

【实验研究】

注射用益气复脉(冻干)对心力衰竭合并高血压大鼠的药效及代谢组学研究

杜 韩¹, 原 景¹, 魏 栋¹, 万梅绪^{2, 3}, 张燕欣^{2, 3}, 李 智^{2, 3}, 宋美珍^{2, 3}, 李德坤^{2, 3}, 鞠爱春^{2, 3*}, 叶正良^{4*}

1. 天津中医药大学, 天津 301617

2. 天津天士力之骄药业有限公司, 天津 300410

3. 天津市中药注射剂安全性评价企业重点实验室, 天津 300410

4. 天士力医药集团股份有限公司, 天津 300402

摘要: 目的 探讨注射用益气复脉(冻干)(YQFM)对心力衰竭合并高血压大鼠的药效作用及可能的代谢通路。方法 构建结扎腹主动脉及肾动脉导致的心衰合并高血压大鼠模型, 根据血压值随机分为模型组和YQFM组; 假手术组进行同样操作但不结扎。每天尾iv给药1次, 连续给药14 d。给药前后采用八通道无创血压仪检测大鼠血压; 采用超声诊断仪检测大鼠心功能; 采用ELISA法检测给药后大鼠血清心衰相关生化指标肌酸激酶同工酶(CK-MB)、心肌特异性肌钙蛋白T(cTnT)、脑钠肽(BNP)、氨基端前心钠肽(NT-proANP)和乳酸脱氢酶(LDH), 血压相关生化指标肾素(Renin)、血管紧张素II(Ang II)、血管紧张素转化酶1(ACE1)、血管紧张素原(aGT)水平; 采用液相色谱质谱联用(LC-MS)法分析大鼠血清差异代谢物, 将筛选出的差异性代谢物进行代谢通路富集分析。**结果** 与假手术组相比, 模型组大鼠左室射血分数(LVEF)、左室短轴缩短率(LVFS)显著降低($P<0.001$), 收缩压(SBP)显著升高($P<0.001$), NT-proANP、BNP、CK-MB、cTnT、LDH、Renin、aGT、ACE1和AngII水平均显著升高($P<0.001$); 与模型组相比, YQFM组的LVEF、LVFS均显著升高($P<0.001$), SBP显著降低($P<0.001$), 血清NT-proANP、BNP、CK-MB、cTnT、LDH、Renin、aGT、ACE1和AngII水平显著降低($P<0.001$)。YQFM可能的作用通路为戊糖、葡萄糖醛酸转换, 醚脂代谢, 甘油磷脂代谢, 嘌呤代谢及色氨酸代谢。**结论** YQFM可以改善心衰合并高血压大鼠的心功能、血压水平及相关生化指标, 其可能的作用代谢通路为戊糖、葡萄糖醛酸转换, 醚脂代谢, 甘油磷脂代谢, 嘌呤代谢及色氨酸代谢。

关键词: 注射用益气复脉(冻干); 心力衰竭合并高血压; 代谢组学; 戊糖、葡萄糖醛酸转换; 醚脂代谢; 甘油磷脂代谢; 嘌呤代谢; 色氨酸代谢

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2023)08-1629-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.08.001

Pharmacodynamics and metabolomics study of Yiqi Fumai Lyophilized Injection on rats with heart failure and hypertension

DU Han¹, YUAN Jing¹, WEI Dong¹, WAN Meixu^{2, 3}, ZHANG Yanxin^{2, 3}, LI Zhi^{2, 3}, SONG Meizhen^{2, 3}, LI Dekun^{2, 3}, JU Aichun^{2, 3}, YE Zhengliang⁴

1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

2. Tianjin Tasly Pride Pharmaceutical Co., Ltd., Tianjin 300410, China

3. Tianjin Key Laboratory of Safety Evaluation Enterprise of TCM Injections, Tianjin 300410, China

4. Tasly Pharmaceutical Co., Ltd., Tianjin 300402, China

Abstract: **Objective** To investigate the pharmacodynamic effect and possible metabolic pathway of Yiqi Fumai Lyophilized Injection (YQFM) on rats with heart failure and hypertension. **Methods** Heart failure with hypertension rats induced by ligation of abdominal aorta and renal artery were constructed. According to the blood pressure values were randomly divided into model group and YQFM group; another rats were taken as the sham-operated group for the same operation without ligation. The drug was given

收稿日期: 2023-05-25

第一作者: 杜 韩, 女, 硕士研究生, 研究方向为中药药理及药物分析。E-mail: 2785501644@qq.com

*共同通信作者: 鞠爱春, 男, 正高级工程师, 研究方向为中药注射剂工艺及质量控制。E-mail: juach@tasly.com

叶正良, 男, 研究员, 研究方向为中药质量标准。E-mail: yezl@tasly.com

once a day for 14 days by tail iv. The cardiac function of rats was detected by ultrasonic diagnostic apparatus and the blood pressure of rats was detected by eight-channel non-invasive blood pressure meter before and after administration. Serum CK-MB, cTnT, BNP, NT-proANP, LDH, Renin, Ang II, ACE1 and aGT level were detected by ELISA. LC-MS was used to analyze the differential metabolites in rat serum to find differential metabolites and metabolic pathways. **Results** Compared with sham-operated group, the LVEF and LVFS of the model group were significantly decreased ($P < 0.001$), the SBP of the model group increased significantly after modeling ($P < 0.001$), and the levels of NT-proANP, BNP, CK-MB, cTnT, LDH, Renin, aGT, ACE1 and AngII in the model group were significantly increased ($P < 0.001$). Compared with the model group, the LVEF and LVFS of YQFM group were significantly increased ($P < 0.001$), SBP was significantly decreased after administration of YQFM ($P < 0.001$), the levels of NT-proANP, BNP, CK-MB, cTnT, LDH, Renin, aGT, ACE1 and AngII in serum were significantly decreased after YQFM administration ($P < 0.001$). The possible action pathway of YQFM pathway may be pentose, glucuronate interconversions, ether lipid metabolism, glycerophospholipid metabolism, purine metabolism and tryptophan metabolism. **Conclusion** YQFM can improve the heart function, blood pressure level and related biochemical indexes of rats with heart failure and hypertension. The metabolic pathways may be pentose, glucuronate interconversions, ether lipid metabolism, glycerophospholipid metabolism, purine metabolism and tryptophan metabolism.

Key words: Yiqi Fumai Lyophilized Injection; heart failure with hypertension; metabolomics; pentose, glucuronate interconversions; ether lipid metabolism; glycerophospholipid metabolism; purine metabolism; tryptophan metabolism

高血压是一种常见的心血管系统疾病,主要表现为体循环动脉压增高^[1]。长期的血压增高是心血管系统疾病的主要危险因素,其中心力衰竭是高血压最常见的同时也是最为严重的并发症之一。研究表明,心衰合并高血压具有发病率高、患者预后差、死亡率高等特点,患者在患病后,不仅血压会异常升高,而且心功能也会出现异常^[2]。长期有效地控制血压可以在一定程度上降低心衰发生的风险^[3]。

注射用益气复脉(冻干)(YQFM)来源于经典古方生脉散,是以红参、麦冬、五味子3味药经过现代工艺提取而制成的中药冻干粉针剂^[4-5]。在临床上主要用于治疗冠心病劳累型心绞痛及慢性左心功能不全等多种心血管系统疾病。有研究表明,YQFM可以减轻心衰合并高血压患者的症状,控制血压,改善心功能,抑制心脏重构^[6-7]。

本研究建立心衰合并高血压大鼠模型,探讨YQFM对心衰合并高血压的药效作用,同时从代谢组学角度探讨其可能的作用机制,以期为临床上YQFM治疗心衰合并高血压提供参考。

1 材料

1.1 药品和主要试剂

YQFM(天津天士力之骄药业有限公司,批号20201219,规格:每瓶装0.65 g,相当于红参0.5 g、五味子0.75 g和麦冬1.5 g);0.9%氯化钠注射液(石家庄四药有限公司);异氟烷(友诚生物科技有限公司);大鼠肌酸激酶同工酶(CK-MB)、心肌特异性肌钙蛋白T(cTnT)、脑钠肽(BNP)、氨基端前心钠肽(NT-proANP)、乳酸脱氢酶(LDH)、肾

素(Renin)、血管紧张素II(Ang II)、血管紧张素转化酶1(ACE1)、血管紧张素原(aGT)ELISA检测试剂盒均购自于上海酶联生物科技有限公司;甲醇、乙腈(LC-MS级,CNW Technologies);乙酸铵(LC-MS级,SIGMA-ALDRICH);乙酸(LC-MS级,Fisher Chemical)。

1.2 主要仪器

150W数显双光纤医用冷光源(北京市科仪电光仪器厂);CODA八通道无创血压仪(美国KENT公司);ST16R高速冷冻离心机(赛默飞世尔科技中国有限公司);Infinite M200多功能酶标仪(瑞士TECAN公司);Vanquish超高效液相色谱仪(Thermo Fisher Scientific);Orbitrap Exploris 120高分辨质谱(Thermo Fisher Scientific)。

1.3 实验动物

SPF级SD雄性大鼠,6周龄,体质量为150~180 g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,实验动物生产许可证号SCXK(京)2021-0011。饲养环境为SPF级,温度(23±1)℃、湿度30%~40%,12 h/12 h明暗循环光照控制,饲养期间自由食用SPF级动物维持饲料和经灭菌处理过的饮用水。动物实验经天士力医药集团股份有限公司实验动物管理及福利伦理委员会批准,实验动物伦理号为TSL-IACUC-2022-45。

2 方法

2.1 动物模型构建

实验前12 h给予大鼠禁食、不禁水,通过小动物麻醉机吸入异氟烷进行诱导麻醉,仰卧位固定大

鼠,剃除腹部毛发,开口,找到肾动脉,将银夹放置于肾动脉接近腹主动脉侧,在肾动脉分支上0.5 cm处找到游离的腹主动脉,平行放置经打磨光滑的7号注射器针头,用缝合线动脉与针头一并结扎后,抽出针头剪去多余线头。将器官归位,进行缝合。假手术组大鼠与模型大鼠处理一致,但不结扎^[8-9]。

2.2 动物分组与给药

除假手术组外,其余大鼠通过多通道无创血压仪检测血压,将符合高血压以及左室射血分数(LVEF)≤45%条件的大鼠随机分为模型组、YQFM(464.3 mg·kg⁻¹,临床等效剂量,尾iv给药)组,模型组与假手术组大鼠分别给予等体积的0.9%氯化钠注射液,每天给药1次,连续给药14 d。

2.3 大鼠心脏超声检测

用超声诊断仪检测给药后大鼠LVEF、左室短轴缩短率(LVFS)。

2.4 大鼠尾部血压检测

将多通道无创血压仪与电脑主机相连,打开加热板,调节加热时间及功率,选择合适的大鼠固定器,将大鼠套入其中,打开软件,当大鼠稳定并且鼠尾根部温度达到30~35℃时,进行收缩压(SBP)检测,记录给药前后血压变化。

2.5 血清生化指标检测

末次给药后对大鼠进行解剖,腹主动脉取血,分成2管,取其中1管静置30 min,放入高速低温离心机中3 000 r·min⁻¹离心10 min,吸取上层血清,按照ELISA试剂盒说明书检测CK-MB、cTnT、BNP、NT-proANP、LDH、Renin、Ang II、ACE1、aGT水平。

2.6 血清代谢组学检测

2.6.1 血清样品前处理 取“2.5”项下另1管全血,静置1 h,室温3 000 r·min⁻¹离心10 min,取上清,4℃,12 000 r·min⁻¹离心10 min,冻存于-80℃。使用微量移液器移取100 μL血清,按照体积比1:3的比例加入提取液(甲醇,含同位素标记内标混合物),涡旋混匀,置于冰水中超声10 min,在-40℃静置1 h;然后将样品4℃、12 000 r·min⁻¹离心15 min,吸取部分上清液转移至进样瓶中;此外,将所有样品另取等量的上清液混合制成QC样品。

2.6.2 液相色谱质谱联用(LC-MS)检测条件 本实验所使用的分析仪器为Thermo Fisher Scientific公司的Vanquish超高效液相色谱仪,通过Waters ACQUITY UPLC HSS T3(100 mm×2.1 mm,1.8 μm)液相色谱柱对目标化合物进行色谱分离。液相色谱A相为水相,含5 mmol·L⁻¹乙酸铵和5 mmol·L⁻¹

乙酸;B相为乙腈,具体梯度洗脱条件见表1。进样室温度为4℃,柱温为35℃。

Orbitrap Exploris 120质谱仪能够在控制软件(Xcalibur,版本:4.4,Thermo)控制下进行一级、二级质谱数据采集。详细参数如下:鞘气体积流量50 Arb,辅助气体积流量15 Arb,离子传输管温度320℃,Full ms resolution: 60 000,MS/MS resolution: 15 000,Collision energy: 10/30/60 in NCE mode,喷雾电压3.8 kV(positive)或-3.4 kV(negative)。

表1 梯度洗脱条件

Table 1 Gradient elution conditions

t/min	A/%	B/%	体积流量/(mL·min ⁻¹)
0	99	1	0.35
0.7	99	1	0.35
9.5	1	99	0.35
11.8	1	99	0.50
12.0	99	1	0.50
14.6	99	1	0.50
14.8	99	1	0.35
15.0	99	1	0.35

2.7 统计学分析

数据采用SPSS 21.0软件进行分析,以 $\bar{x}\pm s$ 表示,数据组间比较均采用单因素方差分析(one-way ANOVA)。两组间比较采用 t 检验。

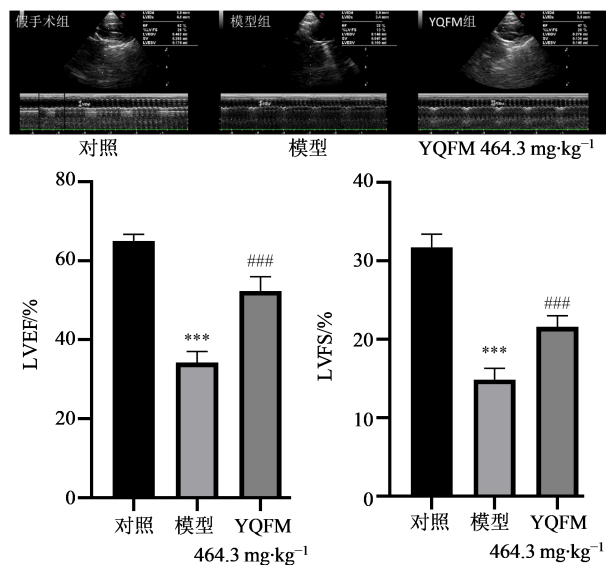
2.8 代谢组学数据处理

将原始的质谱数据导入ProteoWizard软件后,进行峰识别、峰提取、峰对齐和积分等处理,采用自建的二级质谱数据库进行物质注释。对原始数据进行预处理,包括以下步骤:偏离值过滤、缺失值过滤、缺失值填补以及数据标准化处理。使用SIMCA软件对数据进行处理,然后进行主成分分析(PCA)、正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA),为了验证模型的质量,用7折交叉验证进行检验,然后用交叉验证后得到的 R^2_y (模型对分类变量 Y 的可解释性)和 Q^2 (模型的可预测性)对模型有效性进行评判;最后通过置换检验,随机多次改变分类变量 Y 的排列顺序得到不同的随机 Q^2 值,对模型有效性做进一步的检验。选取 $P<0.05$ 且VIP>1为选取差异代谢物的标准,将筛选出的差异性代谢物进行代谢通路富集分析。

3 结果

3.1 对心衰合并高血压大鼠心功能的影响

如图1所示,与假手术组相比,模型组大鼠



与假手术组比较: *** $P < 0.001$; 与模型组比较: ### $P < 0.001$
 *** $P < 0.001$ vs sham-operated group; ### $P < 0.001$ vs model group

图1 各组大鼠心功能($\bar{x} \pm s, n=8$)

Fig. 1 Changes of cardiac function in rats of each group ($\bar{x} \pm s, n=8$)

LVEF、LVFS 显著降低($P < 0.001$); 与模型组相比, YQFM 组的 LVEF、LVFS 均显著升高($P < 0.001$)。结果表明, YQFM 对于心衰合并高血压大鼠的心功能具有改善作用。

3.2 对心衰合并高血压大鼠血压的影响

如表2所示, 给药前, 与假手术组相比, 模型组与 YQFM 组大鼠 SBP 显著升高($P < 0.001$); 与模型组相比, 经 YQFM 干预后, SBP 显著降低($P < 0.001$)。结果表明, YQFM 对于心衰合并高血压大鼠有显著的降压作用。

3.3 对心衰合并高血压大鼠血清中 NT-proANP、BNP、CK-MB、cTnT、LDH 水平的影响

如表3所示, 与假手术组比较, 模型组大鼠血清 NT-proANP、BNP、CK-MB、cTnT 和 LDH 水平均显著升高($P < 0.001$); 与模型组相比, 尾 iv YQFM 后, 血清中 NT-proANP、BNP、CK-MB、cTnT 和 LDH 水

表2 各组大鼠给药前后 SBP 水平($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 2 SBP levels of rats in each group before and after administration ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	SBP/mmHg	
		给药前	给药后
假手术	—	105.88±7.08	104.50±3.96
模型	—	153.50±10.77***	161.88±6.03***
YQFM	464.3	151.25±9.63***	116.25±9.35###

与假手术组比较: *** $P < 0.001$; 与模型组比较: ### $P < 0.001$;
 1 mmHg=0.133 kPa

*** $P < 0.001$ vs sham-operated group; ### $P < 0.001$ vs model group; 1 mmHg=0.133 kPa

平显著降低($P < 0.001$), 表明 YQFM 对心衰合并高血压大鼠的生化指标具有明显的改善效果。

3.4 对心衰合并高血压大鼠血清中 Renin、aGT、ACE1、AngII 水平的影响

如表4所示, 与假手术组比较, 模型组大鼠血清 Renin、aGT、ACE1 和 AngII 水平均显著升高($P < 0.001$); 与模型组比较, 尾 iv 给予 YQFM 后, 血清中 Renin、aGT、ACE1 和 AngII 水平均显著降低($P < 0.001$)。结果表明, YQFM 对于肾素-血管紧张素系统(RAS)具有一定的改善作用。

3.5 整体 PCA 以及系统稳定性考察

如图2所示, 图中每一个散点代表一个样本, 散点的颜色和形状表示不同的分组。样本全部处于 95% 置信区间内, 并且 QC 样品紧密排列在一起, 离散程度小。

3.6 两组多元统计分析

3.6.1 PCA 如图3所示, 模型组与假手术组的样本基本处于 95% 置信区间内, 但是个别样本存在重叠现象, 需要进一步进行 OPLS-DA 分析。模型组与 YQFM 组的样本同样处于 95% 置信区间内, 并且样本可以较好地地区分开。

3.6.2 OPLS-DA 如图4所示, 假手术组与模型组, 模型组与 YQFM 组的样本全部处于 95% 置信区间,

表3 各组大鼠血清 NT-proANP、BNP、CK-MB、cTnT、LDH 水平($\bar{x} \pm s, n=7$)

Table 3 NT-proANP, BNP, CK-MB, cTnT and LDH levels of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n=7$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	NT-proANP/ (pg·mL ⁻¹)	BNP/(ng·mL ⁻¹)	CK-MB/ (ng·mL ⁻¹)	cTnT/(pg·mL ⁻¹)	LDH/(ng·mL ⁻¹)
假手术	—	217.38±51.08	3.19±0.83	1.44±0.22	80.39±10.76	3.85±1.41
模型	—	792.57±113.79***	10.45±0.98***	5.40±0.86***	214.96±27.91***	17.09±2.53***
YQFM	464.3	444.12±110.62###	5.94±0.87###	2.49±0.56###	129.58±25.79###	9.40±2.32###

与假手术组比较: *** $P < 0.001$; 与模型组比较: ### $P < 0.001$

*** $P < 0.001$ vs sham-operated group; ### $P < 0.001$ vs model group

表4 各组大鼠血清Renin、aGT、ACE1、AngII水平($\bar{x}\pm s, n=7$)Table 4 Renin, aGT, ACE1 and AngII levels of rats in each group ($\bar{x}\pm s, n=7$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	Renin/(pg·mL ⁻¹)	aGT/(pg·mL ⁻¹)	ACE1/(ng·mL ⁻¹)	AngII/(pg·mL ⁻¹)
假手术	—	3.22±0.77	26.23±5.76	23.81±4.68	115.53±25.17
模型	—	13.27±1.24***	96.97±4.23***	68.83±6.71***	328.59±33.70***
YQFM	464.3	6.66±1.37###	58.42±10.42###	41.93±7.44###	210.68±46.18###

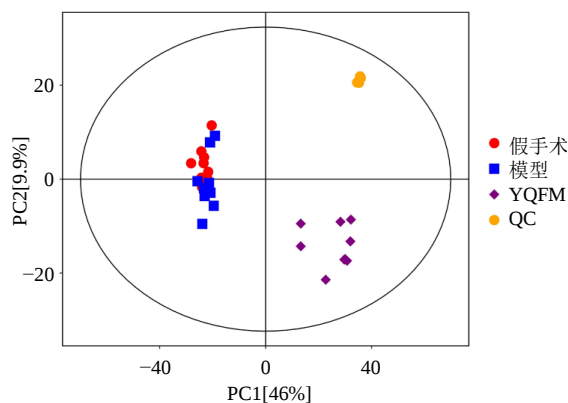
与假手术组比较:*** $P<0.001$;与模型组比较:### $P<0.001$ *** $P<0.001$ vs sham-operated group; ### $P<0.001$ vs model group

图2 全部样本的PCA得分图

Fig. 2 PCA score plot of all samples

样本间可以明显地区分开。OPLS-DA 分析结果显示,模型组和假手术组 $R^2_y=0.974$, $Q^2=0.639$;模型组和YQFM组 $R^2_y=0.993$, $Q^2=0.703$ 。OPLS-DA 置换检验,经过随机改变分类变量Y的排列顺序,200次建立相应的模型,得到随机模型的 R^2_y 及 Q^2 。如图5所示,模型组和假手术组 $R^2_y=0.97$, $Q^2=-0.53$;YQFM组和模型组 $R^2_y=0.95$, $Q^2=-0.61$ 均未出现“过拟合”的现象。

3.7 火山图分析

如图6所示,图中的每个点代表一个代谢物,横坐标为该组对比各物质的倍数变化(取以2为底的对数),纵坐标为P值(取以10为底的对数负数),散

点大小为OPLS-DA模型的VIP值,散点越大VIP值越大。本实验中显著上调的代谢物以红色表示,显著下调的代谢物为蓝色表示,非显著差异的代谢物为灰色表示。

3.8 差异代谢物的筛选

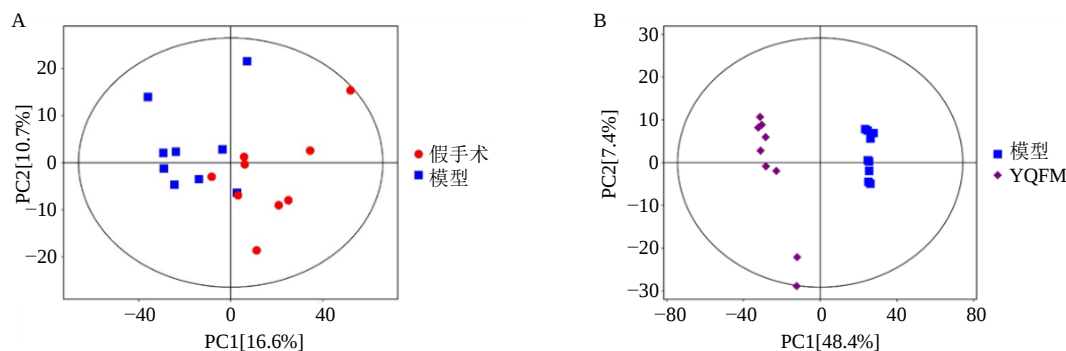
本实验选取VIP值 >1 且P值 <0.05 的差异物进行后续研究,其中有19种显著差异代谢物,给予YQFM后,与模型组比较,发生上调的物质有7种,发生下调的物质有12种。结果见表5。

3.9 差异代谢物的富集分析

将上述差异代谢物导入metaboanalyst进行代谢通路分析,共得到5个代谢通路,如图7所示,分别为戊糖、葡萄糖醛酸转换,醚脂代谢,甘油磷脂代谢,嘌呤代谢及色氨酸代谢。

4 讨论

高血压是一种以体循环动脉压增高为主要表现的心血管系统疾病,通常人体的SBP ≥ 140 mmHg和(或)舒张压 ≥ 90 mmHg即可视为高血压。2015年,在我国18岁以上的人群中,约有2.45亿的人患有高血压^[10]。2017年,我国约有254万人死于SBP升高^[11]。长期的血压升高可以使机体的血流动力发生改变,使神经系统发生紊乱,体内交感神经兴奋,进一步导致儿茶酚胺分泌增加,心肌收缩与舒

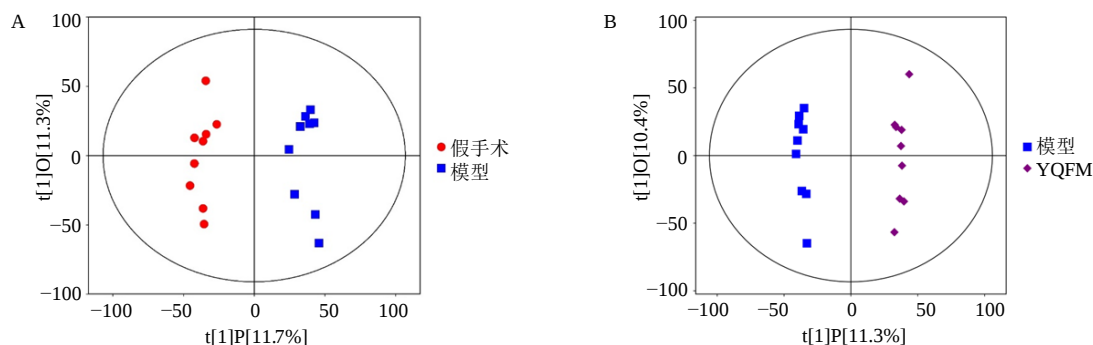


A-模型组与假手术组PCA得分图;B-YQFM组与模型组PCA得分图

A-PCA score plot of model group and sham-operated group; B-PCA score plot of YQFM group and model group

图3 PCA得分图

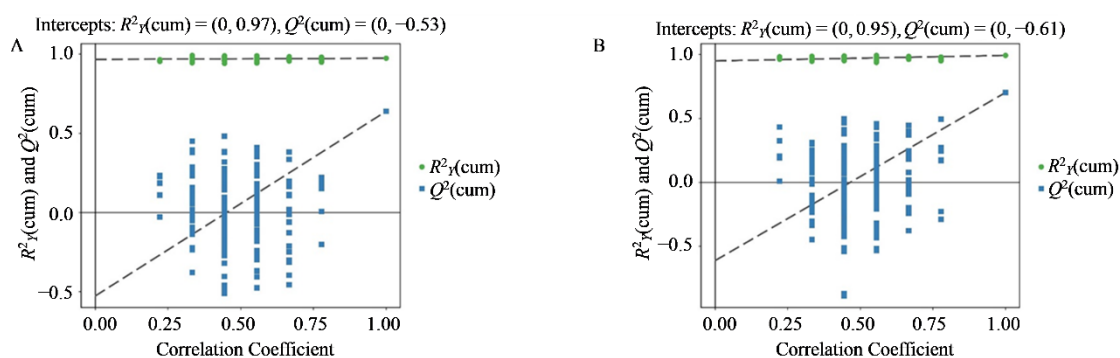
Fig. 3 PCA score plot



A-模型组和假手术组 OPLS-DA 得分图; B-YQFM 组和模型组 OPLS-DA 得分图
A-OPLS-DA score plot of model group and sham-operated group; B-OPLS-DA score plot of YQFM group and model group

图4 OPLS-DA 得分图

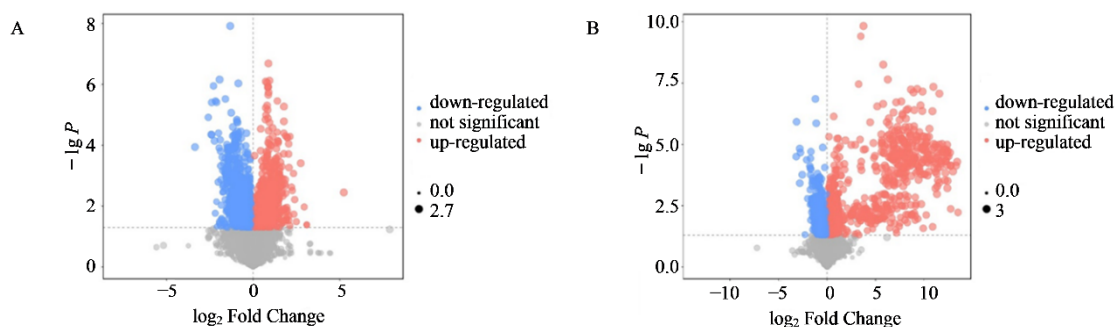
Fig. 4 OPLS-DA score plot



A-模型组和假手术组 OPLS-DA 模型的置换检验图; B-YQFM 组与模型组的 OPLS-DA 模型的置换检验图
A-Permutation test diagram of OPLS-DA model between model group and sham-operated; B-Permutation test diagram of OPLS-DA model between YQFM group and model group

图5 OPLS-DA 模型的置换检验图

Fig. 5 Permutation test diagram of OPLS-DA model



A-模型组和假手术组差异代谢物火山图; B-YQFM 组与模型组差异代谢物火山图
A-differential metabolite volcano plot of model group and sham-operated group; B-differential metabolite volcano plot of YQFM group and model group

图6 火山图分析

Fig. 6 Volcano plot analysis

张功能出现障碍,最终导致心衰^[12]。

ANP主要由心房分泌,当心房的压力升高时释放,其作用主要为排钠利尿及扩张血管。ANP的基因经过转译后,产生ANP前体,二肽的1个信号肽被立刻切除,形成NT-proANP。BNP主要由心室肌细胞分泌,其作用与ANP相似。在发生心衰时,ANP及BNP的水平增加,且与心衰的严重程度密切

相关^[13]。CK-MB主要存在于心肌中,是一种特异性极高的心肌同工酶,其在血液中的水平可以反映心肌损伤的程度^[14]。当发生心衰时,心脏的负荷增加会使供氧情况进一步失衡,导致心肌进一步损伤,进而释放cTnT^[15]。LDH也能在一定程度上反映心肌缺血损伤程度及细胞膜通透性^[16]。本研究发现,YQFM可以使心衰高血压大鼠的

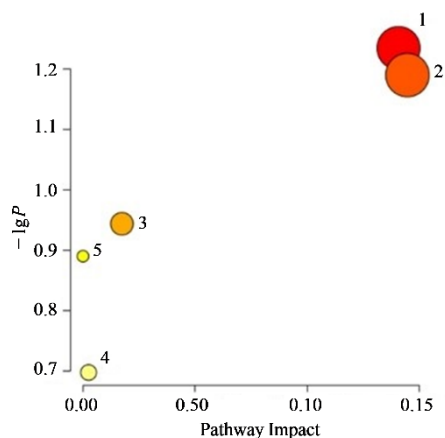
表5 各组大鼠血清潜在差异性代谢物

Table 5 Potential differential metabolites in serum of rats in each group

代谢物	t_R/s	m/z	变化趋势	
			模型组 vs 假手术组	YQFM组 vs 模型组
<i>DL</i> -tryptophan	223.729	205.096 6	↓	↑
indole-3-carboxaldehyde	223.729	146.059 7	↓	↑
LPC(14:0)	460.856	468.307 5	↑	↓
2-indolecarboxylic acid	321.215	160.040 4	↑	↓
2,8-dihydroxyquinoline-beta- <i>D</i> -glucuronide	219.999	338.086 0	↑	↓
LPC(16:1)	477.674	494.323 9	↑	↓
LPA(17:0)	572.071	423.250 3	↑	↓
lysoPC(<i>O</i> -18:0)	671.735	510.389 9	↑	↓
6-hydroxy-5-methoxyindole glucuronide	230.746	340.102 6	↑	↓
1 <i>H</i> -Indole-2,3-dione	295.827	146.024 7	↓	↑
naphthalene-2-sulfonic acid	287.567	207.012 0	↑	↓
6-hydroxynicotinic acid	75.666	136.047 6	↑	↓
4-hydroxy-2 <i>H</i> -pyran-3-carboxaldehyde	373.081	127.038 6	↓	↑
endomorphin-2	489.773	572.297 3	↓	↑
quinoline-4,8-diol	300.576	162.054 8	↑	↓
DOPA sulfate	192.034	278.030 8	↓	↑
myricetin	223.732	319.036 6	↓	↑
semilepidinoside B	184.233	367.149 9	↑	↓
3-methylbutyl 2-furanbutanoate	278.155	225.147 9	↑	↓

“↑”-含量上升,“↓”-含量下降

“↑”-content increases, “↓”-content decreases



1-戊糖、葡萄糖醛酸转换;2-醚脂代谢;3-甘油磷脂代谢;4-嘌呤代谢;5-色氨酸代谢

1-pentose, glucuronate interconversions;2-ether lipid metabolism;3-glycerophospholipid metabolism;4-purine metabolism;5-tryptophan metabolism

图7 差异代谢物通路富集分析图

Fig. 7 Differential metabolite pathway enrichment analysis

NT-proANP、BNP、CK-MB、cTnT 及 LDH 的水平显著下降,表明 YQFM 可以有效改善心衰高血压大鼠的心衰程度。

RAS 主要包括 Renin、AngI、AngII、aGT、ACE 及相关受体,其在调节血压、纠正水-钠平衡、细胞生长等中具有至关重要的作用,其过度激活,则会引起血压升高,损害靶器官,进而导致肾脏疾病及心血管疾病的发生^[17]。本研究发现,YQFM 可以使心衰高血压大鼠的 Renin、aGT、ACE1 及 AngII 水平显著下降,表明 YQFM 可以在一定程度上抑制 RAS 的激活。

代谢组学以全部代谢物质为研究对象,借助数据库找出产生差异的原因,可以在客观上反映药物作用机制,这与中医药的系统性和整体性相一致。戊糖、葡萄糖醛酸转换与羟合反应相关,葡萄糖醛酸羟合反应与体内多种内源性、外源性的化合物清除相关^[18],并且其也与调节能量平衡相关。溶血磷脂酰胆碱(LPC)是甘油磷脂代谢的主要成分,其主要来源于脂蛋白中的甘油磷脂(PC)或者磷脂酶 A2 酶超家族的细胞膜的 PC,其是治疗冠状动脉粥样硬化与心血管系统疾病的可能靶点^[19]。色氨酸是必需氨基酸,其不能内源合成,必须通过食物获得。在心血管疾病的患者中,血浆中的色氨酸浓度

是死亡发生风险的独立预测因子, 较低的色氨酸浓度则意味着死亡风险的增加以及左心功能障碍。并且色氨酸代谢通路是心血管系统疾病的发展的重要通路^[20]。本研究代谢组学结果显示, YQFM通过戊糖、葡萄糖醛酸转换, 醚脂代谢, 甘油磷脂代谢, 嘌呤代谢及色氨酸代谢5条代谢通路对心衰高血压大鼠进行调节, 说明YQFM可以改善心衰心脏的脂、糖代谢的氧化功能障碍, 调节紊乱的氨基酸代谢, 从而改善心功能。

本研究表明, YQFM可以改善心衰合并高血压大鼠的血清生化指标和心功能, 调节RAS从而降低血压, 避免了血压进一步升高从而加重心衰, 其可能的作用代谢通路为戊糖、葡萄糖醛酸转换, 醚脂代谢, 甘油磷脂代谢, 嘌呤代谢及色氨酸代谢。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 姜艳霞. 施慧达联合依那普利治疗高血压并发心衰的临床有效性分析 [J]. 中国实用医药, 2021, 16(18): 101-103.
Jiang Y X. Analysis of clinical effectiveness of Shihuida combined with enalapril in the treatment of hypertension complicated with heart failure [J]. China Pract Med, 2021, 16(18): 101-103.
- [2] 李雪, 王莉, 陶婷. 小剂量酒石酸美托洛尔片联合替米沙坦治疗高血压合并心衰患者的治疗安全性分析 [J]. 黑龙江医药, 2023, 36(1): 102-104.
Li X, Wang L, Tao T. Safety analysis of low-dose metoprolol tartrate tablets combined with telmisartan in the treatment of hypertension complicated with heart failure [J]. Heilongjiang Med J, 2023, 36(1): 102-104.
- [3] Whelton P K, Carey R M, Aronow W S, et al. 2017 ACC/AHA/ AHA/ ABC/ ACPM/ AGS/ APhA/ ASH/ ASPC/ NMA/PCNA guideline for the prevention, detection, evaluation, and management of high blood pressure in adults: A report of the American college of cardiology/ american heart association task force on clinical practice guidelines [J]. Hypertension, 2018, 71(6): e13-e115.
- [4] 刘喆, 杨欣. 注射用益气复脉(冻干)的临床应用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2022, 45(11): 2379-2385.
Liu Z, Yang X. Progress in clinical application research of Yiqi Fumai Lyophilized Injection [J]. Drug Eval Res, 2022, 45(11): 2379-2385.
- [5] 李德坤, 苏小琴, 李智, 等. 注射用益气复脉(冻干)的质量标志物研究 [J]. 中草药, 2019, 50(2): 290-298.
Li D K, Su X Q, Li Z, et al. Study on quality marker of Yiqi Fumai Lyophilized Injection [J]. Chin Tradit Herb
- Drugs, 2019, 50(2): 290-298.
- [6] 孟腾腾. 益气复脉注射液联合美托洛尔对老年高血压合并心力衰竭有较好疗效 [J]. 华夏医学, 2021, 34(1): 127-131.
Meng T T. Effect of Yiqi Fumai Injection combined with metoprolol sustained-release tablets on elderly hypertensive patients complicated with heart failure [J]. Acta Med Sin, 2021, 34(1): 127-131.
- [7] 李博, 聂晓冬, 陈鑫. 益气复脉注射液联合美托洛尔治疗原发性高血压伴心力衰竭临床疗效及对心脏重构的影响 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2020, 18(3): 385-388.
Li B, Nie X D, Chen X. Clinical effect of Yiqi Fumai Injection combined with metoprolol on essential hypertension with heart failure and its influence on cardiac remodeling [J]. Chin J Integr Med Cardio Cerebrovasc Dis, 2020, 18(3): 385-388.
- [8] 宋晓彦. 黑木耳多糖对肾性高血压大鼠的影响 [D]. 新乡: 新乡医学院, 2020.
Song X Y. Effect of *Auricularia auricula* polysaccharide on renal hypertensive rats [D]. Xinxiang: Xinxiang Medical University, 2020.
- [9] 谭巍, 任澎. 腹主动脉缩窄法建立大鼠心衰模型的研究 [J]. 实验动物科学, 2020, 37(3): 19-24.
Tan W, Ren P. Research of the establishment of rat model of heart failure by abdominal arterial constriction [J]. Lab Animal Sci, 2020, 37(3): 19-24.
- [10] Wang Z W, Chen Z, Zhang L F, et al. Status of hypertension in China: Results from the China hypertension survey, 2012—2015 [J]. Circulation, 2018, 137(22): 2344-2356.
- [11] GBD DALYs and HALE Collaborators. Global, regional, and national disability-adjusted life-years (DALYs) for 359 diseases and injuries and healthy life expectancy (HALE) for 195 countries and territories, 1990—2017: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017 [J]. Lancet, 2018, 392(10159): 1859-1922.
- [12] Mancuso L, Vitrano A, Mancuso A, et al. Left ventricular diastolic dysfunction in β -thalassemia major with heart failure [J]. Hemoglobin, 2018, 42(1): 68-71.
- [13] 阿布都艾尼·阿不来提, 魏静. Nt-ProANP 与 Nt-ProBNP 对鉴别及诊治心力衰竭的应用价值 [J]. 中国医学创新, 2014, 11(25): 27-29.
A Bu Du A Ni·A Bu Lai T, Wei J. Application value of Nt-ProANP and Nt-ProBNP in differential diagnosis and treatment of heart failure [J]. Med Innov China, 2014, 11(25): 27-29.
- [14] 唐茜, 张浩, 程景林. NT-proBNP、cTnI、CK-MB 在老年冠心病 PCI 术后预测心衰发生风险的探讨 [J]. 分子诊断与治疗杂志, 2022, 14(10): 1770-1774.

- Tang Q, Zhang H, Cheng J L. Discussion on NT-proBNP, cTnI and CK-MB in predicting the risk of heart failure after PCI in elderly patients with coronary heart disease [J]. J Mol Diagn Ther, 2022, 14(10): 1770-1774.
- [15] 戴梅, 雷育军, 孙骥, 等. NT-proBNP 联合 cTnT 检测在评估肺炎合并心力衰竭新生儿心肌损害损伤程度及预后的价值 [J]. 安徽医学, 2023, 44(4): 405-409.
- Dai M, Lei Y J, Sun J, et al. Value of NT-proBNP combined with cTnT in evaluating severity of myocardial damage and prognosis in neonates with pneumonia and heart failure [J]. Anhui Med J, 2023, 44(4): 405-409.
- [16] 付孝清, 黎昌宏, 谭杰. Rho 激酶抑制剂联合呋塞米及螺内酯对急性左心衰患者心功能及血清 AST、LDH、CK-MB 水平的影响 [J]. 心血管康复医学杂志, 2019, 28(4): 461-466.
- Fu X Q, Li C H, Tan J. Influence of Rho kinase inhibitor combined furosemide and spironolactone on cardiac function, serum levels of AST, LDH and CK-MB in patients with acute left heart failure [J]. Chin J Cardiovasc Rehabil Med, 2019, 28(4): 461-466.
- [17] 杨宁, 李宝福. 肾素-血管紧张素系统治疗高血压的相关性研究进展 [J]. 医学理论与实践, 2018, 31(13): 1913-1914, 1923.
- Yang N, Li B F. Research progress on the correlation of renin-angiotensin system in the treatment of hypertension [J]. J Med Theory Pract, 2018, 31(13): 1913-1914, 1923.
- [18] 周小理, 张欢, 周一鸣, 等. 基于代谢组学研究苦荞蛋白对高脂血症小鼠的干预作用 [J]. 食品科学, 2019, 40(5): 149-155.
- Zhou X L, Zhang H, Zhou Y M, et al. Metabonomic study of the intervention effect of *Tartary buckwheat* protein on hyperlipidemic mice [J]. Food Sci, 2019, 40(5): 149-155.
- [19] 解欣然, 张蕾, 李雪, 等. 基于 LC-MS 分析凉血解毒利湿方对咪喹莫特诱导 ApoE^{-/-}小鼠的血清脂质组学的影响 [J]. 时珍国医国药, 2023, 34(2): 260-264.
- Xie X R, Zhang L, Li X, et al. Effect of Liangxue Jiedu Lishi formula on serum lipidomics of imiquimod-induced ApoE^{-/-} mice based on LC-MS [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2023, 34(2): 260-264.
- [20] 朱茜. 冠心病临床预后的代谢组学研究及 ADME 基因对色氨酸代谢通路的影响 [D]. 广州: 南方医科大学, 2019.
- Zhu Q. Metabonomics study on clinical prognosis of coronary heart disease and the effect of ADME gene on tryptophan metabolic pathway [D]. Guangzhou: Southern Medical University, 2019.

[责任编辑 兰新新]