

心血管疾病的代谢组学研究进展

茹文鑫^{1,2} 周婷^{1,2} 高玉霞²

(1. 天津医科大学研究生院, 天津 300052; 2. 天津医科大学总医院心血管内科, 天津 300052)

【摘要】 心血管疾病负担日益加重, 给国民健康造成巨大威胁。随着代谢组学技术研究和进步, 其正成为心血管疾病诊断、治疗及预后评估的一大利器。现就心血管领域的代谢组学研究进展做一简要综述。

【关键词】 心血管疾病; 代谢组学; 代谢标志物

【DOI】 10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2021.01.018

Metabolomics in Cardiovascular Diseases

RU Wenxin^{1,2}, ZHOU Ting^{1,2}, GAO Yuxia²

(1. Graduate School of Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China; 2. Department of Cardiovascular Medicine, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China)

【Abstract】 The increasing burden of cardiovascular diseases poses a great threat to national health. With the development and progress of metabolomics, it is becoming a powerful tool for the diagnosis, treatment and prognosis of cardiovascular diseases. This paper reviews the progress of metabolomics in the cardiovascular field.

【Key words】 Cardiovascular diseases; Metabolomics; Metabolic marker

随着社会经济的发展, 国民生活方式发生了深刻的变化, 尤其是人口老龄化及城镇化进程的加速, 目前中国心血管疾病 (cardiovascular diseases, CVD) 患病率及死亡率处于逐年上升阶段, 2018 年中国 CVD 患病人数 2.9 亿, 其中冠心病 (coronary heart disease, CHD) 占 1 100 万, 是导致中国 CVD 患者死亡的重要原因^[1]。美国约有 9 210 万人罹患 CVD, 其中有 1 600 万 CHD 患者, 每 7 人中有 1 人死于 CHD^[2]。CVD 的负担日渐加重, 成为重大的公共卫生问题。如何采取有效措施遏制不断攀升的 CVD 患病率和死亡率成为 CVD 防治工作的重中之重。已有许多研究发现 CVD 通常与能量稳态和代谢紊乱有关, 肥胖、胰岛素抵抗和糖尿病等代谢失衡将会促进 CVD 的发生。CVD 与某些循环脂质 (如胆固醇和甘油三酯) 之间的密切关系已被认识数十余年。然而, 除了这些已知的关联外, 代谢失调和 CVD 之间的其他联系仍有待进一步研究。随着代谢组学技术的不断发展, 全面的代谢谱, 或称“代谢组学”, 正越来越多地应用于 CVD。近年来此领域获得了许多有意义的成果。

1 代谢组学概述

1.1 代谢组学的定义

代谢组学起源于分析生物化学, 是描述生物样本中多种小分子代谢物, 包括体液 (尿液、血液和唾液)、组织和呼出气体在内的一种分析方法。代谢物指的是各种各样的内源性小分子, 包括氨基酸、糖类、脂类、核酸、胺、有机酸以及各种外源化学物质, 如药物、毒素和外源生物。代谢物的化学特性, 包括亲水性、亲脂性、极性、质量和电荷以及浓度波动范围差异显著^[3]。与基因组学、转录组学或蛋白质组学相比, 代谢组学所描绘的物质更加直观, 是位于遗传、转录、蛋白质和环境变异的下流代谢产物, 能提供复杂的生物网络功能终点的快照, 并能准确地描述一种生物体的功能和生理状态, 从而提供对表型和医疗条件最完整和最动态的衡量标准^[4]。

1.2 代谢组学工具

生物体新陈代谢谱的一个特征是与估计的基因 (2.5 万种)、转录本 (10 万种) 和蛋白质 (100 万种) 数量相比, 人类代谢物的数量 (约 0.7 万种) 相对较少, 但由于代谢物的化学多样性以及广泛的浓度范围, 目

前还无某一种仪器可在一次分析中可靠地测量人类“代谢体”中的所有代谢物,所以代谢组学通常是使用一套仪器,最常见的是使用液相色谱或气相色谱与质谱法的不同组合。也可使用磁共振,通过其磁共振位移或质量/电荷比来分离样本,从而产生分离的光谱轮廓。在处理生物流体时,磁共振通常不需对样品进行化学操作,而质谱法通常需对代谢物进行衍生化,以产生更容易通过质量/电荷比分离的离子。与磁共振相比,质谱法在灵敏度上具有更强的优势,并且通过与不同的色谱方法组合应用,提高了对小分子代谢物的识别能力,以获得广泛的代谢空间覆盖^[5]。相比其他检测心肌代谢的方法,代谢组学有许多优势:(1)代谢组学研究的样本主要是生物体液,如血液和尿液等,这些样本在收集、保存和处理方面都较为容易;(2)代谢物的变化能放大及体现出其上游基因及蛋白质表达的变化,易于观察研究;(3)代谢组学的研究结果能与临床生化功能紧密联系,便于分析理解;(4)在不同的生物组织中,代谢物的结构基本相同,检测分析技术在代谢组学中更为通用。

1.3 代谢组学方法

运用代谢组学鉴定和分析代谢物主要有非靶向和靶向两种方式。非靶向代谢组学用于评估样品中的代谢物,并可揭示新的或未预料到的代谢物质变化。其主要优点是提供了一种公正的方法,分析来自多种途径的相互关联的代谢物之间的关系。但尚不可能同时获得所有代谢物类别,因为许多因素会影响代谢物的识别和分析,此外,在代谢物数据库中还有大量的未知代谢物。非靶向代谢组学可对样品中的代谢物进行详细的评估,揭示出广泛的代谢物类别。靶向代谢组学可测量一组预定义的代谢物的浓度。制备目标代谢物浓度范围的标准曲线,从而获得准确的定量,这种类型的分析可用于获得由非靶向代谢组学确定的某种确切代谢物的浓度,从而提供分析验证。相比之下,靶向代谢组学比非靶向代谢组学具有更高的灵敏度和选择性^[6]。在过去的几年中,靶向和非靶向代谢组学方法越来越多地应用于 CVD 的研究中,现讨论近些年相关和精选的例子。

2 常见 CVD 与代谢组学

2.1 CHD 与代谢组学

CHD 的诊断对于患者的治疗以及预后十分重要。目前冠状动脉造影仍然是“金标准”,能直观和准确地评估冠状动脉病变程度,但冠状动脉造影是有创检查,寻找简单和无创的生物标志物用以诊断、评估和辅助治疗 CHD,成为当前研究的热点。2016 年一项旨在探讨男性 CHD 患者组脂质代谢、动脉硬化与血流动力学

关系的靶向代谢组学研究发现,与健康对照组相比,CHD 患者 C16 : 1、C18 : 1、羟基丁酰肉碱、磷脂酰胆碱(phosphatidylcholine, PC) C40 : 6 和甲硫氨酸亚砷/甲硫氨酸(全身氧化应激指标)升高,而溶血磷脂酰胆碱(lysophosphatidylcholine, LPC) C18 : 2 降低。CHD 组患者颈动脉-股动脉脉搏波速度与 C14、C16 : 1、(C2 + C3)/C0、C2/C0、肉碱棕榈酰转移酶 1 的比率呈正相关,血清中长链酰基肉碱水平与动脉硬化之间存在独立关联,这项实验的结果表明,除了脂质相关的经典心血管危险标志物外,脂质代谢的中间产物可能作为血管功能改变的新指标^[7]。

2018 年一项纳入了来自 4 个独立中心的 2 324 例接受冠状动脉造影患者的研究中,鉴定出了血浆中包括 15 种氨基酸、12 种游离脂肪酸、8 种有机酸和 1 种唾液酸在内的 36 种与 CHD 进展相关的差异代谢物,并且证明 N-乙酰神经氨酸是 CHD 进展的潜在代谢标志物。靶向 N-乙酰神经氨酸及其调节酶神经氨酸酶-1 可能成为心肌缺血损伤治疗干预的新途径^[8]。

近期一项采用氢-1 核磁共振波谱法对 50 例 CHD 稳定期患者和 50 例健康对照者的血浆和尿液标本进行代谢组学分析,在血浆代谢型和尿液代谢型中分别鉴定出 35 种代谢物和 12 种差异代谢物。通过代谢途径分析显示,CHD 患者血浆中尿素循环、氨酰 tRNA 生物合成和酮体合成降解途径明显紊乱,尿液中甲基组氨酸代谢和半乳糖代谢途径明显紊乱^[9],这些差异代谢物仍需更多实验进一步验证,未来有望在临床上用于 CHD 的诊断和治疗,通过识别的生物标志物和途径分析进一步揭示了 CHD 的病理生理学变化和多种易感因素。

上述研究结果表明,全面的代谢组学特征能更好地定义 CHD 的发病机制。新的代谢标志物的发现可辅助 CHD 的早期诊断、预后评估和个性化治疗,鉴定代谢标志物及其调节酶的作用可能会发现治疗 CHD 的候选靶点和药物干预机制。

2.2 心肌梗死与代谢组学

心肌梗死(myocardial infarction, MI)是临床上常见的 CHD 的一种严重类型,其发病迅速,致死率高,如何早期诊断 MI 成为挽救患者生命的关键。MI 损伤触发了基因转录、蛋白表达和代谢物浓度的变化,这是心脏功能障碍的生物特征^[10],对这些生化变化的检测发现了生物标志物,如肌酸激酶、肌酸激酶同工酶、心肌肌钙蛋白 I 和肌钙蛋白 T^[11]。然而,这些生物标志物的敏感性(肌酸激酶同工酶和心肌肌钙蛋白 I 均为 35%)和特异性(肌酸激酶同工酶和心肌肌钙蛋白 I 分别为 85% 和 86%)均较低^[12],且要在心肌损伤后至少

4~6 h, 才能检测出这些心肌损伤标志物。近年来由于科学技术和检测工具的进步, 高敏肌钙蛋白已大大缩短了诊断时间, 但这些生物标志物的出现都只代表了一个结局, 即心肌细胞已处于不可逆转的状态^[13]。相比之下, 代谢组学研究表明代谢物变化在心肌损伤的 10 min 就很明显^[14], 且有研究发现与不稳定型心绞痛患者相比, MI 患者血清差异代谢物变化的敏感性为 94.5%, 特异性为 95.3%^[15]。代谢谱的变化以及受干扰的代谢途径还能更全面地了解 MI 的病理生理机制, 这提示改进 MI 生化诊断的重要性。

2017 年一项前瞻性队列研究发现, MI 患者血清样本中精氨酸浓度升高, LPC 17:0 和 LPC 18:2 的降低会增加 MI 的风险, 可作为诊断 MI 的潜在生物标志物^[16]。德国的一项在两个健康的中年人队列中进行的前瞻性研究, 共分析了 105 种代谢物质, 将两个队列中随访期间发生 MI 的患者与健康对照组比较后发现, 在校正传统危险因素后, 较高血清浓度的 4 种鞘磷脂(鞘磷脂 C16:0、C24:0、C16:1 及羟基鞘磷脂 C22:1) 和 6 种 PC(二酰基 PC C38:3、C40:4 及酰基-烷基-PC C36:3、C38:3、C38:4 和 C40:3), 均与较高的 MI 风险呈正相关。当与传统的 CVD 生物标志物混杂在一起分析时, 二酰基 PC C38:3 和 C40:4 和酰基-烷基-PC C36:3 仍与 MI 相关, 并可部分用于 CVD 的预测^[17]。

一项旨在确定 MI 潜在的新型血浆生物标志物和代谢信号的小样本研究发现, 与健康对照组相比, MI 患者有 31 种 PC、4 种 LPC、4 种鞘磷脂和 2 种生物胺的浓度发生了改变。在进行多变量分析后, 发现 MI 患者的甘油磷脂、 α -亚麻酸和鞘脂代谢通路有显著变化^[18]。另一项小样本的前瞻性队列研究同样验证了 MI 患者甘油磷脂代谢途径明显受到干扰^[19]。

探究代谢物谱为急性 MI 所涉及的代谢过程提供了新的见解, 这些变化将有助于在紧急情况下及时地进行 MI 的快速临床评估, 为 MI 的早诊断、早治疗, 以及降低 MI 的死亡率提供了更有利的条件。

2.3 心力衰竭与代谢组学

心力衰竭(心衰)是一种复杂的综合征, 是所有心脏疾病的终末阶段。心脏代谢的改变可在患者的体液中检测到^[20-22], 之前的研究表明, 血浆代谢谱在缺血性心衰患者中单独或与脑钠肽联合应用具有显著的诊断和预后价值^[12, 23-26]。

心脏对能量的利用和细胞代谢的改变一直是心衰研究中的主要问题。在正常代谢条件下, 脂肪酸是心肌的主要能量来源, β -氧化产生的 ATP 占心肌耗能的 50%~70%。而在衰竭的心肌中, 心肌的主要能量来

源从利用脂肪酸转变成葡萄糖和酮体^[27]。Bedi 等^[24]对在心脏移植或左室辅助装置植入时一组非糖尿病晚期心衰患者进行液相色谱-质谱分析, 评估这组严重心功能不全患者的能量利用情况, 结果发现衰竭心肌越来越多地使用生酮的 β -羟丁酰 CoA 和 β -羟丁酸, 而脂质能量底物(如中长链酰基肉碱)的可用性减少。为了支持代谢转换理论, 即衰竭的心肌细胞优先使用葡萄糖而非脂肪酸, 研究表明慢性收缩性心衰患者的代谢谱显示脂肪酸代谢发生了变化。Ahmad 等^[25]分析了 453 例慢性收缩性心衰患者和 41 例接受左室辅助装置植入的终末期心衰患者的队列, 结果表明长链酰基肉碱(C16 和 C18)与较低的峰值摄氧量以及全因死亡增加、全因住院和心血管死亡或住院的风险增加相关。此外, 放置左室辅助装置后, 长链酰基肉碱水平也降低, 提示患者对治疗有反应。

根据射血分数的高低, 心衰可分为射血分数保留性心衰(ejection fraction preserving heart failure, HFpEF)、射血分数降低性心衰和中间范围射血分数心衰。目前, HFpEF 已成为主要的疾病亚型, 至少占有心衰病例的 50%^[28]。左室舒张功能障碍, 即左室顺应性降低和/或充盈压升高, 是 HFpEF 重要的亚临床阶段。有研究证据表明左室舒张功能障碍可逆, 因此该阶段也成为 HFpEF 疾病途径中的潜在治疗拐点^[29]。最新的一项研究发现 8 种血清代谢物, 包括 7 种氨基酸衍生物和 1 种脂质与左室舒张功能有关, 丁酰肉碱与左室舒张功能呈正相关, N-乙酰蛋氨酸、乙酰谷氨酸盐、N₂, N₅-二乙酰鸟氨酸、N-三甲基-5-氨基戊酸、5-甲硫腺苷、蛋氨酸亚砷与左室充盈压呈正相关, 这些代谢物可作为亚临床 HFpEF 的早期生物标志物, 但仍需进一步研究加以验证, 为未来应用代谢生物标志物检测普通人群亚临床心衰提供了理论基础^[30]。

从流行病学和宏观角度看, 心衰的及时诊断和早期干预可能会对医疗卫生经济学产生深远的影响。从微观角度看, 心衰是细胞、遗传、蛋白质和代谢水平代谢紊乱的表现。利用代谢组学技术有机会发现衰竭心肌细胞的代谢生物标志物, 识别新的分子机制, 从而可能会发现新的治疗方法, 为心衰的早期检测、靶向药物治疗以及预后改善做出贡献。

3 展望

在过去的几十年里, 病理生理学和药物治疗方面的许多研究发现已改善了 CVD 患者的死亡率和发病率。尽管这一系列复杂疾病的诊断和治疗已取得了许多进展, 但仍有许多未解之谜, 这些谜团的解开会对其发病机制、治疗和预后有更深刻的认识。基于代谢组学技术的重大进步, 不同疾病状态下的各种代谢物变

化及其可能影响的代谢通路能高灵敏度和高选择性地被检测,这些众多的代谢物在预测(筛选生物标志物)和检测(诊断生物标志物)疾病、评估疾病进展/缓解(预后生物标志物)以及治疗效果方面可能具有巨大的临床效用。然而,代谢组学的发展也存在许多挑战,比如代谢物的覆盖度有限,不同代谢物理化性质差异很大,无法同时提取出来,甚至一些代谢物因含量过低无法检测出来;还有许多未知的代谢物无确定结构,一些有意义的变化可能会被遗漏;另外,基于目前的检测技术,一个样本要检测半小时以上,甚至为了提高覆盖度要重复检测几遍,需有经验的分析员进行操作分析。这些实际问题都限制了代谢组学的广泛应用,未来若能攻克这些难题,必将发挥代谢组学在疾病的诊断、对疾病的全面理解以及治疗方面的巨大效用。

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):F209-F220.
- [2] Benjamin EJ, Virani SS, Callaway CW, et al. Heart disease and stroke statistics—2018 update: a report from the American Heart Association [J]. *Circulation*, 2018, 137(12): e67-e492.
- [3] Roberts LD, Gerszten RE. Toward new biomarkers of cardiometabolic diseases [J]. *Cell Metab*, 2013, 18(1): 43-50.
- [4] Stryeck S, Birner-Gruenberger R, Madl T. Integrative metabolomics as emerging tool to study autophagy regulation [J]. *Microb Cell*, 2017, 4(8): 240-258.
- [5] Shah SH, Kraus WE, Newgard CB. Metabolomic profiling for the identification of novel biomarkers and mechanisms related to common cardiovascular diseases: form and function [J]. *Circulation*, 2012, 126(9): 1110-1120.
- [6] Johnson CH, Ivanisevic J, Siuzdak G. Metabolomics: beyond biomarkers and towards mechanisms [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2016, 17(7): 451-459.
- [7] Paapstel K, Kals J, Eha J, et al. Metabolomic profiles of lipid metabolism, arterial stiffness and hemodynamics in male coronary artery disease patients [J]. *IJC Metab Endocr*, 2016, 11: 13-18.
- [8] Zhang L, Wei TT, Li Y, et al. Functional metabolomics characterizes a key role for N-acetylneuraminic acid in coronary artery diseases [J]. *Circulation*, 2018, 137(13): 1374-1390.
- [9] Amin AM, Mostafa H, Arif NH, et al. Metabolomics profiling and pathway analysis of human plasma and urine reveal further insights into the multifactorial nature of coronary artery disease [J]. *Clin Chim Acta*, 2019, 493: 112-122.
- [10] Ali SE, Farag MA, Holvoet P, et al. A comparative metabolomics approach reveals early biomarkers for metabolic response to acute myocardial infarction [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 36359.
- [11] Mythili S, Malathi N. Diagnostic markers of acute myocardial infarction [J]. *Biomed Rep*, 2015, 3(6): 743-748.
- [12] Cheng ML, Wang CH, Shiao MS, et al. Metabolic disturbances identified in plasma are associated with outcomes in patients with heart failure: diagnostic and prognostic value of metabolomics [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2015, 65(15): 1509-1520.
- [13] Chacko S, Haseeb S, Glover BM, et al. The role of biomarkers in the diagnosis and risk stratification of acute coronary syndrome [J]. *Future Sci OA*, 2017, 4(1): FSO251.
- [14] McGarrah RW, Crown SB, Zhang GF, et al. Cardiovascular metabolomics [J]. *Circ Res*, 2018, 122(9): 1238-1258.
- [15] Fan Y, Li Y, Chen Y, et al. Comprehensive metabolomic characterization of coronary artery diseases [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2016, 68(12): 1281-1293.
- [16] Ward-Caviness CK, Xu T, Aspelund T, et al. Improvement of myocardial infarction risk prediction via inflammation-associated metabolite biomarkers [J]. *Heart*, 2017, 103(16): 1278-1285.
- [17] Floegel A, Kühn T, Sookthai D, et al. Serum metabolites and risk of myocardial infarction and ischemic stroke: a targeted metabolomic approach in two German prospective cohorts [J]. *Eur J Epidemiol*, 2018, 33(1): 55-66.
- [18] Goulart VAM, Santos AK, Sandrim VC, et al. Metabolic disturbances identified in plasma samples from ST-segment elevation myocardial infarction patients [J]. *Dis Markers*, 2019, 2019: 7676189.
- [19] Lu J, Chen B, Chen T, et al. Comprehensive metabolomics identified lipid peroxidation as a prominent feature in human plasma of patients with coronary heart diseases [J]. *Redox Biol*, 2017, 12: 899-907.
- [20] Ussher JR, Elmariam S, Gerszten RE, et al. The emerging role of metabolomics in the diagnosis and prognosis of cardiovascular disease [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2016, 68(25): 2850-2870.
- [21] Heggermont WA, Papageorgiou AP, Heymans S, et al. Metabolic support for the heart: complementary therapy for heart failure? [J]. *Eur J Heart Fail*, 2016, 18(12): 1420-1429.
- [22] Marcinkiewicz-Siemion M, Ciborowski M, Kretowski A, et al. Metabolomics—A wide-open door to personalized treatment in chronic heart failure? [J]. *Int J Cardiol*, 2016, 219: 156-163.
- [23] Sun H, Olson KC, Gao C, et al. Catabolic defect of branched-chain amino acids promotes heart failure [J]. *Circulation*, 2016, 133(21): 2038-2049.
- [24] Bedi Jr KC, Snyder NW, Brandimarto J, et al. Evidence for intramyocardial disruption of lipid metabolism and increased myocardial ketone utilization in advanced human heart failure [J]. *Circulation*, 2016, 133(8): 706-716.
- [25] Ahmad T, Kelly JP, McGarrah RW, et al. Prognostic implications of long-chain acylcarnitines in heart failure and reversibility with mechanical circulatory support [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2016, 67(3): 291-299.
- [26] Lanfear DE, Gibbs JJ, Li J, et al. Targeted metabolomic profiling of plasma and survival in heart failure patients [J]. *JACC Heart Fail*, 2017, 5(11): 823-832.
- [27] Evans RD, Hauton D. The role of triacylglycerol in cardiac energy provision [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1861(10): 1481-1491.
- [28] Dunlay SM, Roger VL, Redfield MM. Epidemiology of heart failure with preserved ejection fraction [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2017, 14(10): 591-602.
- [29] Lee CH, Hung KC, Chang SH, et al. Reversible left ventricular diastolic dysfunction on Doppler tissue imaging predicts a more favorable prognosis in chronic heart failure [J]. *Circ J*, 2012, 76(5): 1145-1150.
- [30] Razavi AC, Bazzano LA, He J, et al. Novel findings from a metabolomics study of left ventricular diastolic function: The Bogalusa Heart Study [J]. *J Am Heart Assoc*, 2020, 9(3): e015118.

收稿日期: 2020-06-09