

· 综述 ·

代谢组学在冠心病中医证候中的研究进展^{*}

张宜帆^{1,2} 周曼丽¹ 罗晓欣¹ 赵彦祺¹ 周霞辉¹ 俞贇丰¹ 简维雄^{1,2▲}

摘要 代谢组学是系统生物学中的新兴技术,其整体性、动态性与中医诊断中“整体审察”“动静统一”原则相一致,并且两者都是以人的机体作为研究对象。因此,利用代谢组学技术综合分析代谢组的异常生物标志物,有助于推动中医诊断的客观现代化发展,对疾病的早期诊断和治疗以及预后的推测都有重要的指导意义。本文综述了近年代谢组学在冠心病中医证候中的研究进展。

关键词 代谢组学;冠心病;中医学;综述

冠状动脉粥样硬化性心脏病(coronary atherosclerotic heart disease, CHD, 简称“冠心病”)是冠状动脉阻塞,造成心肌缺血、缺氧或坏死而导致的心脏病。根据《中国心血管病报告 2018》^[1]推算,冠心病的现患人数达到 1100 万且持续增长,死亡人数继续保持上升趋势。中医学在遵循整体观念和辨证论治两大原则的前提下,结合西医客观指标对冠心病的发生、发展、演变进行研究探索,更好地反映了证候的本质及演变规律,这也对疾病诊断及转归的判断有重要的指导意义。目前研究发现,冠心病的发生发展常伴随某些代谢障碍,这也给冠心病中医证候客观化研究提供了新的研究思路。代谢组学是系统生物学中的重要组成部分,它所强调的整体性观察、系统性分析与中医辨证中“整体观念”“因时制宜”等理念有相通性。因此,代谢组学在中医证候中的应用将会促进中医学的现代化发展。本文对近年来冠心病中医证候相关代谢组学的研究进展综述如下。

1 代谢组学概述

代谢组学(Metabonomics)是继蛋白组学和基因组学之后新近发展而来的一门学科,是系统生物学的重要组成部分。英国帝国理工学院的 Jeremy Nicholson 教授于 1999 年首次提出了代谢组学的概念。代谢组

学是对某一生物或细胞在一特定生理时期内所有分子量代谢产物同时进行定性和定量分析的一门新学科。

代谢组学的研究对象是分子量小于 1000 的小分子代谢产物^[2],通过研究分析检测尿液、血浆或血清、脑脊液、唾液等生物体液、细胞提取物、细胞培养液和组织等参与人体生命活动的代谢产物^[3],来探究人体所处的健康状态以及疾病所处的阶段。

目前,代谢组学的研究方法主要有核磁共振技术(nuclear magnetic resonance, NMR)、液相色谱-质谱联用(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)、气相色谱-质谱联用(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)等技术^[4]。每一种研究技术都存在一定的优、缺点。NMR 技术无需样本前处理,可进行多参数监测且快速,具有非破坏性,是唯一可以用于活体检测的技术^[5]。但是,NMR 技术的灵敏度和检测技术范围相对其它方法还有一定的提升空间^[6]。GC-MS 技术具有较高的灵敏度和较强的选择性,其分离效率高,成本低廉且耐用。但是由于它的分析物只能是具有挥发性的物质,因此对分析物需要复杂的衍生化前处理^[7]。LC-MS 技术无需复杂的衍生化前处理,其有灵敏度高、选择性强等特点,技术更完善,处理分析速度更快,应用范围也更广泛^[8]。但 LC-MS 技术仍存在 MS 技术共有的属于破坏性检测、不能用于活体检测等问题。

2 代谢组学与冠心病的中医证候

冠心病在中医学上属于“胸痹”“真心痛”等范畴。早在汉代,《金匱要略·胸痹心痛短气病脉证治》就有

^{*}基金项目 国家自然科学基金项目(No.81973753);湖南中医药大学研究生质量工程项目(No.2018CX28;No.2020CX57)

[▲]通讯作者 简维雄,男,教授,博士研究生导师。研究方向:心血管疾病中医证治机理研究。E-mail: daxiong20001977@163.com

• 作者单位 1.湖南中医药大学(湖南长沙 410208);2.湖南中医药大学国家重点学科中医诊断学湖南省重点实验室(湖南长沙 410208)

“胸痹之病,喘息咳唾,胸背痛,短气,寸口脉沉而迟,关上小紧数”“胸痹不得卧,心痛彻背”等记载^[9]。由于人们生活、饮食习惯的变化,冠心病的发病率和死亡率越来越高,中医治未病思想呼吁学者们寻找客观化的生物标志物对冠心病不同证型进行早诊断、早干预。近年来越来越多的研究开始涉及代谢组学的领域,代谢组学技术与以往用单一指标或少数几个指标分析疾病的方法不同^[10],其通过代谢组学技术综合分析患者或动物模型的血浆或尿液等多种通路下的代谢产物,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^[11],促进疾病证型诊断的客观化。Joanne T Brindle 等^[12]基于氢核磁共振(¹H-NMR)技术正确诊断出冠心病的存在,同时还判断出其严重性,因此代谢组学以其自身的优势将在中医证候诊断中的应用越来越广泛。

胸痹病性多属本虚标实,虚实夹杂。本虚多为气虚、阴虚、阳虚,标实多为气滞、血瘀、痰浊、寒凝。其主要证型有:心血瘀阻证、痰浊闭阻证、气滞心胸证、气阴两虚证、心肾阴虚证等^[9]。

2.1 心血瘀阻证

2.1.1 临床研究 简维雄等^[13]用质谱法分析冠心病心血瘀阻证患者血浆层面代谢途径,总结发现心血瘀阻证患者血浆代谢产物谱中有花生四烯酸、硬脂酸、乳酸、尿素、柠檬酸、 β -羟基丁酸、油酸、葡萄糖、丙氨酸等物质,同时存在脂质代谢、糖代谢紊乱。与此类似,郑景辉等^[14]研究发现糖酵解和糖异生、丙酸代谢、脂肪酸生物合成通路参与心血瘀阻证病变过程。华何与等^[15]比较了冠心病心血瘀阻证患者与健康人的血浆代谢组学变化,分析发现心血瘀阻证患者的血浆¹H-NMR 代谢谱与正常人相比有显著差异,这些差异主要涉及能量代谢、糖代谢、氨基酸代谢及脂质代谢,值得注意的是,心血瘀阻证患者存在更明显的脂质代谢紊乱。以 NMR 技术对冠心病患者和健康人血浆样本中共有的 39 种内源性代谢物检测分析^[16],研究发现心血瘀阻证的冠心病患者存在异常氨基酸代谢及异常脂质代谢,并通过筛选获得 2 种可能与冠心病血瘀证相关的特征性代谢产物:结氨酸和丙酮。在尿液代谢组学研究中,通过质谱方法,简维雄等^[17]比对心血瘀阻证组和非心血瘀阻证组、健康组 3 组尿液代谢产物,运用 GC-MS 技术检测发现心血瘀阻证患者尿液生物代谢产物谱中有葡萄糖、甘油、木糖醇、马尿酸、油酸酰胺、丙酮等代谢物;同时发现心血瘀阻证的

患者存在异常脂质代谢。在此研究基础上陈夏等^[18]通过检索 MetPA、KEGG、HMDB 等数据库的生物学信息,探究心血瘀阻证冠心病患者尿液代谢过程,发现半乳糖代谢、酮体的合成和降解通路参与心血瘀阻证病变过程。

2.1.2 实验研究 牟菲等^[19]通过 GC-MS 比较分析假手术组与冠心病心血瘀阻证大鼠血清内源性代谢物差异,发现了与糖代谢、脂代谢和氨基酸代谢通路相关的 14 个潜在的生物标志物存在代谢异常,这些标志物有苹果酸、柠檬酸、延胡索酸、棕榈油酸、十七酸、硬脂酸、花生四烯酸等。与其结果相似的是, Qi Qiu 等^[20]研究冠心病血瘀证大鼠模型的血浆代谢产物,用 GC-MS 技术分析后发现 L-丝氨酸等氨基酸代谢物以及丙酸、丁酸等脂质代谢物水平升高,而柠檬酸、cAMP、丙氨酸、左旋缬氨酸、左旋丝氨酸、十六烷酸和十八烷酸等 11 个潜在的与脂肪酸代谢、能量相关代谢、氨基酸代谢、糖代谢相关的生物标志物水平降低。对比冠心病血瘀证患者,研究者发现动物模型与临床患者的代谢组学指标变化呈现相同趋势。在尿液代谢组学研究中,通过质谱方法,李静等^[21]检测冠心病血瘀证大鼠模型组尿液代谢物,与假手术组对比后发现血瘀证模型组有 36 种差异代谢产物表达水平紊乱,涉及丙氨酸、天冬氨酸等氨基酸代谢紊乱,磷酸戊糖途径、糖酵解/糖异生异常等多条糖代谢紊乱以及嘌呤代谢紊乱、脂质代谢异常等。在心肌组织代谢组学研究中,孙安会等^[22]运用 GC/TOF-MS 分析冠心病血瘀证大鼠心肌组织代谢物发现,冠心病急、慢性血瘀证组大鼠心肌组织代谢谱在能量代谢中重要的糖酵解、脂肪酸代谢和柠檬酸循环等代谢通路与正常对照组对比存在明显差异,具体而言氨基酸类(如:甘氨酸)、核苷酸类(如:环磷酸腺苷)在血瘀证大鼠血浆中均出现上调,有机酸类(如:谷氨酸)、糖类(如:果糖、6-磷酸果糖)均出现下调。这说明血瘀证会导致能量代谢途径的异常,影响 ATP 的生成,致使心肌细胞能量供应不足。与此类似,夏世靖等^[23]在探究不同程度血瘀证组大鼠心肌能量代谢特点时也发现,与正常组相比,冠心病血瘀证组大鼠均出现与能量代谢相关的生物标志物降低,血瘀证程度与能量代谢障碍程度存在相关性。

2.2 痰浊闭阻证

2.2.1 临床研究 朱明丹等^[24]收集分析冠心病痰阻心脉证、气阴两虚证、气滞血瘀证患者的血浆样本,研

究发现痰阻心脉证组的葡萄糖含量比气滞血瘀组高。程鹏等^[25]用 GC-MS 技术探究冠心病痰凝心脉证患者与心气虚证患者的血清代谢产物的关系,发现痰凝心脉证组丝氨酸、2-羟基丙酸显著高于气虚证组。刘羽茜等^[26]比较了冠心病脾虚痰浊证患者与健康人血清代谢组学差异,发现脾虚痰浊证患者亮氨酸、组氨酸、维生素 A、植物鞘氨醇、鞘氨醇、左旋肉碱含量大于健康组,说明痰浊证患者的脂质代谢、氨基酸代谢、维生素代谢、嘌呤代谢存在紊乱。运用 MS 技术对比痰浊证和血瘀证患者与健康人血清代谢组学差异,鹿小燕等^[27]研究发现痰浊证组和血瘀证组在有机酸(苹果酸、琥珀酸)、氨基酸类(甘氨酸、丙氨酸)、糖类(果糖、葡萄糖)及脂肪酸(棕榈烯酸)等代谢产物上存在显著差异。在血清、尿液等代谢产物的研究中,陈浩等^[28]用 LC-MS 技术探究冠心病气虚血瘀证与气虚血瘀痰浊证患者差异代谢物,发现马尿酸、氨基葡萄糖、果糖胺、甘油三酯可能为痰浊证的潜在代谢标志物。

2.2.2 实验研究 张蕾等^[29]基于 NMR 技术分析冠心病痰浊证大鼠模型血浆代谢变化,发现模型组较正常组 VLDL、VLDL/LDL、HDL/LDL、LDL 均明显增高,乳酸、醋酸、丙酮、3-HB、甘油、丙氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、缬氨酸、葡萄糖等含量上调,HD、胆碱、磷脂酰胆碱、甘油磷脂酰胆碱、不饱和脂肪酸含量下降。值得注意的是,乳酸、醋酸、丙酮等脂代谢重要的中间产物以及丙氨酸、谷氨酸等氨基酸代谢产物含量变化显著。

2.3 气阴两虚证

2.3.1 临床研究 基于 MS 技术,朱子勤等^[30]对糖尿病冠心病气阴两虚证和阳虚证患者血浆分析,发现这两种证型患者在氨基酸代谢、嘌呤代谢、脂质代谢、三羧酸循环、线粒体中脂肪酸延长等多个代谢通路存在差异。与此类似,李宜等^[31]通过比较冠心病不同证型患者共有的 34 种血清内源性代谢物的差异,发现气阴两虚证组患者与能量代谢相关的丙氨酸、乳酸,糖代谢相关的葡萄糖、 β -葡萄糖及脂类相关的高密度脂蛋白等含量升高,而缬氨酸、胆碱磷酸、氧化三甲胺含量降低。另一项课题^[24]在对冠心病痰阻心脉证、气滞血瘀证、气阴两虚证患者血浆代谢产物的研究中发现气阴两虚证患者血浆样本中苯丙氨酸、甘氨酸、高丝氨酸、葡萄糖、磷酸肌酸含量较低,这些指标异常提示氨基酸代谢及能量代谢可能在冠心病气阴两虚证的病理过程中起重要作用。其中能量代谢类似于气的

推动作用,能量代谢异常与气血运行不畅相关,符合冠心病气阴两虚证的发病机制。

2.3.2 实验研究 Bei Yan 等^[32]建立心血瘀阻证和气阴两虚证心肌缺血大鼠模型,基于 GC-MS 技术分析两种证型大鼠血浆中的代谢产物,发现气阴两虚证组 2-羟基丁酸和 2-氨基丁酸显著升高,而焦谷氨酸、谷氨酸、透明质酸、甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸和鸟氨酸等显著降低。同时,心血瘀阻证与气阴两虚证大鼠血浆中缬氨酸、2-氨基丁酸、甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸、2,5-二氨基戊内酰胺、鸟氨酸、羟脯氨酸、赖氨酸、2-羟基丁酸、3-羟基丁酸、呋喃半乳糖、肌醇等代谢物指标存在显著差异。

3 小结与展望

由于代谢组学研究方法与中医证候诊断的相似性,代谢组学这一新兴学科在中医学中的研究成为当代的热点。代谢组学检测分析发现的疾病发展过程中代谢产生的特殊内源性小分子生物标志物也在为中医学证型诊断的现代化发展提供基础和研究方向。代谢组学在冠心病中医证候中的研究结果提示,冠心病患者的血浆、尿液及心肌组织代谢产物会发生变化,这些代谢产物主要与氨基酸代谢、脂质代谢、糖代谢、脂肪酸代谢等代谢通路紊乱密切相关。综合分析不同证型的代谢组学变化,可以发现不同证型患者的代谢指标紊乱程度也有所不同,这有助于为冠心病辨证分型及程度判断提供客观标准。

然而,代谢组学在冠心病中医证型中的应用仍存在一些问题。首先,融合于中国传统文化中的中医学,有着独特的理论体系,中医辨证的思路方法要想与现代医学结合,通过现代科学技术对中医学辨证理论加以阐释实属不易。其次,人作为一个有机整体,往往呈现复杂多变性,疾病的不同阶段总是多个中医证型的集合体,同时就某一阶段而言,证型也存在标本缓急之分,用生物医学指标去解释判定复杂的中医证型仍存在很多困难。因此,如何排除兼证在证型诊断中造成的差异或如何准确诊断复杂的中医证型还有待进一步研究。再者,中医辨证与医生个人主观经验相关,证型的诊断标准尚未完善;在动物实验中,虽然模型动物的证型可控性较临床患者更高,但是不同造模方式也会对证型的准确性造成一定的影响,这也呼吁尽早建立中医证型的规范化诊断标准。此外,作为发展时间短的新兴组学技术,代谢组学技术尚未完

善,代谢物的多样性也在呼吁不同疾病分类的数据库的建立以利于疾病证型的统计分析。然而,事物的发展本就是波浪式前进、螺旋式上升的过程,中医学走向现代化已是时代发展的潮流趋势。相信随着技术的发展和研究人员的不断努力,代谢组学必将成熟地应用于冠心病中医证候的规范化诊断乃至整个中医学领域的证候诊断中。同时,代谢组学也将为中医学“治未病”思想的运用提供更加准确客观的标准,使中医学为更多的人所接受。

参考文献

- [1]胡盛寿,高润霖,刘力生,等.《中国心血管病报告2018》概要[J].中国循环杂志,2019,34(3):209-220.
- [2]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.
- [3]颜凤蛟,葛惠男.代谢组学在中医证型本质研究中的应用进展[J].山西中医,2014,30(1):58-59.
- [4]LAO YM, JIANG JG, YAN L. Application of metabonomic analytical techniques in the modernization and toxicology research of traditional Chinese medicine[J]. Br J Pharmacol, 2009, 157(7):1128-1141.
- [5]ROONEY OM, TROKE J, NICHOLSON JK, et al. High-resolution diffusion and relaxation-edited magic angle spinning 1H NMR spectroscopy of intact liver tissue[J]. MagnReson Med, 2003, 50(5):925-930.
- [6]郭 宾,戴仁科.代谢组学及其研究策略和分析方法进展[J].中国卫生检验杂志,2007,17(3):554-563
- [7]李 娟,任路静,孙冠男,等.气相色谱-质谱联用技术及其在代谢组学中的应用[J].生物工程学报,2013,29(4):434-446.
- [8]LINDON JC, NICHOLSON JK. Spectroscopic and statistical techniques for information recovery in metabonomics and metabolomics[J].Annu Rev Anal Chem, 2008, 1(1):45-69.
- [9]张伯礼,吴勉华.中医内科学[M],4版.北京:中国中医药出版社,2017:160-169.
- [10]NICHOLSON JK, HOLMES E, LINDON JC, et al. The challenges of modeling mammalian biocomplexity[J]. Nat Biotechnol, 2004, 22(10):1268-1274.
- [11]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.
- [12]BRINDLE JT, ANTTI H, HOLMES E, et al. Rapid and noninvasive diagnosis of the presence and severity of coronary heart disease using 1H-NMR-based metabonomics[J].Nat Med, 2002, 8(12):1439-1444.
- [13]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.
- [14]郑景辉,陈建军,简维雄,等.冠心病心血瘀阻证患者血浆代谢组学的通路分析[J].时珍国医国药,2015,26(2):485-487.
- [15]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):258-260,279,230.
- [16]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,2014,12(5):513-516.
- [17]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.
- [18]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,2015,21(1):69-71.
- [19]牟 菲,蔺 瑞,张海悦,等.基于代谢组学方法研究中药苏合香对冠心病心血瘀阻证大鼠的干预作用[J].中国新药杂志,2019,28(5):620-627.
- [20]QIU Q, LI C, WANG Y, et al. Plasma metabonomics study on Chinese medicine syndrome evolution of heart failure rats caused by LAD ligation [J].BMC Complement Altern Med, 2014,14(1):232.
- [21]李 静,钟森杰,李 亮,等.基于尿液代谢组学的冠心病血瘀证模型大鼠生物学基础研究[J].中国中医药信息杂志,2021,28(3):63-68.
- [22]孙安会,袁肇凯,夏世靖,等.冠心病急、慢性血瘀证大鼠心肌组织能量代谢的研究[J].中华中医药杂志,2016,31(5):1659-1664.
- [23]夏世靖,孙安会,黄献平,等.冠心病不同程度血瘀证心肌细胞能量代谢的研究[A].中国中西医结合学会诊断专业委员会.中国中西医结合学会诊断专业委员会第十次全国学术会议论文集[C].中国中西医结合学会诊断专业委员会:中国中西医结合学会,2016:7.
- [24]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.
- [25]CHENG P, CHEN ZQ, WANG DS. Metabonomics research on coronary heart disease patients of phlegm turbidity syndrome and qi deficiency syndrome[J].Zhongguo Zhongxiyi Jiehe Zazhi, 2015, 35(2):193-197.
- [26]刘羽茜.冠心病稳定型心绞痛脾虚痰浊证患者血清代谢组学研究[D].沈阳:辽宁中医药大学,2019:23.
- [27]鹿小燕,顾 煊,徐 浩,等.基于气相色谱质谱联用对冠心病“痰”“瘀”证候血清代谢组学的研究[J].中西医结合心脑血管病杂志,2016,14(9):929-932.
- [28]陈 浩,邓 悦.冠心病心绞痛代谢组学的证候客观化研究[J].世界科学技术-中医药现代化,2017,19(5):797-803.
- [29]张 蕾,张 琪,游 云,等.基于代谢组学技术探讨高脂血症及动脉粥样硬化痰瘀证候的演变规律[J].中国中西医结合杂志,2015,35(7):823-833.
- [30]朱子勤.糖尿病冠心病中医证候分布及其代谢组学研究[D].广州:广东药科大学,2019.
- [31]李 宜.冠心病心绞痛患者不同中医证候的血清代谢组学研究[D].北京:中国中医科学院,2011.
- [32]YAN B, A J, HAO H, et al. Metabonomic phenotype and identification of "heart blood stasis obstruction pattern" and "qi and yin deficiency pattern" of myocardial ischemia rat models[J].Science in China, 2009,52(11):1081-1090.

(收稿日期:2021-05-17)

(本文编辑:蒋艺芬)