

• 综述 •

评价药物早期心脏毒性的生物标记物研究进展

局 亮, 尹 佳, 周浩楠, 李遇伯*

天津中医药大学 中药学院, 天津 300193

摘要: 目前传统的心脏毒性评价指标乳酸脱氢酶(LDH)、门冬氨酸氨基转移酶(AST)、肌酸激酶(CK)以及肌酸激酶同工酶(CK-MB)等在早期毒性评价中均有局限性, 因此急需灵敏度高、特异性强的生物标记物进行早期心脏毒性评价。随着基因组学、转录组学、蛋白质组学和代谢组学的不断发展, 评价药物早期心脏毒性生物标记物的研究也有了新的进展。对基因类、蛋白类以及代谢小分子类心脏毒性生物标记物的研究进展加以综述, 为进一步对早期心脏毒性生物标记物的研究提供更好的理论支持。

关键词: 早期心脏毒性; 药物评价; 生物标记物; 基因组学; 蛋白质组学; 代谢组学

中图分类号: R282.710.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2015)05-0563-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2015.05.021

Research progress on biomarkers for early prediction of cardiotoxicity in drug evaluation

JU Liang, YIN Jia, ZHOU Hao-nan, LI Yu-bo

Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

Abstract: The traditional evaluation indexes of cardiotoxicity [lactate dehydrogenase (LDH), aspartate transaminase (AST), creatine kinase (CK), and creatine kinase isoenzymes (CK-MB)] in early toxicity evaluation has limitations, so it is urgent to need high sensitivity, specificity of biomarkers for toxicity evaluation in the early stage of cardiotoxicity. With the development of genomics, transcriptomics, proteomics, and metabolomics, the continuous development of the biomarkers for early prediction of cardiotoxicity also get new progress. This study was reviewed from the progress of the biomarkers for early prediction of cardiotoxicity in gene, protein and small molecule metabolism, in order to provide better theoretical support for the study of the biomarkers for early prediction of cardiotoxicity.

Key words: early stage of cardiotoxicity; drug evaluation; biomarkers; genomics; proteomics; metabolomics

随着药物研究的不断深入, 药物的毒性作用评价成为药物安全性评价和二次开发过程中的重要环节之一, 一直受到人们的广泛关注。其中心脏毒性由于发病急、危害大、恢复困难尤被重视。目前, 很多药物在临床应用和药物二次开发过程中都因心脏毒性作用而受到了极大的限制, 但现有的早期心脏毒性评价指标如乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶(CK)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)以及门冬氨酸氨基转移酶(AST)等均在灵敏度和特异性等方面有一定的缺陷^[1]。如 CK-MB 并非为心脏所特有,

它在人体骨骼中也有少量存在。在骨骼肌损伤时 CK-MB 也会出现异常升高, 而且患者的血清 CK-MB 的活性在 2~4 d 内就会恢复至正常水平^[2]。因此, 亟需寻找一种快速、有效的分析方法用于心脏毒性的预测评价, 以有效地降低药物研发成本, 也可对上市药物的毒副反应进行早期预防和监测。

随着系统生物学的快速发展, 作为系统生物学分支的基因组学、转录组学、蛋白质组学以及代谢组学在药物毒性评价中的应用也日益增多。本文将系统生物学中的组学技术为基础, 对文献报道的

收稿日期: 2015-05-28

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81273998)

作者简介: 局 亮(1989—), 男, 中药学硕士研究生, 研究方向为药物代谢。Tel: 18920387757 E-mail: julianggood@163.com

*通信作者 李遇伯, 研究方向为药物代谢。Tel: (020) 59596221 E-mail: yuboli1@163.com

基因类、蛋白类以及代谢小分子类心脏毒性生物标记物的研究进展加以综述,旨在为心脏毒性的早期预测评价新方法的建立提供理论支持,并为后续的整体评价提供依据。

1 基因类心脏毒性生物标记物

基因组学和转录组学的研究在药物毒理学领域的逐步深入,可更全面研究药物的毒理机制,为寻找新的生物标志物以及建立起更加灵敏高效的安全性评价方法提供了新的技术手段与平台。目前,毒理基因组学方法已应用于基因组的生物标志物的发现与识别,生物标志物可以用于预测和评价靶器官毒性。有研究发现微小核糖核酸在急性心肌梗死(AMI)后血浆中的浓度有显著变化,有可能作为心肌损伤早期诊断的标志物^[3]。

microRNA(miRNA)是一类由17~25个核苷酸组成的非编码RNA分子,通过与mRNA的3'-UTR特异性结合,在转录后水平发挥调控作用,可以抑制mRNA的翻译或可诱导之降解。miRNA广泛参与了生物学的过程,通过靶向结合基因中与成熟miRNA互补的序列,调控发育、细胞分化、增殖和凋亡等生命体的生理和病理过程^[3]。有研究表明某些miRNA的变化可以反映AMI患者的心肌损伤情况^[4]。miRNAs可以在血浆、血清、唾液、尿液等多种体液中存在,其中血浆中的miRNA主要以两种形式存在,80%以非囊泡形式存在,与脂质的载体相结合,20%以囊泡形式存在。miRNA种类有很多,其中miR-1、miR-133、miR-499在心肌中富含。Wang等^[5]在大鼠AMI模型实验中发现了miR-1、miR-133a、miR-133b在AMI后发生动态变化。在围术期心梗的研究中,实验结果表明miRNA特别是miR-499在术后6h即可诊断冠状动脉搭桥手术后的心肌梗死,敏感性较高,特异度最高,优于蛋白类标记物^[4]。Gidlöf等^[6]在研究猪缺血再灌注模型中发现,miR-133a在缺血后30min开始增高,2h后达到峰值。大量的相关研究表明在某些病理情况下,miRNA的变化可以反映组织的损伤,因此它们可以作为心脏疾病的标志物。

2 蛋白类心脏毒性生物标记物

蛋白质组学作为后基因时代研究的一个重要内容,是目前生命科学研究领域的热点,已经成为寻找疾病生物标记物和药物靶标最有效的方法之一^[7]。国内外学者利用蛋白组学技术在寻找心脏毒性标记物方面做了大量研究,发现了一些具有潜在价值的心肌

损伤的生物标记物。

2.1 肌钙蛋白

目前,血清肌钙蛋白已成为心肌损伤早期诊断的主要标记物之一^[8]。心肌肌钙蛋白不仅是诊断AMI的重要标志物,也是独立于心电图之外可用于判断梗死灶范围大小及预后的重要血清学指标^[9]。肌钙蛋白又称肌原蛋白(troponin),是心肌细胞内肌纤维上的一种调节蛋白。肌钙蛋白由3个亚基(cTnT、cTnI、cTnC)组成。心肌中主要有cTnT和cTnI两种亚型,由于其灵敏度高,特异性强,被认为是目前最好的心肌损伤标记物。

肌钙蛋白T(cTnT)是心肌细胞特有的蛋白,相对分子质量为 3.7×10^4 ,是钙离子结合亚单位,具有很高的器官特异性。它在心肌细胞内分为两个部分,其中94%与细肌丝结合,6%游离在细胞质中。当心肌细胞膜处于完整状态时,cTnT不能透过细胞膜进入血液循环,因此正常血清中几乎检测不到。但当心肌细胞受损,细胞膜结构受到破坏时,大量的cTnT弥散进入细胞间质,出现在外周血中,使血中浓度升高。一般在心肌损伤后3~6h出现增高,最高值在14~20h,在血中可持续5~7d^[8,9]。由于cTnT具有高度的特异性和灵敏度,因此cTnT浓度不受年龄、性别、心肌损伤部位及溶栓药物种类等的影响^[10]。cTnT作为心肌损伤标志物,除了能够用于AMI的诊断外,还可以用于心绞痛、急性心包炎、围手术期心脏并发症等的诊断,是心血管相关疾病诊断的一个重要依据^[11]。因此,cTnT是一种具有高度特异性和敏感性的监测心肌损伤的血清学指标。

肌钙蛋白I(cTnI)是心肌肌钙蛋白的1个亚单位,位于心肌中的TnI有独特的氨基酸序列,cTnI全蛋白由205个氨基酸组成,相对分子质量 2.4×10^4 ,是一种富含 α 螺旋的蛋白^[11]。cTnI以两种形式存在于心肌中,少量以游离形式存在于胞浆,大部分以结合形式存在于肌原纤维上^[12]。在心肌细胞膜完整的情况下,cTnI不能透过细胞膜,因此正常人血清中含量很低。只有在心肌细胞膜受损时,cTnI才可以被释放入细胞间质,随之进入血液和淋巴液^[13,14]。血液中cTnI水平开始逐渐升高发生在4~6h后,约12~24h达到峰值,并且这种非正常水平可以持续5~9d,诊断窗口期较长^[15]。由于只有少量的cTnI游离于细胞浆中,而大部分以结合形式存在于肌原纤维上,因此,当心肌细胞受到损伤时,首先是游离的cTnI进入血液,然后结合状态的cTnI随着心肌细胞的坏死、结构破坏而释放入

血。故血清 cTnI 浓度呈现双峰状态,窗口持续时间长达数星期,比 CK-MB 宽。研究发现,在 AMI 早期,cTnI 水平变化幅度比 cTnT 更大,显示出较高的敏感性^[12]。还有研究发现,cTnI 不但可以检测到用 CK-MB 无法检测到的微小心肌损伤,而且和 CK-MB 相比,它几乎不受骨骼肌损伤、剧烈运动、肾病等的影响^[13]。cTnI 是一种能够敏感反映心肌坏死情况的血清标记物,是近年来发现的用于心肌损伤相关疾病诊断的生化指标。

2.2 肌红蛋白

肌红蛋白(Mb)是由一条肽链和一个血红素辅基组成的结合蛋白,是横纹肌中的一种氧合肌红蛋白。能够结合并释放氧分子,具有贮藏和运输氧的功能,在心肌损伤后能迅速释放入血。存在于心肌细胞和骨骼肌细胞中,正常人的血液中很少,主要由肾脏代谢并排泄^[16]。Mb 相对分子质量较小,仅 17.8,小于 CK、CK-MB,在心肌细胞膜被破坏后,不用通过淋巴循环就直接迅速地进入血液,早于传统的心肌酶^[17]。当发生急性心肌损伤时,一般在 2~3 h 后开始升高,4~8 h 达到高峰,1 d 后由肾脏清除而恢复正常。Mb 升高的程度和持续时间的长短可反映 AMI 面积和梗死程度,Mb 值越大,表明心肌受损范围越广,坏死越严重^[18]。肌红蛋白在心肌受损早期显著升高,血中的 Mb 出现时间要比血清心肌酶早,而且比血清 CK-MB 的灵敏度要好,但是由于 Mb 还存在于骨骼肌中,心肌特异性较差,因此需要将其与肌钙蛋白联合使用作为 AMI 和早期心肌受损的早期诊断指标^[2,18]。

2.3 脂肪酸结合蛋白

脂肪酸结合蛋白是一族同源性的细胞内小分子蛋白质,其分布广泛,在动物心脏、骨骼肌、肝脏、肠、脑、脂肪等组织细胞内均存在。在一定条件下,它能够通过离子通道的调节作用结合或者释放脂肪酸分子,在摄取、转运以及调节脂肪酸代谢的过程中起重要作用^[19]。心脏型脂肪酸结合蛋白(H-FABP)是近几年发现较有前景的诊断心肌缺血与坏死的早期标志物。H-FABP 具有相对分子质量小、水溶性好、在心肌细胞胞质分布较多等特点。因此当心肌损伤、缺血或坏死时,H-FABP 就会很容易迅速地透过细胞膜而释放到细胞间质,从而进入血液循环^[20,21]。由于心肌细胞对缺血、缺氧很敏感,使心肌细胞内 H-FABP 迅速升高。在心肌损伤 1.5 h 后血中 H-FABP 就开始升高,3~6 h 后达到高峰,6~12 h 有所下降但仍维持较高水平。H-FABP 具有较高的特异性及灵敏性,对 AMI 的早期

诊断优于 CK 和 cTnI,是一种新的、有重要临床价值的心肌损伤标志物之一^[21]。

3 代谢小分子类心脏毒性生物标记物

代谢组学作为一个新生的系统生物学的学科,旨在通过研究生物系统潜在的代谢标记物,为生物系统提供准确、动态的代谢网络图^[22]。随着色谱/质谱联用[如气相色谱-质谱联用(GC-MS)、液相色谱-质谱联用(LC-MS)]以及核磁技术的不断发展,代谢组学作为代谢终端的研究手段,在毒性预测方面能够作为毒性反应很好的表型,具有灵敏度高、覆盖面广和重现性好的特点。在机体不同阶段的内源性物质变化与机体实时动态变化分析等方面,代谢组学可以在代谢层面上提供更好的解释,这对于药物毒性作用机制的阐释也有很好的推动作用^[23]。

机体代谢物数量比较庞大,本文总结了以附子、阿霉素(DOX)、异丙肾上腺素(ISO)为毒性诱因的脂肪酸类、磷脂类、氨基酸类以及类固醇类心脏毒性代谢组学生物标记物,见表 1。

3.1 脂肪酸类物质

脂肪酸是所有细胞膜的重要成分,包括内皮细胞和心肌细胞^[24]。脂肪酸及其结合物主要涉及饱和脂肪酸的氧化和不饱和脂肪酸的过氧化等代谢通路。脂肪酸的 β 氧化作为心肌细胞线粒体功能的重要途径,与心脏的糖代谢紧紧关联,从而与心肌细胞的凋亡密切相关。不饱和脂肪酸的过氧化反应异常可能引起心肌线粒体过度氧化损伤,从而引起心脏毒性。同时,脂肪酸代谢的异常可以引起饱和脂肪酸水平的上升^[25]。花生四烯酸在血清中的升高会加重对心肌的脂毒性^[26]。目前,在采用 ISO 及附子诱导的大鼠心脏毒性模型中,基于 UPLC-Q-TOF/MS 的检测手段,包括硬脂酸、5-十三碳烯酸、花生四烯酸、十二碳五烯酸、亚油酸、二十二碳六烯酸、棕榈酸、十八碳烯酸等生物标记物被筛选获得^[25,27-31]。

3.2 磷脂类

磷脂酰丝氨酸(PS)、磷脂酰乙醇胺(PE)、溶血磷脂酰乙醇胺(LPE)、磷脂酰胆碱(PC)和溶血磷脂酰胆碱(LPC)等,作为内源性磷脂在生物体代谢过程中起到至关重要的作用。目前的研究中,PS、LC、LPC、PE 以及 LPE 类物质在心脏毒性进程中出现了显著性变化^[25,28-30,32,33]。这类物质主要涉及磷脂代谢和鞘脂类代谢等代谢途径。磷脂代谢的紊乱与心肌组织的生理病理变化息息相关^[25,34]。在心肌受损过程中,溶血卵磷脂的减少和脂肪酸的各种转变可能是由于膜磷

表 1 文献报道的心脏毒性代谢组学生物标记物
Table 1 Reported metabolomic biomarkers of cardiotoxicity

类别	中文名称	毒性诱因	检测技术	含量变化	样品	文献
脂肪酸类	硬脂酸	附子	LC-MS	↑	组织、血浆	25,27,29,31
	5-十三碳烯酸	附子	LC-MS	↑	组织	25
	花生四烯酸	附子、DOX	LC-MS/GC-MS	↓	组织、血浆	25,27,31
		DOX、ISO	LC-MS	↑	血浆	28~30
	亚油酸	附子、DOX	LC-MS/GC-MS	↓	组织	25,27,29,31
	十二碳五烯酸	附子	LC-MS	↓	组织	25
	二十二碳六烯酸	ISO	LC-MS	↓	血浆	29,30
	棕榈酸	ISO	LC-MS	↑	血浆	29
	十八烯酸	ISO	LC-MS	↓	血浆	29,31
	磷脂类	磷脂酰胆碱 (18:4)	ISO	LC-MS	↓	血浆
溶血卵磷脂 (15:1)		ISO	LC-MS	↓	血浆	29
溶血卵磷脂 (16:0)		附子、ISO	LC-MS	↑	组织、血浆	25,33
				↓	血浆	29,30
溶血卵磷脂 (16:1)		DOX	LC-MS	↓	血浆	28
溶血卵磷脂 (18:0)		附子	LC-MS	↑	组织	25
				↓	血浆	28,29,32,33
溶血卵磷脂 (18:1)		ISO	LC-MS	↓	血浆	28,33
溶血卵磷脂 (18:2)		ISO	LC-MS	↓	血浆	29,30,33
溶血卵磷脂 (18:3)		DOX	LC-MS	↓	血浆	28
溶血卵磷脂 (20:3)		DOX	LC-MS	↑	血浆	28
				↓	血浆	32
溶血卵磷脂 (20:4)		DOX、ISO	LC-MS	↓	血浆	28,33
溶血卵磷脂 (22:2)		DOX	LC-MS	↑	血浆	28
溶血卵磷脂 (22:4)		DOX、附子	LC-MS	↓	血浆	28,29
溶血卵磷脂 (22:5)		DOX、附子	LC-MS	↓	血浆	28,33
溶血卵磷脂 (22:6)		附子、ISO	LC-MS	↓	组织、血浆	25,28
氨基酸类	L-丙氨酸	DOX	GC-MS	↑	组织	27
	L-甘氨酸	DOX	GC-MS	↑	组织	27
				↓	血浆	32
	L-脯氨酸	DOX	GC-MS	↑	组织	27
	L-谷氨酰胺	DOX	GC-MS	↑	组织	27
	L-苯丙氨酸	DOX	GC-MS/LC-MS	↑	组织、血浆	27,42
	缬氨酸	DOX	LC-MS	↓	血浆	28
	L-色氨酸	附子、DOX	LC-MS	↑	血浆、尿液	30,31,42
	L-异亮酰-L-脯氨酸	ISO	LC-MS	↑	血浆	42
	谷氨酰胺	ISO	LC-MS	↓	血浆	31
	羟脯氨酸	ISO	LC-MS	↓	血浆	31
	丝氨酸	ISO	LC-MS	↑	血浆	31
类固醇类	胆固醇	DOX	GC-MS	↑	组织	27
	甘胆酸	DOX	LC-MS	↓	血浆	28
	胆酸	DOX	LC-MS	↑	尿液	42

续表 1

类别	中文名称	毒性诱因	检测技术	含量变化	样品	文献
糖代谢类	α -酮戊二酸	ISO	LC-MS	↑	血浆	31
	苹果酸	DOX	GC-MS	↑	组织	27
	葡萄糖	DOX	GC-MS	↑	组织	27
	果糖	DOX	GC-MS	↑	组织	27
	琥珀酸	DOX	GC-MS	↑	组织	27
鞘脂类	鞘氨醇	附子	LC-MS	↑	组织、血浆	25,28
	二氢鞘氨醇	DOX	LC-MS	↓	血浆	28
	植物鞘氨醇	DOX、ISO	LC-MS	↑	血浆	28、33
		附子			↓	30
有机酸类	枸橼酸	ISO	LC-MS	↑	血浆	31
	泛酸	ISO	LC-MS	↓	血浆	32
	牛磺酸	ISO	LC-MS	↓	血浆	32
肉碱类	L-氯化棕榈酰肉碱	ISO	LC-MS	↑	血浆	30,32
	L-乙酰肉碱	ISO	LC-MS	↑	血浆	30
	异丁酰基左旋肉碱	ISO	LC-MS	↑	血浆	30

脂的破裂^[29]。磷脂降解加速导致的 ISO 处理的大鼠心肌损伤先前已有报道^[35]。这些改变可归因于磷脂酶 A2 的激活,其介导特定的脂肪酸从溶血卵磷脂释放^[35]。因此可以推测,如蛋白激酶 C (PKC) 途径的活化等的若干生物因素会增强磷脂酶 A2 的活性,使溶血卵磷脂的产生减少^[32,37]。一些研究已经表明,在心脏的磷脂酶 A2 对含有磷脂的花生四烯酸是有选择性的^[38,39]。在任何情况下,脂肪酸以及溶血卵磷脂降解的各种紊乱都表示基层脂质紊乱的存在,并且其与心脏毒性的形成相关。此外,LPL-R 作为 G 蛋白偶联受体中的一部分,当 LPC 类物质发生改变之后,将对其信使作用产生影响,将进一步导致细胞代谢的紊乱^[40]。

3.3 氨基酸及其衍生物

氨基酸及其衍生物作为生物体生命运动中最重要基本物质之一,参与各种能量与物质代谢。在目前的研究中,基于代谢组学检测技术,在药源性动物心脏毒性模型中发现氨基酸及其衍生物出现了显著性的变化。这些氨基酸代谢异常情况可能都与在心肌受损过程中能量代谢异常密切相关。支链氨基酸在心肌缺血时是心脏的一个重要的替代性能量底物^[41]。此外,由于脂肪酸的 β 氧化和柠檬酸循环的抑制而造成的三磷酸腺苷 (ATP) 产生的减少将导致心肌利用支链氨基酸作为能量补偿。其他 α -氨基酸代谢,包括苏氨酸、丙氨酸、甘氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸和谷氨酰胺在心脏毒性组中含量也有变化, α -氨基酸是重要的能量代谢的前体,并可以转化为一些生物分子,如丙酮酸、2-酮戊二酸及富马酸盐,进入柠檬酸循环^[27,28,30-33,42]。另外有一种可能的猜测是,毒性药物造成的氧化应激

导致氨基酸代谢重塑,以满足心肌的能量需求^[43]。

3.4 类固醇类和激素类衍生物

类固醇类物质以及激素类物质是体内基础代谢调节的重要物质。在目前心脏毒性的研究中,胆固醇、胆酸、甘氨酸均作为心脏毒性生物标记物^[27-28,42]。胆汁酸可使心肌细胞内钙超载,引起心肌细胞的负性变时性效应,也可影响心肌细胞的动作电位时程,从而导致心律失常的发生。此外还发现心肌细胞上具有毒蕈碱受体及胆汁酸转运体,且已有研究证实胆汁酸可通过 M_2 型毒蕈碱受体抑制心肌细胞的收缩^[44]。有研究表明甘氨酸作为胆汁酸的一种,在心肌细胞中加入甘氨酸后,心肌细胞收缩率明显升高^[42]。此外,作为类固醇代谢中间产物,甘氨酸还可能通过心肌细胞过氧化脂质化以及心内膜内皮细胞受损而影响心脏正常的生理功能^[45-46]。

3.5 其他小分子代谢物

在目前心脏毒性研究过程中,诸如糖代谢过程中的物质 (α -酮戊二酸、苹果酸、葡萄糖、果糖和琥珀酸)、鞘脂类物质 (鞘氨醇、二氢鞘氨醇和植物鞘氨醇)、有机酸类 (枸橼酸、泛酸、牛磺酸) 以及肉碱类 (L-氯化棕榈酰肉碱、L-乙酰肉碱、异丁酰基左旋肉碱) 等物质均作为心脏毒性生物标记物通过代谢组学的分析筛选获得^[25,27-28,30-33]。这些物质可能在细胞生长、分化^[25,28]以及能量代谢^[27,47]等方面影响心脏正常的生理功能。

4 结语

药物进入机体到毒性暴露存在一定的时间,如何运用现有的技术更早地发现药物毒性是早期预测

的意义所在。与传统的检测指标相比,基于系统生物学的组学技术获得的生物标记物,在特异性和灵敏度等方面均更具优势。诸如 cTnt 等蛋白类的检测指标已经在临床的心脏毒性的诊断和预测方面有了较好的应用。随着组学技术的不断更新,越来越多的生物标记物将会被发现,并进一步为药物毒性的诊断和预测提供帮助。

与此同时,有关代谢组学对心脏毒性评价方法的研究也取得了一定的进步。目前,已经研究出一套心脏毒性早期预测生物标记物筛选、验证及优化的系统评价方法^[48]。该方法通过结合支持向量机的应用,为心脏毒性的早期预测评价提供了更加灵敏可靠的方法。这种检测速度快、特异性好、准确率高且创伤小的方式在药物安全性评价中更加具有应用前景。相信在不久的将来,这种检测方法也将结合计算机技术得到更好的推广应用。

在不久的将来,研究着可以结合对前人工作的整理概括,综合运用系统生物中的组学技术,充分发挥基因组、转录组、蛋白质组以及代谢组学技术的优势,结合网络药理学的研究思路对心脏毒性的机制做出全面的分析考察。通过对心脏毒性发生过程中的机体的系统的评价研究,为心脏毒性的预防、监测、评价以及后续用药安全提供更为全面的依据以及更加合理的解决方案。

参考文献

- [1] Tonomura Y, Mori Y, Torii M, *et al.* Evaluation of the usefulness of biomarkers for cardiac and skeletal myotoxicity in rats [J]. *Toxicology*, 2009, 266(1): 48-54.
- [2] 白莲莲. 肌红蛋白和肌钙蛋白 I 联合检测在急性心肌梗死中的临床意义 [J]. 中国卫生产业, 2013 (2): 128.
- [3] 龙浏城, 向定成. 微小核糖核酸能否作为急性心肌梗死的未来标志物 [J]. 中国循环杂志, 2015, 1: 84-86.
- [4] 姚优修. 微小 RNA 对心肌损伤的动态评价及围术期心梗的早期预警&通气有效性预测心衰存活的研究 [D]. 北京: 北京协和医学院, 2014.
- [5] Wang G K, Zhu J Q, Zhang J T, *et al.* Circulating microRNA: a novel potential biomarker for early diagnosis of acute myocardial infarction in humans [J]. *Europ Heart J*, 2010, 31(6): 659-666.
- [6] Gidlöf O, Andersson P, vander Pals J, *et al.* Cardiospecific microRNA plasma levels correlate with troponin and cardiac function in patients with ST elevation myocardial infarction, are selectively dependent on renal elimination, and can be detected in urine samples [J]. *Cardiology*, 2011, 118(4): 217-226.
- [7] 王凯. 单纯性室间隔缺损的血浆差异蛋白质组学研究 [D]. 天津: 天津医科大学, 2014.
- [8] 黎荣忠. 血清肌钙蛋白和肌红蛋白在急性心肌梗死诊断中的临床应用 [J]. 大家健康, 2014(1): 89.
- [9] 王奕忠, 陈永丰, 杨宏生. 血清肌钙蛋白 T 和肌红蛋白测定在急性心肌梗塞患者早期诊断中的意义 [J]. 河北医学, 2010, 16(5): 524-525.
- [10] 何华, 林鹏, 方先松, 等. 肌红蛋白, 高敏肌钙蛋白 T 联合检测在急性心肌梗死诊断中的应用价值研究 [J]. 赣南医学院学报, 2014, 34(2): 278-279.
- [11] 尹焕才, 唐玉国, 王弼陡, 等. 心肌肌钙蛋白 I 与 AMI 诊断及其检测方法研究综述 [J]. 现代生物医学进展, 2010, 10(19): 3782.
- [12] 贾晓冰. 定量检测急性心肌梗死心肌肌钙蛋白 I 的临床意义 [J]. 中国处方药, 2015, 2: 115.
- [13] 史占林, 付红芹. 心肌酶, 肌钙蛋白 I, 肌红蛋白的联合应用在急性心肌梗死诊断中的意义 [J]. 中国保健营养, 2013, 8: 1682.
- [14] 罗晓丽. 血清肌红蛋白, 肌钙蛋白, 肌酸激酶对急性心肌梗死的诊断价值 [J]. 内蒙古中医药, 2012, 31(3): 90-91.
- [15] 黄伟斌, 姚广裕, 刘民锋, 等. 心肌钙蛋白 I 对蒽环类化疗的乳腺癌患者心脏毒性的预测价值 [J]. 南方医科大学学报, 2011, 31(6): 1047-1050.
- [16] 陈国浩, 黄锦洲, 吴启. 肌红蛋白和心肌肌钙蛋白 I 联合快速检测对急性心肌梗死的早期诊断价值及预后评价 [J]. 中外医疗, 2010, 29(28): 5-6.
- [17] 刘志权, 帅进秋, 陈浩. 肌红蛋白检测对急性心肌梗死早期诊断的临床意义 [J]. 现代医药卫生, 2014, 30(6): 828-829.
- [18] 吴金锁, 田丽丽. 肌红蛋白心肌标志物的临床应用及评估 [J]. 疾病监测与控制杂志, 2014 (4): 260-261.
- [19] 李东千. 心脏型脂肪酸结合蛋白在急性心肌梗死早期诊断中的应用价值 [J]. 内蒙古中医药, 2012, 31(15): 84-85.
- [20] 齐珍珍, 张颖丽, 王三龙, 等. 异丙肾上腺素致 SD 大鼠心肌损伤标志物的研究 [J]. 生物医学工程研究, 2014, 33(4): 244.
- [21] 王亚蓉, 郭壮波, 黄丽萍. 三种心肌损伤标志物对早期急性心肌梗死的诊断价值 [J]. 南方医科大学学报, 2014, 34(9): 1347-1350.
- [22] Wang-Sattler R, Yu Z, Herder C. Novel biomarkers for prediabetes identified by metabolomics [J]. *Mol Syst Biol*, 2012, 8: 615.
- [23] Ramirez T, Daneshian M, Kamp H, *et al.* Metabolomics in toxicology and preclinical research [J]. *Altex*, 2013, 30(2): 209.
- [24] Das U N. Can essential fatty acids reduce the burden of disease (s) [J]. *Lip Health Dis*, 2008, 7(9). doi: 10.1186/1476-511X-7-9.
- [25] Cai Y, Gao Y, Tan G, *et al.* Myocardial lipidomics

- profiling delineate the toxicity of traditional Chinese medicine *Aconiti Lateralis radix praeparata* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 147(2): 349-356.
- [26] Hjelte L E, Nilsson Å. Arachidonic acid and ischemic heart disease [J]. *J Nutrition*, 2005, 135(9): 2271-2273.
- [27] Tan G, Lou Z, Liao W, et al. Potential biomarkers in mouse myocardium of doxorubicin-induced cardiomyopathy: a metabolomic method and its application [J]. *PLoS One*, 2011, 6(11): e27683.
- [28] Li Y, Zhang X, Zhou H, et al. Toxicity analysis of doxorubicin using plasma metabolomics technology based on rapid resolution liquid chromatography coupled with quadruple-time-of-flight mass spectrometry [J]. *Analyt Methods*, 2014, 6(15): 5909-5917.
- [29] Zhang H, Chen X, Hu P, et al. Metabolomic profiling of rat serum associated with isoproterenol-induced myocardial infarction using ultra-performance liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry and multivariate analysis [J]. *Talanta*, 2009, 79(2): 254-259.
- [30] Liu Y, Jia H, 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.
- [31] 严 蓓, 阿基业, 郝海平, 等. 基于血浆和心肌内小分子的代谢组学方法评价心肌缺血大鼠模型 [J]. *药学报*, 2013, 48(1): 104-112.
- [32] Liu Y, Jia H, Chang X, et al. The metabolic disturbances of isoproterenol induced myocardial infarction in rats based on a tissue targeted metabolomics [J]. *Mol Bio Syst*, 2013, 9(11): 2823-2834.
- [33] Wang X, Wang H, Zhang A, et al. Metabolomics study on the toxicity of aconite root and its processed products using ultraperformance liquid-chromatography/electrospray-ionization synapt high-definition mass spectrometry coupled with pattern recognition approach and ingenuity pathways analysis [J]. *J Prot Res*, 2011, 11(2): 1284-1301.
- [34] Xu Y, Xiao Y J, Zhu K, et al. Unfolding the pathophysiological role of bioactive lysophospholipids [J]. *Cur Drug Targets-Immune End Metab Dis*, 2003, 3(1): 23-32.
- [35] Al Makdessi S, Andrieu J L, Herilier H, et al. Effect of isoproterenol on the metabolism of myocardial fatty acids [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 1987, 19(2): 141-149.
- [36] Starkopf J, Andreassen T V, Bugge E, et al. Lipid peroxidation, arachidonic acid and products of the lipoxygenase pathway in ischaemic preconditioning of rat heart [J]. *Cardiov Res*, 1998, 37(1): 66-75.
- [37] Campos V R, Abreu P A, Castro H C, et al. Synthesis, biological, and theoretical evaluations of new 1, 2, 3-triazoles against the hemolytic profile of the *Lachesis muta snake* venom [J]. *Bioorg Med Chem*, 2009, 17(21): 7429-7434.
- [38] Wolf R A, Gross R W. Identification of neutral active phospholipase C which hydrolyzes choline glycerophospholipids and plasmalogen selective phospholipase A2 in canine myocardium [J]. *J Biol Chem*, 1985, 260(12): 7295-7303.
- [39] Maggi L B, Moran J M, Scarim A L, et al. Novel role for calcium-independent phospholipase a2 in the macrophage antiviral response of inducible nitric-oxide synthase expression [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(41): 38449-38455.
- [40] Drzazga A, Sowińska A, Koziolkiewicz M. Lysophosphatidylcholine and lysophosphatidylinositol- novel promising signaling molecules and their possible therapeutic activity [J]. *Acta Poloniae Pharmace*, 2013, 71(6): 887-899.
- [41] Verpoorte R, Choi Y H, Kim H K. Ethnopharmacology and systems biology: a perfect holistic match [J]. *J Ethnopharmacol*, 2005, 100(1): 53-56.
- [42] Wang J, Reijmers T, Chen L, et al. Systems toxicology study of doxorubicin on rats using ultra performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry based metabolomics [J]. *Metabolomics*, 2009, 5(4): 407-418.
- [43] Carvalho R A, Sousa R P B, Cadete V J J, et al. Metabolic remodeling associated with subchronic doxorubicin cardiomyopathy [J]. *Toxicology*, 2010, 270(2): 92-98.
- [44] 刘俊杰, 邵 勇, 钢 芳. 胆汁酸对哺乳动物心脏功能的影响及调节机制研究进展 [J]. *生命科学研究*, 2014, 18(2): 167-172.
- [45] Brito M A, Lima S, Fernandes A, et al. Bilirubin injury to neurons: contribution of oxidative stress and rescue by glyoursodeoxycholic acid [J]. *Neurotoxicology*, 2008, 29(2): 259-269.
- [46] Raja B, Saravanakumar M, Sathya G. Veratric acid ameliorates hyperlipidemia and oxidative stress in Wistar rats fed an atherogenic diet [J]. *Mol Cell Biochem*, 2012, 366(1/2): 21-30.
- [47] Schulz T J, Westermann D, Isken F, et al. Activation of mitochondrial energy metabolism protects against cardiac failure [J]. *Aging (Albany NY)*, 2010, 2(11): 843.
- [48] Li Y B, Ju L, Hou Z G, et al. Screening, verification and optimization of biomarkers for early prediction of cardiotoxicity based on metabolomics [J]. *J Prot Res*, 2015, 14(6): 2437-2445.