀证的尿液代谢组学研究[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2010, 16 (2): 126–128.
- [37] 张红栓, 贾钰华, 华何与, 等. 冠心病心绞痛痰浊证、血瘀证的血浆代谢组学研究[J]. *新中医*, 2010, 40 (6): 12–14.
- [38] 华何与, 贾钰华, 张红栓, 等. 冠心病心绞痛三种血瘀证的血浆代谢组学研究[J]. *热带医学杂志*, 2010, 10 (3): 258–260.
- [39] 王广基, 阿基业, 严蓓, 等. 代谢组学研究冠心病中医分型的体内物质基础[J]. *世界科学技术——中医药现代化*, 2009, 11 (1): 127–133.
- [40] 朱萱萱, 王广基, 阿基业, 等. 冠心病中医辨证分型的代谢组学研究[J]. *中华中医药学刊*, 2009, 27 (6): 1267–1269.
- [41] 简维雄, 袁肇凯, 黄献平, 等. 冠心病心血瘀阻证血浆代谢组学的检测分析[J]. *中国中西医结合杂志*, 2010, 30 (6): 579–584.
- [42] 简维雄, 袁肇凯, 黄献平, 等. 冠心病心血瘀阻证尿液代谢组学的检测分析[J]. *中医杂志*, 2010, 51 (8): 729–732.
- [43] 朱明丹, 杜武勋, 魏聪聪, 等. 不同证型冠心病患者的血浆代谢组学研究[J]. *中医杂志*, 2013, 54 (17): 1489–1493.
- [44] 魏岩, 郭家娟, 崔英子, 等. 基于核磁共振的冠心病心绞痛先天伏寒证的代谢组学研究[J]. *中华中医药杂志*, 2013, 28 (12): 3556–3558.
- [45] Zheng XT, Shen J, Liu Q, et al. Plasma fatty acids metabolic profiling analysis of coronary heart disease based on GC-MS and pattern recognition[J]. *J Pharmaceut Biomed*, 2009, 49 (2): 481–486.
- [46] 陈夏, 郑景辉, 梁健, 等. 冠心病心血瘀阻证患者尿液代谢组学的通路分析[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2015, 18 (1): 69–71.

(收稿: 2016-02-10 在线: 2018-01-30)

责任编辑: 白霞