

汤喜兰,徐国良,董伟,等. 异丙肾上腺素诱导心脏肥大大鼠的血清代谢组学研究[J]. 中国实验动物学报,2020,28(4): 486-493.

Tang XL, Xu GL, Dong W, et al. Serum metabolomics study of cardiac hypertrophy in an isoproterenol-induced rat model [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2020, 28(4): 486-493.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2020.04.008

异丙肾上腺素诱导心脏肥大大鼠的血清代谢组学研究

汤喜兰¹,徐国良²,董伟³,李洪铭¹,邱俊辉¹,孙楠¹,刘芳¹,刘思宇¹,李冰涛^{2*}

(1. 江西科技师范大学药学院,南昌 330013; 2. 江西中医药大学中医基础理论分化发展研究中心,南昌 330004; 3. 江西中医药大学现代中药制剂教育部重点实验室,南昌 330004)

【摘要】 目的 通过血清代谢组寻找重要性生物标志物,探讨大鼠心脏肥大的发病机制。**方法** 采用连续14 d腹腔注射异丙肾上腺素 30 mg/(kg·d)建立大鼠心脏肥大模型。采用心脏重量指数评价大鼠心脏肥大模型。应用超高效液相色谱-四级杆-飞行时间串联质谱检测大鼠血清内源性代谢物,MPP 软件分析代谢物差异,Human Metabolome Database (HMDB)数据库来确定生物标志物,MetaboAnalyst 4.0 分析代谢通路。**结果** 腹腔注射异丙肾上腺素可诱导大鼠心脏肥大。心脏肥大模型组与正常组具有明显的血清代谢产物差异,共鉴定 10 个潜在生物标志物。与正常组相比,心脏肥大模型组的鞘氨醇-1-磷酸和二高-γ-亚麻酸显著下调,D-果糖-1,6-二磷酸、脱氧腺嘌呤核苷、N-乙酰蛋氨酸、植物鞘氨醇、尿囊素、3-酮基-β-D-半乳糖、辛酸和甘油显著上调。**结论** 异丙肾上腺素诱导的心脏肥大涉及鞘脂代谢、甘油脂代谢、半乳糖代谢、不饱和脂肪酸的生物合成及嘌呤代谢等代谢通路。本研究为揭示异丙肾上腺素诱导的心脏肥大循环血液的代谢变化提供参考。

【关键词】 心脏肥大;异丙肾上腺素;代谢组学;生物标志物

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2020) 04-0486-08

Serum metabolomics study of cardiac hypertrophy in an isoproterenol-induced rat model

TANG Xilan¹, XU Guoliang², DONG Wei³, LI Hongming¹, QIU Junhui¹, SUN Nan¹, LIU Fang¹, LIU Siyu¹, LI Bingtao^{2*}

(1. School of Pharmacy, Jiangxi Science & Technology Normal University, Nanchang 330013, China.

2. Research Center for Differentiation and Development of Traditional Chinese Medicine(TCM) Basic Theory, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004. 3. Key Laboratory of Modern Preparation of Chinese Medicine, Ministry of Education, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004)

Corresponding author: LI Bingtao. E-mail: ljw10@126.com

【Abstract】 Objective To screen potential biomarkers to explore the pathogenesis in a rat model of isoproterenol-induced cardiac hypertrophy. **Methods** Isoproterenol 30 mg/(kg·d) was used to establish the rat model of cardiac hypertrophy via intraperitoneal injection for 14 consecutive days. The rat cardiac hypertrophy model was evaluated via the

【基金项目】国家自然科学基金项目(81960732),江西省自然基金项目(20181BAB215041),江西省教育厅科学技术研究项目(GJJ180606),江西科技师范大学博士启动基金项目(2017BSQD017),江西中医药大学现代中药制剂教育部重点实验室开放项目(TCM-201911),江西科技师范大学大学生创新创业训练计划项目(20191304127,20190604041)。

Funded by National Natural Science Foundation of China (81960732), Natural Science Foundation of Jiangxi Province (20181BAB215041), Research Foundation of Education Bureau of Jiangxi Province (GJJ180606), PhD Research Startup Foundation of Jiangxi Science & Technology Normal University (2017BSQD017), Open Project of Key Laboratory of Modern Preparation of TCM, Ministry of Education, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine (TCM-201911), Jiangxi Science & Technology Normal University Students Innovation and Entrepreneurship Training Program (20191304127,20190604041).

【作者简介】汤喜兰(1983—),女,副教授,博士,研究方向:中药心血管药理。Email:tangxilan1983@163.com

【通信作者】李冰涛(1981—),男,讲师,博士,研究方向:网络药理学。Email:ljw10@126.com

cardiac index. Ultra high performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry (UHPLC-Q-TOF-MS) was conducted to detect serum metabolites in normal and model rats. MPP software was used to analyze metabolic differences. The Human Metabolome Database (HMDB) was used to identify biomarkers. MetaboAnalyst 4.0 was used to analyze metabolic pathways. **Results** Serum metabolites in the rats with isoproterenol-induced cardiac hypertrophy differed significantly from those of the normal rats, and 10 potential biomarkers were identified. Compared with the normal group, sphingosine 1-phosphate and dihomog- γ -linolenic acid in the model group were significantly downregulated, and D-fructose-1,6-bisphosphate, deoxyadenosine, N-acetylmethionine, phytosphingosine, allantoin, 3-keto- β -D-galactose, octane, and glycerol were significantly upregulated. **Conclusions** The metabolic pathways involved in isoproterenol-induced cardiac hypertrophy include sphingolipid metabolism, glycerolipid metabolism, galactose metabolism, biosynthesis of unsaturated fatty acids, and purine metabolism. This study provides a basis for understanding the metabolic changes in the circulating blood in a model of isoproterenol-induced cardiac hypertrophy.

【Keywords】 cardiac hypertrophy; isoproterenol; metabolomics; biomarker

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

心脏肥大是心脏血流动力学压力和容量超负荷及神经体液因素等引起的主要病理生理反应,表现为蛋白质合成增加,肌节致密重组,心肌细胞体积增大,是各种心血管疾病心肌重构过程中的关键阶段。持续的心脏肥大最终可导致心力衰竭,增加心血管疾病的发病率和死亡率,威胁人类健康^[1]。因此,心脏肥大的发生机制是心血管疾病研究的重点。

异丙肾上腺素是一种 β -肾上腺素能受体激动剂,可作用于心肌组织,引起心肌损伤、心肌梗死、心肌肥厚甚至心力衰竭等^[2]。异丙肾上腺素诱导的大鼠心脏肥大模型是心脏肥大药物评价的常用模型,尤其适用于研究心脏肥大过程中心肌结构和功能的适应性^[3],受到国内外学者的持续关注。代谢组学是一门新的组学研究技术,可以帮助我们了解各种心血管疾病状态下发生的整体代谢和心脏特异性代谢的变化,明确心血管疾病的分子标志物和代谢组学特征,已广泛应用于心血管疾病研究^[4-5]。

本研究拟采用超高效液相色谱-四级杆-飞行时间串联质谱技术检测异丙肾上腺素诱导的心脏肥大大鼠血清代谢物的变化,通过主成分分析寻找潜在的生物标志物并进行代谢通路分析,探索心脏肥大大鼠体内的代谢变化,为心脏肥大的防治提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物

16 只 SPF 级 SD 雄性大鼠,5 ~ 6 周龄,体重 200 ~ 220 g,由湖南斯莱克景达实验动物有限公司

提供【SCXK(湘)2016-0002】,饲养于江西中医药大学实验动物科技中心屏障系统【SYXK(赣)2017-0004】。饲养条件:温度(22 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,湿度 $50\% \pm 5\%$,12 h 光照/黑暗循环,自由摄食饮水。所有操作均符合江西中医药大学动物实验伦理要求,满足 3R 原则(审批号:JZLLSC2017_0109)。

1.1.2 试剂与仪器

异丙肾上腺素(上海源叶生物科技有限公司,TP0395)。

XS203S 万分之一电子天平(瑞士梅特勒-托利多),TGL20 M 台式高速冷冻离心机(盐城市凯特实验仪器有限公司),安捷伦 6538 A 超高效液相色谱-四级杆-飞行时间串联质谱(Ultra high performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry, UHPLC-Q-TOF-MS, Agilent, 美国),色谱柱为 ZORBAXExtend-C18 柱(2.1×100 mm, $3.5 \mu\text{m}$, Agilent)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组与造模

16 只大鼠按体重随机分为正常组和模型组,每组各 8 只。参考文献^[6],加以调整,给予模型组大鼠腹腔注射异丙肾上腺素 $30 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$,连续 14 d 建立大鼠心脏肥大模型。正常组大鼠腹腔注射等体积生理盐水。以心脏重量指数包括心脏重量与体重比值(HW/BW)、左心室重量与体重比值(LVW/BW)以及右心室重量与体重比值(RVW/BW)判断大鼠心脏肥大模型是否成功。实验过程中,所有大鼠给予普通饲料进行正常饲养,每两天称重及更换垫料。

1.2.2 样本采集与制备

观察记录大鼠一般行为学变化,包括精神状

态,被毛,饮食等。末次注射异丙肾上腺素后,大鼠禁食不禁水 12 h,次日早晨麻醉,腹主动脉取血,取心脏组织并称重。

血清样本的制备:血液 4℃ 静置 2 h,4℃ 离心 10 min(3000 r/min),分离血清。各取 100 μ L 血清样本进行混合制备 QC 样本。从各血清样本(含 QC)取 100 μ L 血清,加入甲醇 300 μ L,涡旋混匀 30 s,4℃ 恒温静置 3 h,离心 15 min(15 000 r/min,4℃),取上清于 1.5 mL EP 管,真空浓缩离心,加水-甲醇浓度(水:甲醇=85:15)200 μ L 复溶,涡旋混匀 30 s,离心 15 min(15 000 r/min,4℃),取上清于样品瓶,进样。

1.2.3 色谱和质谱条件

安捷伦 UHPLC-Q-TOF-MS;色谱柱为 ZORBAX Extend-C18 柱(2.1 $\times$ 100 mm, 3.5 μ m, Agilent),流动相 A 为 0.1% 甲酸水,流动相 B 为 0.1% 甲酸乙腈,进样量 4 μ L,柱温 35℃,样品室温度 4℃,流速 0.4 mL/min,梯度洗脱条件:0 ~ 4 min,98% ~ 88% A,4 ~ 14 min,88% ~ 19% A,14 ~ 17 min,19% ~ 9% A,17 ~ 18 min,9% ~ 0% A,18 ~ 20 min,0% ~ 98% A,20 ~ 23 min,98% ~ 98% A。

质谱条件:正离子模式下采集谱图对前处理的样品进行分析,为保持仪器稳定性,精密度和重现性,使用仪器配套的参比液进行实时校正,采用 Dual ESI 源,正离子模式下(4000 V),干燥气温度 350℃,干燥气流速:10 L/min;扫描(Full Scan)方式,扫描范围: m/z 50 ~ 1200,喷雾室压力:35 psig;碎片电压:120 V;锥孔电压:60 V。仪器使用参比自动校正,参比液以 5 μ L/min 的速度通过自动传输入口,参比离子 m/z 121.05973 和 m/z 922.09798。

1.3 统计学分析

心脏重量指数采用 Graphpad prism 6.0 进行统计分析,数据以平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 代表差异具有显著性。采用 Profinder B.06.0 软件对原始质谱数据进行格式转换(转化为.cel 格式数据),数据导入 MPP 软件进行峰提取、匹配、对齐和标准化处理,然后将处理后数据导入 SIMCA-P 12.0 进行主成分分析(PCA)和偏最小二乘法分析(PLS-DA),以相关性系数[$P(\text{cor}) > 0.8$]和变量重要性(VIP > 1)为条件,进一步通过组间 t 检验筛选差异代谢物($P < 0.05$),采用 Human Metabolome Database (HMDB)数据库对差异代谢物进行定性,利用 MetaboAnalyst 4.0 软件进行相关代谢通路分析。

2 结果

2.1 大鼠一般情况及心脏重量指数变化分析

正常组大鼠精神状态良好,毛发有光泽,体重稳定上升。心脏肥大模型组大鼠精神萎靡,动作迟缓,毛发失去光泽,体重增长缓慢,明显低于正常组大鼠体重增长(见图 1)。与正常大鼠相比,模型组大鼠 HW/BW、LVW/BW 及 RVW/BW 显著增加($P < 0.05$),见图 2。

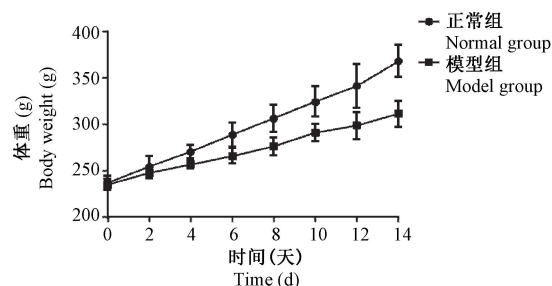


图 1 大鼠体重变化

Figure 1 Body weight changes in rats

2.2 大鼠血清代谢轮廓分析

图 3 显示了正常组大鼠与模型组大鼠血清样本的总离子色谱图。从两组总离子流图的血清样品分析中,可以看出样品出峰均匀,强度适中,说明此时液相质谱条件适合正常组及模型组的血清样品分析。

2.3 样品及设备稳定性分析

本研究采用 QC 控制样品检测过程中样品及设备的稳定性。采样前,运行 1 次 QC,采样过程中,每检测 8 个样品运行 1 次 QC,共运行 3 次 QC 样品。图 4 显示了 3 次 QC 样品总离子流图的叠加,可以看出主要样品峰的强度、保留时间都能重合,没有差异,说明样品检测过程中样品及仪器均稳定。

2.4 大鼠血清代谢物主成分分析

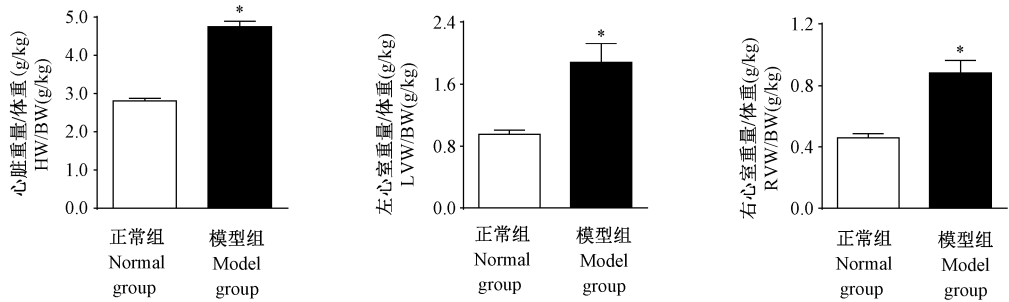
用主成分分析方法考察异丙肾上腺素对大鼠血清内源性代谢物质的影响,正离子模式下 PCA 得分图显示正常组与模型组分离明显,组内聚集程度较好,提示与正常组相比,异丙肾上腺素诱导的心脏肥大大鼠内源性代谢物发生了显著变化(见图 5)。

2.5 潜在生物标志物筛选

为进一步研究异丙肾上腺素诱导的心脏肥大大鼠血清中的内源性代谢物质,我们采用基于正交信号校正偏最小二乘法的 U-plot 来初步筛选符合异丙肾上腺素诱导心脏肥大模型大鼠血清中内源性物质状态特征的生物标志物群,选择相关性系数大

于 0.8 且 VIP 大于 1 的变量作为候选生物标志物变量,并对两组中的候选生物标志物变量进行峰面积 t

检验,将 $P < 0.05$ 的化合物作为差异显著的潜在生物标志物,结果见图 6。



注:与正常组相比, * $P < 0.05$ 。(图 7 同)

图 2 大鼠心脏重量指数比较

Note. Compared with normal group, * $P < 0.05$.(The same in the Figure 7)

Figure 2 Comparison of rat heart weight index

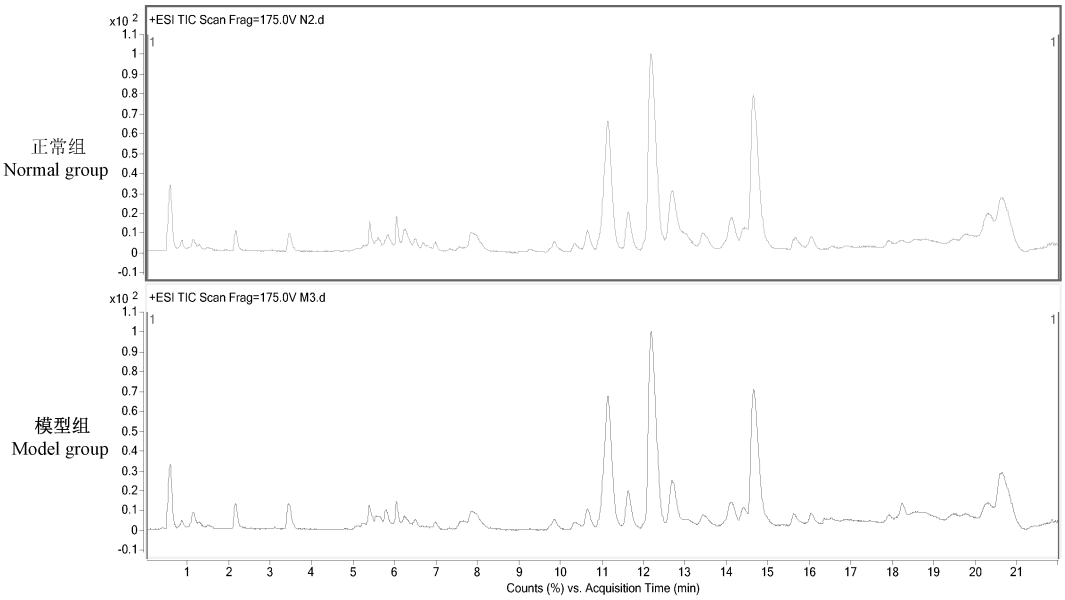


图 3 正离子模式下大鼠血清的总离子色谱图

Figure 3 UHPLC-Q-TOF-MS spectra of rat serum samples in ESI+ mode

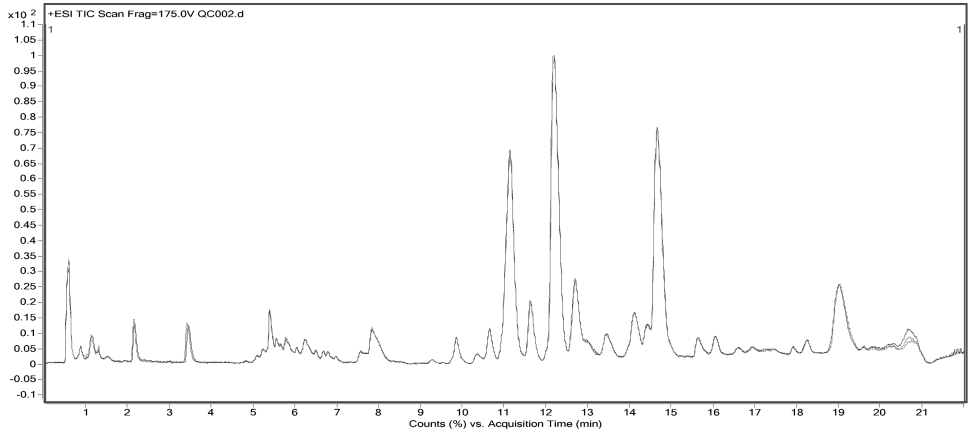


图 4 QC 样本叠加总离子流图

Figure 4 Superposition of total ion chromatogram of QC samples

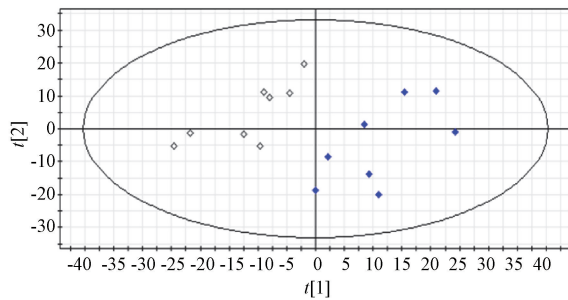
2.6 潜在生物标志物鉴定

共得到 13 个生物标志物,按照前期文献^[7-8],采用 HMDB 数据库来确定生物标志物,共鉴定出 10 个潜在生物标志物,3 个未通过鉴定。10 个潜在生物标志物分别为鞘氨醇-1-磷酸、二高- γ -亚麻酸、D-果糖-1,6-二磷酸、脱氧腺嘌呤核苷、N-乙酰蛋氨酸、植物鞘氨醇、尿囊素、3-酮基- β -D-半乳糖、辛烷和甘油(见表 1)。与正常组相比,心脏肥大模型组大鼠

血清鞘氨醇-1-磷酸和二高- γ -亚麻酸下调,其余 8 个潜在生物标志物上调(见图 7)。

2.7 生物标志物代谢通路分析

将鉴定的 10 个潜在生物标志物导入 MetaboAnalyst 4.0 进行 Pathway Analysis 分析,结果显示生物标志物主要参与鞘脂代谢、甘油酯代谢、半乳糖代谢、不饱和脂肪酸的生物合成和嘌呤代谢(见图 8)。



注:○:正常组;●:模型组。

图 5 正离子模式下大鼠血清 PCA 得分图

Note. ○, Normal group. ●, Model group.

Figure 5 PCA of metabolites in rats serum in ESI+ mode

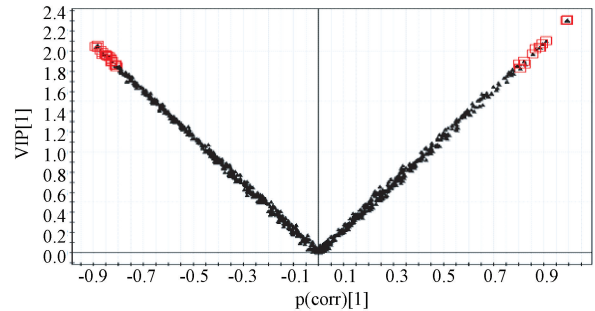


图 6 潜在生物标志物筛选图

Figure 6 Screening for the potential biomarkers in ESI+ mode

表 1 异丙肾上腺素诱导心脏肥大大鼠血清潜在生物标志物

Table 1 Potential serum biomarkers of cardiac hypertrophy rats model induced by isoproterenol

保留时间 RT (min)	质子数/ 电荷数 m/z	变量影响 重要性因子 VIP	相关性系数 P (corr)	编号 KEGG.ID	名称 Description	化学式 Chemical formula	变化趋势 (模型 vs 对照) Trend (Model vs Normal)
10.3554	379.2486	1.8671	0.8040	C06124	鞘氨醇-1-磷酸 Sphingosine 1-phosphate	$C_{18}H_{38}NO_5P$	↓
2.1650	385.1737	2.3057	0.9952	C03242	二高- γ -亚麻酸 Dihomo- γ -linolenic acid	$C_{20}H_{34}O_2$	↓
5.4160	340.9838	2.0102	-0.8711	C00354	D-果糖-1,6-二磷酸 D-Fructose-1,6-bisphosphate	$C_6H_{14}O_{12}P_2$	↑
5.4449	250.0969	1.8581	-0.8124	C00559	脱氧腺嘌呤核苷 Deoxyadenosine	$C_{10}H_{13}N_5O_3$	↑
1.9380	191.0580	1.8420	-0.8064	C02712	N-乙酰蛋氨酸 N-Acetylmethionine	$C_7H_{13}NO_3S$	↑
15.6470	396.2126	1.8999	-0.8230	C12144	植物鞘氨醇 Phytosphingosine	$C_{18}H_{39}NO_3$	↑
5.4500	157.0370	2.0343	-0.8824	C01551	尿囊素 Allantoin	$C_4H_6N_4O_3$	↑
5.4160	198.0141	2.0341	-0.8810	C05394	3-酮基- β -D-半乳糖 3-Keto- β -D-galactose	$C_6H_{10}O_6$	↑
5.4090	193.0600	2.0590	-0.8831	C01387	辛烷 Octane	C_8H_{18}	↑
5.4190	112.0158	2.0356	-0.8822	C00116	甘油 Glycerol	$C_3H_8O_3$	↑

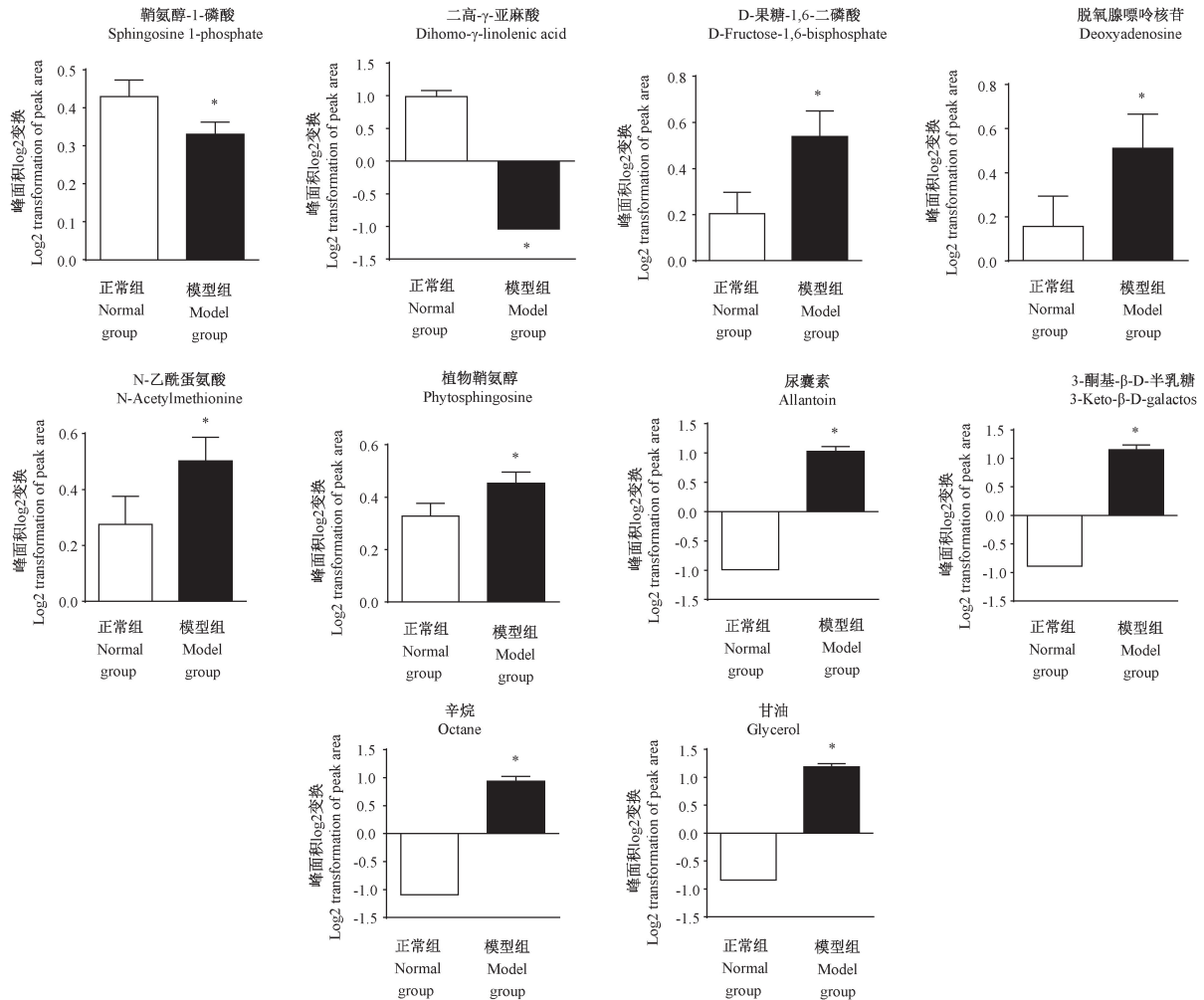


图 7 潜在代谢标志物的相对含量变化

Figure 7 Changes in the relative content of potential metabolic markers

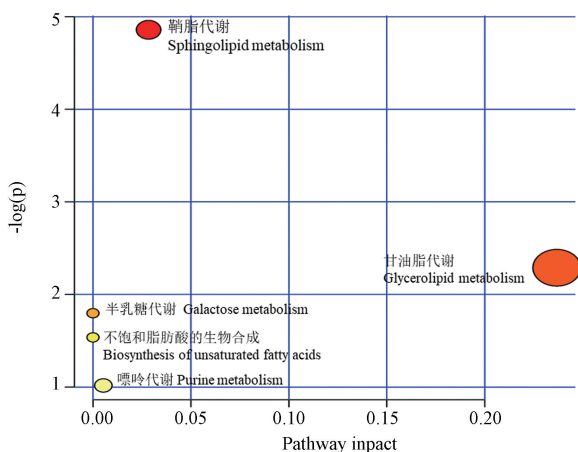


图 8 相关代谢通路

Figure 8 Relevant metabolic pathways

3 讨论

本研究采用连续 14 d 腹腔注射异丙肾上腺素

30 mg/(kg·d) 建立大鼠心脏肥大模型, 研究结果显示, 异丙肾上腺素诱导的心脏肥大大鼠的心脏重量、左心室重量和右心室重量显著增加, 结果表明模型建立成功。我们进一步基于 UHPLC-Q-TOF-MS 技术和数据分析, 筛选出异丙肾上腺素诱导的大鼠心脏肥大 10 个潜在生物标志物, 涉及鞘脂代谢、甘油脂代谢、半乳糖代谢、不饱和脂肪酸的生物合成和嘌呤代谢等代谢通路。

鞘氨醇-1-磷酸和植物鞘氨醇的含量变化反映了鞘脂代谢改变。鞘氨醇-1-磷酸 (sphingosine 1-phosphate, S1P) 是神经鞘磷脂经过多步酶促反应生成。神经鞘磷脂在鞘磷脂酶的催化下生成神经酰胺, 在神经酰胺酶的催化作用下生成鞘氨醇, 在鞘氨醇激酶的催化作用下生成鞘氨醇-1-磷酸^[9]。S1P 参与调节心肌细胞稳态, 研究表明血浆 S1P 尤其是高密度脂蛋白结合的 S1P 含量与心血管疾病呈负相关, 可能成为心血管疾病的潜在标志物^[10-11]。

Liu 等^[12-13]研究表明异丙肾上腺素 85 mg/kg 皮下注射诱导的大鼠心肌梗死模型和高胆固醇诱导的动脉粥样硬化家兔模型中血浆植物鞘氨醇含量显著升高,另外,植物鞘氨醇蓄积可能是心肌细胞缺氧复氧损伤最重要的特征,它促使心肌细胞线粒体通透性转换孔开放,导致细胞发生凋亡^[14]。本研究中心异丙肾上腺素诱导的心脏肥大大鼠血清中 S1P 下调,植物鞘氨醇上调,与上述文献报道相一致。

心脏衰竭时,心肌糖脂代谢失衡,能量供应不足。代谢组学研究表明心衰时与能量代谢相关的代谢途径如甘油酯代谢、半乳糖代谢、脂肪酸的生物合成及嘌呤代谢等会发生显著改变^[15-16]。本研究检测到异丙肾上腺素诱导的心脏肥大大鼠血清中糖脂代谢中间代谢产物甘油的含量显著上调,代谢通路分析结果表明甘油所参与的甘油酯代谢途径和半乳糖代谢途径都发生改变。二高- γ -亚麻酸,属 N-6 系列多不饱和脂肪酸,是生物合成前列腺素 E1 的前体物质。研究表明急性失代偿性心力衰竭患者血清中二高- γ -亚麻酸(dihomo- γ -linolenic acid, DGLA)含量、花生四烯酸(arachidonic acid, AA)含量和 DGLA/AA 比值越低,存活率越低。N-6 系列多不饱和脂肪酸水平^[17-18],尤其是 DGLA 含量和 DGLA/AA 比值与急性心血管疾病和急性失代偿性心衰患者的临床预后显著相关^[19]。本研究发现异丙肾上腺素诱导的心脏肥大大鼠血清中 DGLA 含量显著下调,进一步代谢通路分析结果表明不饱和脂肪酸合成代谢与异丙肾上腺素诱导的大鼠心脏肥大有关系。另外,心衰时嘌呤代谢也发生明显改变。王真真等^[20]研究表明在冠状动脉结扎诱导的大鼠心衰模型中,心肌黄嘌呤氧化酶(xanthine oxidase, XO)表达显著上调,本研究发现在异丙肾上腺素诱导的大鼠心脏肥大模型中,血清脱氧腺苷含量显著增加,二者都体现了嘌呤分解代谢活跃的特点。脱氧腺苷是腺嘌呤的一种代谢产物,其在心脏肥大发病中的作用尚有待进一步研究。

本文采用代谢组学的分析手段检测了异丙肾上腺素诱导的心脏肥大大鼠血清代谢物的变化,通过多元统计分析,确定了鞘氨醇-1-磷酸、二高- γ -亚麻酸、D-果糖-1,6-二磷酸、脱氧腺嘌呤核苷、N-乙酰蛋氨酸、植物鞘氨醇、尿囊素、3-酮基- β -D-半乳糖、辛酸和甘油 10 个生物标志物,这些代谢物主要与鞘脂代谢、甘油酯代谢、半乳糖代谢、不饱和脂肪酸的生物合成和嘌呤代谢等途径有关。本研究为探索

心脏肥大的发病机制和诊断防治提供了实验依据。

参 考 文 献(References)

- [1] 罗漫,吴晓云,郑敏,等. 心肌细胞肥大过程中心脏发育相关转录因子及下游心脏肥大标志基因的时序性表达规律研究[J]. 解放军医学杂志, 2017, 42(5): 394-401.
Luo M, Wu XY, Zheng M, et al. The temporal expression patterns of the transcription factors and target genes in cardiomyocyte hypertrophy [J]. Med J Chin PLA, 2017, 42(5): 394-401.
- [2] 梁娟,刘越,尹新华. 异丙肾上腺素所致心肌损伤动物模型的研究进展[J]. 中国实验动物学报, 2019, 27(1): 110-114.
Liang J, Liu Y, Yin XH. Research progress of animal models of myocardial injury induced by isoproterenol [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2019, 27(1): 110-114.
- [3] Nichtova Z, Novotova M, Kralova E, et al. Morphological and functional characteristics of models of experimental myocardial injury induced by isoproterenol [J]. Gen Physiol Biophys, 2012, 31(2): 141-151.
- [4] McGarrah RW, Crown SB, Zhang GF, et al. Cardiovascular metabolomics [J]. Circ Res, 2018, 122(9): 1238-1258.
- [5] Cheng S, Shah SH, Corwin EJ, et al. Potential impact and study considerations of metabolomics in cardiovascular health and disease: a scientific statement from the American Heart Association [J]. Circ Cardiovasc Genet, 2017, 10(2): e000032.
- [6] Tang X, Gan XT, Rajapurohitam V, et al. North American ginseng (*Panax quinquefolius*) suppresses β -adrenergic-dependent signalling, hypertrophy, and cardiac dysfunction [J]. Can J Physiol Pharmacol, 2016, 94(12): 1325-1335.
- [7] 盛译萱,李冰涛,张启云,等. 高脂饲料诱导胰岛素抵抗大鼠的代谢机制研究[J]. 中药药理与临床, 2019, 35(3): 185-191.
Sheng YX, Li BT, Zhang QY, et al. Metabolic mechanism of rats with insulin resistance induced by high-fat diet [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2019, 35(3): 185-191.
- [8] 张启云,汤喜兰,李冰涛,等. 黄连总生物碱对糖尿病大鼠的血浆代谢组学研究[J]. 中药药理与临床, 2013, 29(6): 42-45.
Zhang QY, Tang XL, Ling BT, et al. Metabonomics study on the plasma of diabetes rats administrated with total alkaloids from *Rhizoma Coptidis* [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2013, 29(6): 42-45.
- [9] 段海峰,王立生,吴祖泽. 鞘氨醇-1 磷酸盐的生理功能研究进展[J]. 生理科学进展, 2003, 34(1): 16-20.
Duan HF, Wang LS, Wu ZZ. Progress in the study of physiological function of sphingosine 1-phosphate [J]. Prog Physiol Sci, 2003, 34(1): 16-20.
- [10] Diarte-Añazco EMG, Méndez-Lara KA, Pérez A, et al. Novel insights into the role of HDL-associated sphingosine-1-phosphate in cardiometabolic diseases [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(24): E6273.

- [11] Polzin A, Piayda K, Keul P, et al. Plasma sphingosine-1-phosphate concentrations are associated with systolic heart failure in patients with ischemic heart disease [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2017, 110: 35–37.
- [12] Liu YT, Peng JB, Jia HM, et al. UPLC-Q/TOF MS standardized Chinese formula Xin-Ke-Shu for the treatment of atherosclerosis in a rabbit model [J]. *Phytomedicine*, 2014, 21(11): 1364–1372.
- [13] Liu YT, Jia HM, Chang X, et al. Metabolic pathways involved in Xin-Ke-Shu protecting against myocardial infarction in rats using ultra high-performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2014, 90: 35–44.
- [14] Sun LL, Jia HM, Ma LY, et al. Metabolic profiling of hypoxia/reoxygenation injury in H9c2 cells reveals the accumulation of phytosphingosine and the vital role of Dan-Shen in Xin-Ke-Shu [J]. *Phytomedicine*, 2018, 49: 83–94.
- [15] 许文轩, 李彤, 张磊, 等. 急性心肌梗死血浆标志代谢物及相关代谢通路的筛选 [J]. *山东医药*, 2018, 58(7): 23–27.
- Xu WX, Li T, Zhang L, et al. Screening plasma marker metabolites and the related metabolic pathways in acute myocardial infarction [J]. *Shandong Med J*, 2018, 58(7): 23–27.
- [16] Yang DW, Wang XX, Wu YP, et al. Urinary metabolomic profiling reveals the effect of shenfu decoction on chronic heart failure in rats [J]. *Molecules*, 2015, 20(7): 11915–11929.
- [17] Ouchi S, Miyazaki T, Shimada K, et al. Decreased circulating dihomo-gamma-linolenic acid levels are associated with total mortality in patients with acute cardiovascular disease and acute decompensated heart failure [J]. *Lipids Health Dis*, 2017, 16(1): 150.
- [18] Ouchi S, Miyazaki T, Shimada K, et al. Low docosaehaenoic acid, dihomo-gamma-linolenic acid, and arachidonic acid levels associated with long-term mortality in patients with acute decompensated heart failure in different nutritional statuses [J]. *Nutrients*, 2017, 9(9): E956.
- [19] Nagai T, Honda Y, Sugano Y, et al. Circulating omega-6, but not omega-3 polyunsaturated fatty acids, are associated with clinical outcomes in patients with acute decompensated heart failure [J]. *PLoS One*, 2016, 11(11): e0165841.
- [20] 王真真, 刘地川, 杨刚. 别嘌呤醇在心衰大鼠能量代谢中的保护作用 [J]. *临床心血管病杂志*, 2015, 31(1): 89–93.
- Wang ZZ, Liu DC, Yang G. Allopurinol preserves myocardial energy metabolism in chronic heart failure rats [J]. *J Clin Cardiol*, 2015, 31(1): 89–93.

[收稿日期] 2020-03-04