· 临床论著 ·

冠心病不同证候患者血清代谢组学研究

翟 优[1△] 李曼曼[2] 段 飞[2] 孙 志[3] 唐进法[2] 李伟霞[2] 胡镜清[4]

摘要 目的 运用非靶向代谢组学技术分析冠心病痰湿证、血瘀证和痰瘀互结证 3 种证候的潜在生物标志物，从分子生物学角度为冠心病的中医辨证分型提供依据。**方法** 收集 120 例冠心病稳定期患者（痰湿证 38 例，血瘀证 18 例，痰瘀互结证 64 例）及 51 名健康人的血液样品，采用超高效液相色谱 - 四极杆 - 静电场轨道阱质谱（UHPLC-Q-Orbitrap HRMS）技术对样品进行检测，利用 Progenesis QI 和 Simca-P 软件对数据进行多元统计分析及内源性生物标志物的筛查，通过 MetaboAnalyst 数据库分析代谢通路。**结果** 共得到 10 个潜在的生物标志物，其中 N- 乙酰鸟氨酸和月桂酸是冠心病血瘀证潜在的生物标志物，1，1- 二氯乙烯环氧化物是冠心病痰瘀互结证潜在的生物标志物，其余 6 个为冠心病共性差异代谢物，涉及视黄醇代谢、精氨酸和脯氨酸代谢等 9 条代谢通路。**结论** 冠心病痰湿证、血瘀证和痰瘀互结证 3 种证候之间有共性代谢物及差异性代谢物，对于冠心病中医证候辨证具有重要的参考价值。

关键词 冠心病；痰瘀互结证；代谢组学；辨证分型；中医

Study on Serum Metabolomics in Patients with Different Syndromes of Coronary Heart Disease

ZHAI You[1], LI Man-man[2], DUAN Fei[2], SUN Zhi[3], TANG Jin-fa[2], LI Wei-xia[2], and HU Jing-qing[4] *1 Prescription Teaching and Research Section, School of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou (450000); 2 Department of Pi, Wei, Gan, Dan Diseases, Department of Pharmacy of The First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou (450052); 3 The Department of Pharmacy of The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou (450052); 4 Institute of Basic Theory of Traditional Chinese Medicine, China Academy of Chinese Medicine Sciences, Beijing (100700)*

ABSTRACT Objective In this study, non-targeted metabolomics was used to analyze the potential biomarkers of 3 syndromes of coronary heart disease (CHD): phlegm-dampness syndrome, blood stasis syndrome, phlegm and blood stasis syndrome, and provide theoretical basis for Chinese medicine syndrome differentiation of CHD from the perspective of molecular biology. **Methods** The blood samples of 120 patients with stable CHD (38 cases of phlegm-dampness syndrome, 18 cases of blood stasis syndrome, 64 cases of phlegm and blood stasis syndrome) and 51 healthy participants were collected. Ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole-orbitrap high resolution mass spectrometry technology was used to detect each group of samples, Progenesis QI and Simca-P software were used for multivariate statistical analysis, and metabolic pathways were analyzed through the MetaboAnalyst database. **Results** A total of 10 potential biomarkers were identified, among which N-Acetylornithine and Dodecanoic acid were potential markers of blood stasis syndrome, 1, 1-Dichloroethylene epoxide was potential biomarkers of phlegm and blood stasis syndrome, and the other 6 were common differential metabolites of CHD, involving 9 metabolic pathways such as retinol metabolism, arginine and proline metabolism. **Conclusion** There are common and different metabolites among the 3 syndromes of phlegm-dampness syndrome, blood stasis syndrome, phlegm and

基金项目：国家重点基础研究发展计划（973 计划）（No.2014CB542903）；国家重点研发计划项目（No.2019YFC1708501）；中国博士后科学基金特别资助项目（No.2020T130032ZX）；河南省重点研发与推广专项（No.192102310167）

作者单位：1. 河南中医药大学中医学院方剂教研室（郑州 450000）；2. 河南中医药大学第一附属医院脾胃肝胆病科，药学部（郑州 450000）；3. 郑州大学第一附属医院药学部（郑州 450052）；4. 中国中医科学院中医基础理论研究所（北京 100700）

通讯作者：段 飞，Tel：0371-66233182，E-mail：kybduanfei@126.com

△现在河南中医药大学中医学院（仲景学院）（郑州 450000）

DOI：10. 7661/j. cjim. 20230201.093

中国中西医结合杂志

blood stasis syndrome, which are of important reference value for the study of CHD Chinese medicine syndrome .

KEYWORDS　coronary heart disease；phlegm and blood stasis syndrome；metabolomics；syndrome differentiation；Chinese medicine

冠状动脉粥样硬化性心脏病（简称冠心病）是常见病，近年来我国冠心病患病率不断攀升，严重威胁居民健康[1]。冠心病属“胸痹”“心悸”“心痛”等范畴，为本虚标实之证，临床实证居多。毛静远等[2]对 1970—2010 年间冠心病辨证分型的相关文献进行研究，发现血瘀、痰湿要素所占比例呈不断升高的趋势。梅琼等[3]对 976 例冠心病中医复杂证候分布规律进行研究，发现血瘀证、痰湿证、痰瘀互结证是冠心病的主要证候。代谢组学立足于生命活动“系统性、整体性”的研究思路，研究人体代谢网络的变化规律，与中医药“整体观念”不谋而合，在中医药的现代化进程中，代谢组学技术在疾病的中医辨证分型及物质基础研究中有广泛应用前景[4-6]。本研究采用超高效液相色谱 - 四极杆 - 静电场轨道阱高分辨质谱法（ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole-orbitrap highresolution mass spectrometry，UHPLC-Q-Orbitrap HRMS）技术结合代谢组学策略分析冠心病血瘀证、痰湿证、痰瘀互结证 3 种证候的生物标志物情况，探究其生物学基础。

资料与方法

1　诊断标准　西医诊断标准参考《慢性稳定性心绞痛诊断与治疗指南》[7]、《稳定性冠心病诊断与治疗指南》[8]制定。冠心病痰湿证和痰瘀互结证参照课题组前期研究发布的诊断标准[9, 10]制定，冠心病血瘀证参照冠心病血瘀证诊断标准[11]制定。

2　纳入和排除标准　冠心病患者纳入标准：（1）符合冠心病西医及中医征候诊断标准；（2）年龄 35~85 岁；（3）自愿参加本项研究并签署知情同意书者。健康对照组纳入标准：经详细询问病史、体格检查及心电图、实验室血液生化等检查，评定无主要器官系统的实质性病变，不存在冠心病、高血压病、糖尿病、高脂血症、肥胖和超重者。

排除标准：（1）妊娠及哺乳期妇女；（2）神志不清、各种精神病患者等无法正常进行沟通者；（3）合并严重心功能Ⅳ级、血流动力学不稳定者；（4）合并活动性肺结核、气胸、胸腔积液、恶性肿瘤等影响呼吸运动功能的神经肌肉疾病；（5）需进行有创机械通气的呼吸衰竭者；（6）合并严重肝肾疾病；（7）各种原因长期卧床者；（8）患有其他威胁生命的严重疾病，预期生存时间 <6 个月者。

3　一般资料　收集 2017 年 1 月—2018 年 6 月就诊于河南中医药大学第一附属医院及河南中医药大学第一附属医院豫东医院的冠心病患者 120 例，其中痰湿证组 38 例，血瘀证组 18 例，痰瘀互结证组 64 例。同时收集 2017 年 1 月至 9 月在河南中医药大学第一附属医院体检中心体检的健康人 51 名，受试者的基本情况见表 1。本研究经河南中医药大学第一附属医院伦理委员会审批（No. 2016HL-088、2019HL-152）。

4　观察指标及检测方法

4.1　血清制备　取受试者空腹时静脉血 4~5 mL，离心 15 min，转速 3 000 r/min，离心后取上清液保存于 -80 ℃冰箱备用。分析时取出冻存的样品，在 4 ℃条件下解冻后，取 200 μL 置于 1.5 mL EP 管中，加入 3 倍量甲醇（色谱纯，批号：191019，Thermo Fisher 公司），涡旋振荡 30 s 后置于离心机于 4℃ 15 000 r/min 离心 10 min，取上清，备用。

4.2　色谱分析　采用 ACQUITY UPLC BEH C18 column（100 mm × 2.1 mm，1.7 μm，Waters，USA）进行色谱分离。流动相 A 为水和 0.1% 甲酸，流动相 B 为乙腈，梯度洗脱：0 ~ 1.0 min，5% B；1.0 ~ 9.0 min，5% ~ 100% B；9.0 ~ 12.0 min，100% B。柱温 40 ℃，流速 0.3 mL/min，进样量 5 μL。

4.3　质谱分析　采用可加热的电喷雾离子源，离子源温度 300 ℃，辅助气流速 10 μL/min，离子传输

表 1　健康人及冠心病不同证型患者基本情况表

组别	例数	年龄（岁，$\bar{x} \pm s$）	男［例（%）］	女［例（%）］	高血压病［例（%）］	糖尿病［例（%）］	高脂血症［例（%）］	肥胖［例（%）］
健康对照	51	55.82 ± 9.18	33（64.71）	18（35.29）	0	0	0	0
血瘀证	18	67.67 ± 11.22	12（66.67）	6（33.33）	6（33.33）	3（16.67）	7（38.89）	7（38.89）
痰湿证	38	65.50 ± 7.84	24（63.16）	14（36.84）	21（55.26）	14（36.84）	20（52.63）	22（57.89）
痰瘀互结证	64	66.84 ± 8.32	43（67.19）	21（32.81）	49（76.56）	19（29.69）	23（35.93）	40（62.50）

注：超重或肥胖指体重指数≥25.0 kg/m^2

中国中西医结合杂志

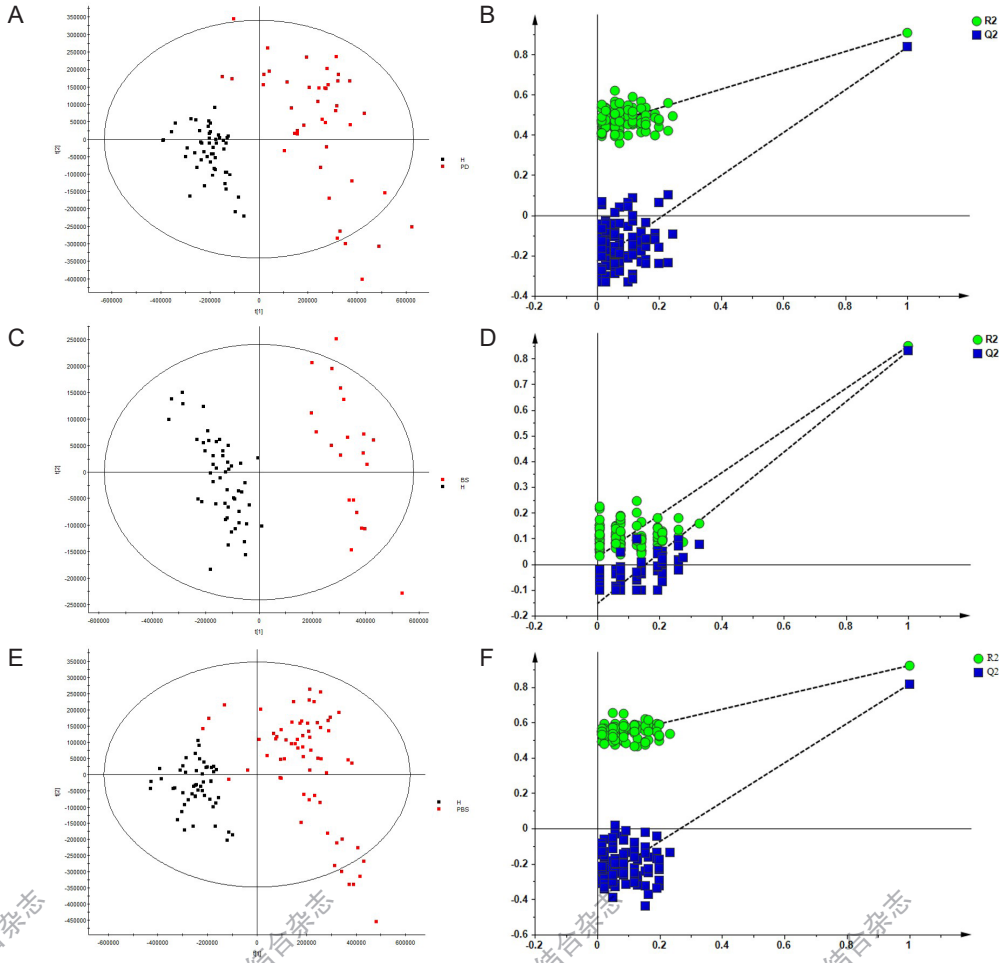
管温度 320 ℃；正离子模式：鞘气流速 40 μL/min，喷雾电压 3.50 kV；负离子模式：鞘气流速 38 μL/min，喷雾电压 2.80 kV。质谱分析扫描模式：Full scan/dd-MS2，扫描范围 80.00~1 200.00m/z，二级质谱分辨率为 17 500，碰撞能梯度为 20、40、60 eV。

4.4 数据处理与分析 采用 Progenesis QI 对采集的数据进行峰对齐、去卷积等初步处理，然后将得到的数据集导入 SIMCA-P v13.0 软件进行包括监督型模式识别分析（partial least-squares discriminant analysis，PLS-DA）和正交偏最小二乘判别分析（orthogonal partial least square-discriminate analysis，OPLS-DA）在内的多元统计分析，以变量重要性投影 值（variable importance for projection，VIP）>1，P<0.05 和变化倍数（fold change，FC）≥2 为条件对化合物进行筛选。通过在 HMDB 数据库（The Human Metabolome Database）进行检索，得到差异代谢物的名称、结构式等详细信息。采用 MetaboAnalyst（https：//www.metaboanalyst.ca/）分析筛差异代谢物的代谢通路[12]。

5 统计学方法 使用 SPSS 22. 0 软件进行统计学处理，组间比较采用 t 检验，P<0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组血清 PLS-DA 分析比较（图 1） 采用 Simca-P v13.0 软件对各组样品的血清质谱信息采用 PLS-DA 进行多元统计分析，结果如图 1 所示。从 PLS-DA 图中可以看出，痰湿证组（图 1A）、血瘀证组（图 1C）和痰瘀互结证组（图 1E）样本与健康组得到良好的区分。痰湿证组、血瘀证组、痰瘀互结组与健康组比较的模型参数 R2Y 分别为 0.91、0.93、0.92，Q2 分别为 0.83、0.85、0.81，表明模型有效。采用置换检验对 PLS-DA 模型验证，Q2 在纵轴上的截距为负值（图 1B、D、F），说明所建模型未过度拟合。



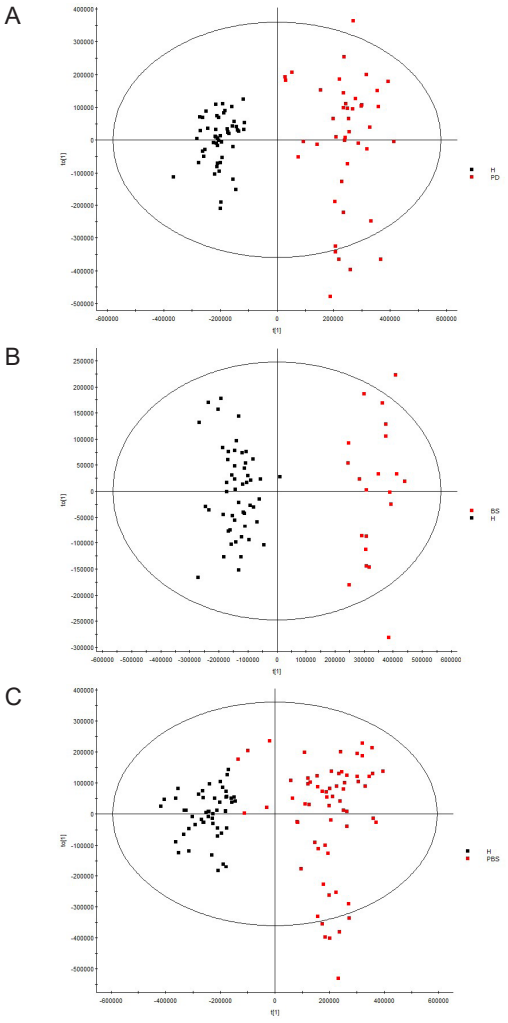
注：PD 为痰湿证组，BS 为血瘀证组，PBS 为痰瘀互结组，H 为健康组，下图同；A、C、E 分别为正离子模式下痰湿证组、血瘀证组、痰瘀互结证组分别与健康组比较的 PLS-DA 得分图；B、D、F 分别为痰湿证组、血瘀证组、痰瘀互结证组分别与健康组比较的置换检验图

图 1 各组血清 PLS-DA 分析图

中国中西医结合杂志

2　潜在标志物分析（图 2，表 2）　将健康组和冠心病患者不同证的血清样本进行 OPLS-DA 分析。结果显示，健康组和痰湿证组、血瘀证组以及痰瘀互结证组血清样本聚类效果较好且明显分离。模型参数 R2Y 分别为 0.91、0.93、0.83，Q2 分别为 0.84、0.87、0.79，表明模型具有较好的解释度和预测度。在反映组间贡献率的 S-plot 图中，选取 VIP>1，P<0.05 及 FC≥2 的化合物进一步分析鉴定。利用二级质谱信息，通过 HMDB 代谢数据库检索、匹配并结合相关文献信息等最终鉴定出痰湿证组、血瘀证组及痰瘀互结证组血清潜在的生物标志物。共得到 10 个潜在的生物标志物，其中 N- 乙酰鸟氨酸和月桂酸是冠心病血瘀证潜在的生物标志物，1，1- 二氯乙烯环氧化物（1，1-dichloroethylene epoxide，M6）是冠心病痰瘀互结证潜在的生物标志物，其余 6 个为冠心病共性差异代谢物。

3　代谢通路分析（图 3）　将鉴定得到的差异代谢物输入 MetaboAnalyst 5.0 在线数据库，构建分析代谢通路，结果显示痰湿证、血瘀证和痰瘀互结证的代谢紊乱可能涉及视黄醇代谢、细胞色素 P450（cytochromeP450，CYP）对外源物质的代谢、精氨酸和脯氨酸代谢、D- 精氨酸和 D- 鸟氨酸代谢、缬氨酸，亮氨酸和异亮氨酸的生物合成、精氨酸的生物合成、脂肪酸的生物合成、缬氨酸，亮氨酸和异亮氨酸降解以及氨酰 tRNA 的生物合成共 9 条代谢通路。视黄醇代谢、细胞色素 P450 对外源物质的代谢、精氨酸和脯氨酸代谢是主要的 3 条代谢途径，其影响值分别为 0.15、0.05 和 0.04。分析得到的冠心病血清潜在的生物标志物中，视黄酯（retinylester，M7）主要参与视黄醇代谢，M6 主要参与细胞色素 P450 对外源物质的代谢，N-乙酰腐胺（N-acetylputrescine，M8）、N4-乙酰氨基丁醛（N4-acetylaminobutanal，M2）和 1- 吡咯啉 -4- 羟基 -2- 羧酸盐（1-pyrroline-4-hydroxy-2-carboxylate，M3）主要参与精氨酸和脯氨酸代谢。



注：A、B、C 分别为正离子模式下痰湿证、血瘀证、痰瘀互结证组与健康组比较

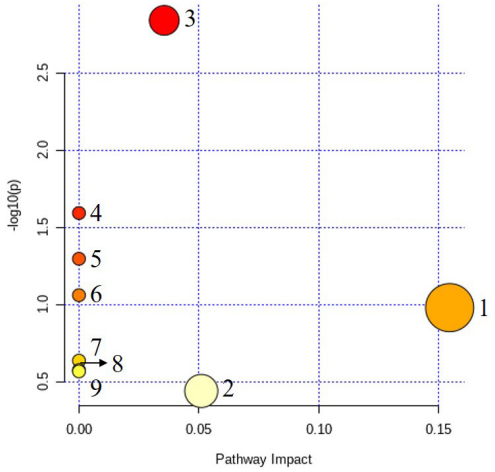
图 2　各组 OPLS-DA 得分图

表 2　冠心病痰湿证、血瘀证和痰瘀互结证的血清差异代谢物

代谢物编号	保留时间 min	化学式	质荷比	化合名称	HMDB 编号	痰湿证组	血瘀证组	痰瘀互结证组
M1	0.94	$C_7H_{15}NO_3$	144.1017	左旋肉碱	0000062	↑ **	↑ *	↑ **
M2	1.34	$C_6H_{11}NO_2$	130.0861	N4- 乙酰氨基丁醛	0004226	↑ **	↑ **	↑ **
M3	1.35	$C_5H_7NO_3$	130.0497	1- 吡咯啉 -4- 羟基 -2- 羧酸盐	0002234	↓ **	↓ **	↓ **
M4	1.50	$C_7H_{14}N_2O_3$	175.1075	N- 乙酰鸟氨酸	0003357	-	↓ **	-
M5	7.73	$C_{12}H_{24}O_2$	418.3880	月桂酸	0000638	-	↓ **	-
M6	8.83	$C_2H_2Cl_2O$	144.9819	1，1- 二氯乙烯环氧化物	0060333	-	-	↑ **
M7	9.02	$C_{20}H_{30}O_2$	303.2311	视黄酯	0003598	↓ **	↓ **	↓ **
M8	10.40	$C_6H_{14}N_2O$	113.1071	N- 乙酰腐胺	0002064	↓ **	↓ **	↓ **
M9	10.76	$C_6H_{13}NO_2$	114.0911	L- 亮氨酸	0000687	-	↓ **	↓ **
M10	11.19	$C_5H_{12}N_2O_2$	97.0759	D- 鸟氨酸	0003374	↓ **	↓ **	↓ **

注：与健康组比较，↑代表内源性代谢物上调，↓代表内源性代谢物下调，*P<0.05，**P<0.01

中国中西医结合杂志



注：1 为视黄醇代谢；2 为细胞色素 P450 对外源物质的代谢；3 为精氨酸和脯氨酸代谢；4 为 D- 精氨酸和 D- 鸟氨酸代谢；5 为缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成；6 为精氨酸的生物合成；7 为缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸降解；8 为脂肪酸的生物合成；9 为氨酰 tRNA 的生物合成

图 3 冠心病潜在血清生物标志物构建的代谢通路

讨 论

冠心病是心脑血管系统常见的疾病，中医学认为寒凝、血瘀、气虚、痰湿、阴虚等皆是其致病因素，临床以痰、瘀相关的证较为多见。痰和瘀既为致病因素，又是病理产物，且二者常“互结”“转化”，病情缠绵难愈[13]。项目组前期横断面研究发现冠心病痰湿证、血瘀证和痰瘀互结证在冠心病稳定期中占比较高[14]。冠心病是复杂的慢性疾病，且由于疾病发展的阶段不同，其临床证候也不同。胡镜清教授认为冠心病早期湿化、活动期热化与后期虚化是冠心病病机的基本转化规律。湿在冠心病早期较为明显，尤其是在合并代谢综合征的冠心病患者中更为突出，湿是该类患者疾病发生发展过程中的关键“枢机”[13]。张伯礼院士提出了“痰瘀互生”的病因病机理论，认为痰可生瘀，瘀可生痰，痰是瘀的初期阶段，瘀是痰浊的进一步发展，痰与瘀是疾病发生、发展、恶化的基本继发因素，痰瘀互生是“病重之源”[15]。痰湿证是冠心病的病程发展阶段的一个证型，随着疾病的进展和变化，可能会往血瘀证转化，也可能形成痰瘀互结证。其中痰瘀互结证是贯穿冠心病全程的主要证候，并且存在一定的地域差异[14]。

代谢组学反映机体的代谢变化规律，在中医辨证分型和物质基础研究中应用广泛。本项目采用 UHPLC-Q-ORBITRAP HRMS 技术结合代谢组学策略对冠心病痰湿证、血瘀证和痰瘀互结证进行研究，通过患者血清样品代谢轮廓的变化探究不同证的生物学基础。研究发现，在正离子模式下能得到更多代谢物信息，因此后续分析选择正离子模式下进行。冠心病 3 种证型中，由于痰瘀互结证同时包含痰湿和血瘀两种因素，采用多元统计分析未能将痰瘀互结证与痰湿证和血瘀证区分开来。痰湿证和血瘀证比较，分析得到 2，3- 环氧甲基萘醌为两组的差异代谢物，参与泛醌和其他萜类醌的生物合成。与健康组比较，分析得到 10 个生物标记物，其中 6 个是冠心病 3 种证候潜在的生物标志物，2 个差异代谢物 N- 乙酰鸟氨酸和月桂酸为冠心病血瘀证潜在的生物标志物，M6 为冠心病痰瘀互结证潜在的生物标志物。这些潜在的标志物涉及视黄醇代谢、精氨酸和脯氨酸代谢、细胞色素 P450 对外源物质的代谢等 9 条代谢通路。

视黄醇即维生素 A，在维持正常视觉功能、促进骨骼生长发育以及抑制肿瘤生长等生命活动中发挥重要作用[16]。视黄醇具有良好的抗氧化功能，黄鸿眉等[17]对视黄醇及其代谢物视黄醛、视黄酸和视黄酰酯的抗氧化能力进行考察，发现它们均有抑制脂质过氧化的作用，其中视黄醇的抗氧化能力最强。氧化应激是动脉粥样硬化的发病机制之一，氧化型低密度脂蛋白被认为是动脉粥样硬化性相关疾病的潜在生物标志物[18]。研究表明视黄醇的衍生物视黄酸可通过视黄酸受体（retinoic acid receptor，RAR）和过氧化物酶体增殖物激活受体（peroxisome proliferator-activated receptors，PPAR）以及 CCAAT 增强子结合蛋白（CCAAT enhancer-binding protein，CEBP）之间的相互作用参与体内脂代谢的调节，进行对动脉粥样硬化的形成产生影响[19，20]。本研究中，视黄醇代谢通路中的视黄酯是冠心病的差异代谢物，与健康组比较，冠心病 3 个证中视黄酯的含量均显著下降，表明冠心病患者体内视黄醇代谢发生了紊乱。

CYP 主要存在于肝脏微粒体中，同时也少量分布于小肠、肺、肾、脑中。CYP 系是药物在肝脏代谢最重要的酶，参与内源性物质的生物合成和降解以及外源性物质的代谢。不同亚型的 CYP 在生物转化、药物代谢等方面存在活性差异。据文献报道，冠状动脉内皮细胞中的 CYP2C 在催化反应时生成活性氧，活性氧抑制 NO 介导的松弛和提高氧化还原敏感转录因子核转录因子（nuclear transcription factor kappa-B，NF-κB）的活性[21]。而 NF-κB 通过细胞因子的产生、白细胞的募集和免疫细胞的分化等过程参与炎症反应，促进动脉粥样硬化斑块的形成[22]。CYP2C8、CYP1B1、CYP2A 等亚型也已被证实分别与在心肌缺血再灌注、心肌肥大和心力衰竭有很强

的相关性[23-25]。本研究中 M6 是痰瘀互结证的潜在生物标志物，参与 CYP 对外源物质的代谢，与健康组比较，该化合物的含量显著上调，说明痰瘀互结证患者体内物质的合成和降解发生了异常。中医学认为肝脏腑功能异常，会导致气机失调、疏泄异常，可致水湿、气血运行失常，阻于血脉，进而导致痰湿、血瘀等病理产物的形成[26]。

氨基酸是蛋白质的基本结构单元，分析得到的差异代谢物涉及多条氨基酸代谢途径，包括精氨酸和脯氨酸代谢、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸降解、精氨酸的生物合成以及 D-精氨酸和 D-鸟氨酸代谢。精氨酸属于碱性氨基酸，既参与蛋白质的合成，同时也是肌酸、腐胺和 NO 等物质的前体。精氨酸经一氧化氮合酶（nitric oxide synthase，NOS）催化生成的 NO 具有舒张血管平滑肌，预防血栓形成的作用[27]。非对称性二甲基精氨酸（asymmetric dimethylarginine，ADMA）是精氨酸甲基化后的代谢产物，近年来多项研究发现 ADMA 含量与动脉粥样硬化密切相关，被视为心血管疾病新的预测因子。ADMA 参与动脉粥样硬化发生发展的具体机制可能与抑制 NOS 的活性，使 NO 合成减少进而诱导血栓和斑块的形成、影响血管内皮功能，加速内皮细胞的衰老、引发炎症反应，促进血栓形成等过程有关[28-30]。参与精氨酸和脯氨酸代谢的 N4- 乙酰氨基丁醛、1- 吡咯啉 -4- 羟基 -2- 羧酸盐和 N- 乙酰腐胺是冠心病血瘀证、痰湿证和痰瘀互结证的共性标志物，提示精氨酸和脯氨酸代谢的紊乱与“痰”“瘀”等证候密切相关。此外，与健康组比较，N- 乙酰鸟氨酸、L- 亮氨酸和 D- 鸟氨酸在血清中的含量均显著降低。氨基酸为能量代谢提供原料，能量代谢紊乱可能会导致气血运行不畅，血行瘀滞，出现心血瘀阻证，不通而痛，导致“胸痹”“胸痛”。且 N- 乙酰鸟氨酸是血瘀证的潜在生物标志物，说明氨基酸代谢紊乱是冠心病的代谢特征之一。

除维生素代谢、氨基酸代谢和细胞色素 P450 对外源物质的代谢之外，冠心病的生物标志物还涉及氨酰 tRNA 生物合成和脂肪酸的生物合成。在蛋白质的合成过程中，氨酰 tRNA 发挥转运氨基酸的功能，其生物合成受到干扰时，可导致酶合成、细胞增殖等功能受阻。月桂酸参与脂肪酸的生物合成，是血瘀证的潜在生物标志物，说明血瘀证患者体内存在脂类代谢的紊乱。已有多项研究证明脂类代谢异常可明显提高冠心病的发病风险[31，32]。

本研究运用基于 UHPLC-Q-Orbitrap HRMS 的代谢组学技术探究了冠心病痰湿证、血瘀证、痰瘀互结证 3 种证的生物标志物及相关代谢通路，鉴定得到 10 个潜在生物标志物，其中 6 个是冠心病 3 种证的共性差异代谢物，2 个是冠心病血瘀证潜在的生物标志物，1 个是冠心病痰瘀互结证潜在的生物标志物，未得到冠心病痰湿证的潜在生物标志物。原因推测是痰瘀互结证的诊断标准采用“痰湿证 + 血瘀证”组合的形式进行诊断及量化评分，与痰湿证的临床症状有部分相同之处，而且痰是瘀的初期阶段，瘀是痰浊的进一步发展，痰湿证属于冠心病的早期阶段[15]，加上样本量较少，也许是未得到痰湿证潜在标志物的原因。中医药对冠心病具有良好的治疗效果，但证候诊断缺乏客观的实验室指标参考。本文为冠心病的辨证分型提供了一定的参考，课题组后续将通过多中心、大样本的收集，对冠心病不同证型间的生物标志物筛选进行深入研究，以期为冠心病的辨证诊断提供实验依据和生物学基础。

利益冲突：研究团队独立完成各项研究工作，作者根据贡献度排序，无任何利益冲突。

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］ 毛静远，牛子长，张伯礼 . 近 40 年冠心病中医证候特征研究文献分析 [J]. 中医杂志，2011，52（11）：958–961.

［3］ 梅琼，曾祥法 . 976 例冠心病中医复杂证候分布规律研究 [J]. 中国中医基础医学杂志，2019，25（10）：1370–1372.

［4］ Li J，Xie L，Song JL，et al. Alterations of sphingolipid metabolism in different types of polycystic ovary syndrome [J]. Sci Rep，2019，9（1）：3204–3214.

［5］ Liu X，Wei F，Liu H，et al. Integrating hippocampal metabolomics and network pharmacology deciphers the antidepressant mechanisms of Xiaoyaosan [J]. J Ethnopharmacol，2021，268：113549.

［6］ Zhou H，Li L，Zhao H，et al. A large-scale，multi-center urine biomarkers identification of coronary heart disease in TCM syndrome differentiation [J]. J Proteome Res，2019，18（5）：1994–2003.

［7］ 中华医学会心血管病学分会 . 慢性稳定性心绞痛诊断与治疗指南 [J]. 中华心血管病杂志，2007，35（3）：195–206.

中国中西医结合杂志

[8] 王斌，李毅，韩雅玲 . 稳定性冠心病诊断与治疗指南 [J]. 中华心血管病杂志，2018，46（9）：680–694.
[9] 胡镜清，江丽杰，许伟明，等 .T/CACM 014-2017，冠状动脉粥样硬化性心脏病痰湿证临床诊断标准 [S]. 中华中医药学会，2017.
[10] 胡镜清，李先涛，于春泉，等 .T/CACM 1060-2018，冠状动脉粥样硬化性心脏病痰瘀互结证临床诊断标准 [S]. 中华中医药学会，2018.
[11] 付长庚，高铸烨，王培利，等 . 冠心病血瘀证诊断标准研究 [J]. 中国中西医结合杂，2012，32（9）：1285–1286.
[12] 段飞，李曼曼，李伟霞，等 . 慢性阻塞性肺疾病肺气虚证的血清代谢组学研究 [J]. 中国中药杂志，2022，47（8）：2251–2256.
[13] 胡镜清 . 病机兼化理论框架下的冠心病病机解析 [J]. 中国中医基础医学杂志，2017，23（1）：4-7，11.
[14] 王传池，许伟明，江丽杰，等 .11 383 例健康人群及冠心病不同阶段患者痰瘀互结证分布规律的多中心横断面研究 [J]. 中医杂志，2021，62（6）：494–504.
[15] 张晗，康立源，张伯礼 . 心脑血管疾病痰瘀互结证述析 [J]. 天津中医药，2009，26（2）：172474.
[16] 陈景玲，王姝 . 视黄醇结合蛋白 4 与心血管疾病的临床研究进展 [J]. 临床与病理杂志，2019，39(6)：1311–1316.
[17] 黄鸿眉，魏华，江伟，等 . 不同维生素 A 营养状态下血清视黄醇水平与机体抗氧化能力的相关分析 [J]. 第四军医大学学报，2008，29（10）：893–895.
[18] Khwaja B，Thankam FG，Agrawal DK. Mitochondrial DAMPs and altered mitochondrial dynamics in OxLDL burden in atherosclerosis[J]. Mol Cell Biochem，2021，476（4）：1915–1928.
[19] 蔡筱，孔玉玲，倪俊涛，等 . 乙醛脱氢酶 2 及 β- 胡萝卜素 -15，15’- 单加氧酶基因多态性与动脉粥样硬化的研究进展 [J]. 临床医学研究与实践，2017，2（11）：194–196.
[20] Lietz G，Lange J，Rimbach G. Molecular and dietary regulation of beta，beta-carotene 15，15'-monooxygenase 1（BCMO1）[J]. Arch Biochem Biophys，2010，502（1）：8–16.
[21] Fleming I，Michaelis UR，Bredenkötter D，et al. Endothelium-derived hyperpolarizing factor synthase（Cytochrome P450 2C9）is a functionally significant source of reactive oxygen species in coronary arteries [J]. Circ Res，2001，88（1）：44–51.
[22] Baker RG，Hayden MS，Ghosh S. NF-κB，inflammation，and metabolic disease [J]. Cell Metab，2011，13（1）：11–22.
[23] Edin M L，Wang Z，Bradbury JA，et al. Endothelial expression of human cytochrome P450 epoxygenase CYP2C8 increases susceptibility to ischemia-reperfusion injury in isolated mouse heart [J]. FASEB J，2011，25（10）：3436–3447.
[24] Matzke GR，Frye RF. Drug administration in patients with renal insufficiency. Minimising renal and extrarenal toxicity [J]. Drug Saf，1997，16（3）：205–231.
[25] El-Sherbeni AA，El-Kadi AO. Alterations in cytochrome P450-derived arachidonic acid metabolism during pressure overload-induced cardiac hypertrophy [J]. BiochemPharmacol，2014，87（3）：456–466.
[26] 秦楚峰，夏梦幻，杨丹倩，等 . 试从“七郁”病机论冠心病的发病机制 [J]. 中医杂志，2021，62（18）：1594–1597.
[27] 闫洪波，王威，李令娣，等 . 原核细胞精氨酸生物合成途径的研究进展 [J]. 生物技术通报，2015，31（1）：21–28.
[28] Wei X，Li X，Wen L，et al. Asymmetric dimethylarginine is associated with carotid atherosclerosis in patients with essential hypertension [J]. Clin Exp Hypertens，2015，37（5）：393–397.
[29] Kanazawa I，Yano S，Notsu Y，et al. Asymmetric dimethylarginine as a risk factor for cardiovascular disease in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus [J]. Clin Endocrinol（Oxf），2011，74（4）：467– 472.
[30] 罗溶，洪斌，张政，等 . 非对称性二甲基精氨酸与冠心病的相关性研究进展 [J]. 中国心血管杂志，2017，22（2）：151–154.
[31] Peng Y，Zhang N，Li WJ，et al. Correlations of changes in inflammatory factors，glucose and lipid metabolism indicators and adiponectin with alterations in intestinal flora in rats with coronary heart disease [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci，2020，24（19）：10118–10125.
[32] Muscella A，Stefàno E，Marsigliante S. The effects of exercise training on lipid metabolism and coronary heart disease [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol，2020，319（1）：H76-H88.

（收稿：2021–02–02　在线：2023–03–15）
责任编辑：邱　禹

中国中西医结合杂志