

实验研究

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2020.04.014

参麦注射液对高血压心力衰竭模型大鼠尿液代谢组学的影响

杨梦, 胡志希*, 李琳, 钟森杰, 姚涛, 程彬

湖南中医药大学, 湖南省长沙市岳麓区含浦科教园学士路 300 号, 410208

摘要 目的 探讨参麦注射液治疗高血压心力衰竭的可能作用机制。方法 20 只 Dahl/SS 盐敏感雄性大鼠随机分为 3 组。正常组 6 只, 给予低盐饮食 20 周; 模型组和参麦注射液组各 7 只, 每只大鼠每天给予高盐饲料 20 g (含 8% 氯化钠) 饲养 20 周建立高血压心力衰竭大鼠模型。心脏超声检测左心室射血分数 (LVEF)、左室短轴缩短率 (LVFS), 检测血清氨基末端脑钠肽前体 (NT-proBNP) 水平, 采集大鼠尿液进行液相色谱-质谱 (LC-MS) 连用技术分析, 筛选差异性代谢物, 分析相关代谢通路。结果 与正常组比较, 模型组大鼠 LVEF、LVFS 降低, 血清 NT-proBNP 水平升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 参麦注射液组大鼠 LVEF、LVFS 升高, 血清 NT-proBNP 水平降低 ($P < 0.01$)。3 组大鼠的尿液代谢谱呈明显分离趋势, 经参麦注射液干预后 4-吡哆酸、犬尿酸、L-精氨酸、肌酸、肌醇、5-L-谷酰基-牛磺酸 6 个差异性代谢物具有显著的变化, 其代谢通路涉及精氨酸与脯氨酸代谢。结论 参麦注射液可使高血压心力衰竭大鼠异常的尿液代谢趋向正常, 其机制可能与调节氨基酸代谢、能量代谢及氧化应激反应有关。

关键词 高血压; 心力衰竭; 参麦注射液; 代谢组学; 液相色谱-质谱

高血压病是心血管疾病的重要危险因素, 收缩压高于 140 mmHg 或更高均会有较高的心力衰竭风险及死亡率^[1]。参麦注射液具有益气固脱、养阴生津之功效, 现代研究发现其有扩张血管, 增加冠脉血流量, 提高心肌缺血缺氧的耐受性, 改善心功能等药理作用^[2], 故被广泛用于心血管病变, 如高血压心力衰竭、肺源性心脏病及心律失常的治疗^[3]。本课题组前期研究^[4]发现, 参麦注射液能有效改善高血压心力衰竭模型大鼠的心功能参数、血流动力学指标和心肌组织形态。本研究采用代谢组学方法探讨参麦注射液对高血压心力衰竭大鼠尿液代谢物的变化, 从小分子代谢产物角度阐释参麦注射液治疗心力衰竭的可能作用机制, 为临床运用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验动物

盐敏感大鼠的高盐摄入与高血压反应有关, 并伴有代偿性左心室肥大的发展, 然后是代偿性充血性心力衰竭^[5], 因此本研究选取 SPF 级雄性 Dahl/SS 盐敏感大鼠 20 只, 6 周龄, 体质量 (220 ± 10) g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 实验动物许可证号: SCXK (京) 2016-0006, 实验动物合格证编号: 43004700037714。分笼饲养于湖南中医药大学实验中心 SPF 级实验室, 每笼饲养 3 只, 室温 23 ~ 25℃, 光照/黑暗 12 h, 自由饮食饮水。

1.2 主要药物、试剂与仪器

参麦注射液 (国药准字 Z53021720, 批号: 20190801), 云南植物药业有限公司; 大鼠氨基末端脑钠肽前体 (NT-proBNP) 酶联免疫吸附测定法 (ELISA) 试剂盒 (货号: CSB-E08752r), CUS-ABIO 公司产品; L-2-氯苯丙氨酸标准品 (货号: 103616-89-3), 上海恒创生物科技有限公司; 甲醇 (货号: CAEQ-4-003302-4000)、乙腈 (货号:

基金项目: 国家自然科学基金 (81774208); 湖南省教育厅科学研究项目 (18B235); 湖南创新型省份建设专项 (2019JJ50447); 湖南省研究生科研创新项目 (CX2018B486)

* 通讯作者: 515800272@qq.com

CAEQ-4-00306-4000)、甲酸(货号: CAEQ-4-00303-0050), 均为上海安谱实验科技股份有限公司产品; 10% 水合氯醛(批号: T20070403), 国药集团化学试剂有限公司。

SonoScape-S2N 型彩色多普勒超声诊断仪, 深圳开立科技有限公司; CODA 型小动物无创血压测量仪, 美国 Kent Scientific 公司; ACQUITY 型超高效液相色谱、VIONIMSQ-ToF 型高分辨质谱仪, 均为沃特世科技有限公司产品; TGL-16MS 型台式高速冷冻离心机, 上海卢湘仪离心机仪器有限公司; SCAA-104 型有机相针孔过滤器, 上海安谱实验科技股份有限公司。

1.3 分组及动物模型制备

造模方法和模型评价标准参照文献 [6-7]: 20 只 Dahl/SS 盐敏感雄性大鼠给予低盐饲料(含 0.3% 氯化钠)适应性喂养 1 周, 随后按随机数字表法选取 6 只大鼠作为正常组, 其余 14 只进行造模。正常组大鼠继续给予低盐饮食 20 周。造模大鼠每只每天给予高盐饲料 20 g(含 8% 氯化钠)饲养 20 周, 每个月测量 1 次大鼠尾血压, 血压大于 140 mmHg 确定已成高血压模型。喂养 20 周后大鼠出现了弓背、耸毛、毛发无光泽、精神萎靡、蜷卧少动、活动量减少, 饮水量、尿量增多等表现, 左心室射血分数(LVEF)降低、左室短轴缩短率(LVFS)降低及血清 NT-proBNP 升高, 则大鼠心力衰竭造模成功。14 只造模成功大鼠按随机数字表法分为模型组和参麦注射液组, 每组 7 只。本实验中所用的高盐饲料与低盐饲料均由湖南中医药大学实验中心提供。

1.4 给药方法

造模后经人与动物的等效剂量换算^[8], 参麦注射液组大鼠每次给药剂量为 6.0 ml/kg, 模型组和正常组注射同等剂量的灭菌注射用水, 均腹腔注射, 每天 1 次, 共 15 天。

1.5 观察指标及方法

1.5.1 心脏超声检测心功能 大鼠以 10% 水合氯醛 4 ml/kg 腹腔注射麻醉后备皮, 应用彩色多普勒超声诊断仪检测各组大鼠 LVEF 及 LVFS。每组数据取连续 3 个心动周期的平均值。

1.5.2 血清 NT-proBNP 水平 大鼠麻醉后腹主动脉采血, 常温静置 20 min 后, 以 3500 r/min 离心 10 min(离心半径 8.26 cm), 立即提取上清液分装在离心管里 -80℃ 保存。采用 ELISA 试剂盒检测血清 NT-proBNP 的含量, 严格按照说明书操作。

1.5.3 尿液代谢组学检测 各组大鼠置于代谢笼中

收集 24 h 尿液, 尿样在 4℃ 下 2000 r/min 离心 10 min(离心半径 8.26 cm), 取上清液进行分装, -80℃ 下保存。所有尿液样本在室温下解冻尿液样品, 取 150 μl 尿液低温离心 10 min(13 000 r/min, 4℃, 离心半径 8.26 cm), 取 100 μl 上清转移至 1.5 ml EP 管中, 加入内标各 10 μl, 涡旋震荡 10 s; 加入 100 μl 甲醇-乙腈(V:V=2:1), 涡旋震荡 1 min; 冰水浴中超声提取 10 min; -20℃ 静置 30 min; 离心 10 min(13 000 r/min, 4℃, 离心半径 8.26 cm), 用注射器吸取 160 μl 的上清液, 使用 0.22 μm 的有机相针孔过滤器过滤后, 转移到 LC 进样小瓶, -80℃ 下保存, 直到进行液相色谱-质谱(LC-MS)连用技术分析。为了检验系统的稳定性, 避免系统误差, 每分析 10 个实验样本后, 用质控样本(QC)分析一次, QC 样本是由所有样本的提取液等体积混合制备而成。

液相色谱-质谱分析条件: 研究采用超高效液相串联高分辨质谱仪组成的液质联用系统。色谱柱条件: ACQUITY UPLC BEH C18 色谱柱(100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm)用于色谱分析, 柱温保持在 45℃, 流速为 0.4 ml/min, 进样量 5 μl。样品质谱信号采集分别采用 ESI 正负离子扫描模式。相关参数设置: 正离子模式毛细管电压为 3 kV, 负离子为 -2 kV; 取样锥为 40 V; 震源偏移为 80 V; 源温度为 120℃; 脱溶温度为 450℃; 脱溶气流量为 800 L/h; 锥形气流为 50 L/h; 质量范围为 50 ~ 1000 amu; 扫描时间为 0.1 s; 碰撞能量(低能量)为 6; 坡道碰撞能量(高能)为 20 ~ 35; 扫描类型 MSEcentroid。

1.6 数据处理及统计学方法

从 UPLC-TOF/MS 分析仪采集的信号和质谱数据导出后, 利用 ProgenesisQIv2.3 软件对数据进行基线过滤、峰识别、峰对齐和归一化等预处理, 得到一个由代谢物的保留时间、离子模式和质核比等组成的二维数据矩阵。将数据矩阵导入 SIMCA 14.0 软件(瑞典 UmetricsAB 公司)的主成分分析法, 采用偏最小二乘法分析(PLS-DA)及正交偏最小二乘法分析(OPLS-DA)进行模式识别分析, 筛选差异性代谢物。选取 OPLS-DA 模型第一主成分变量权重值(VIP) > 1 的代谢物有重要贡献的变量, 结合单因素方差分析结果寻找差异代谢物。将鉴定出的差异标志物的 KEGG 号输入 Metaboanalyst 网页(<http://www.metaboanalyst.ca/>)的通路分析模块, 绘制出代谢通路分析图分析代谢通路。

2 结果

2.1 各组大鼠 LVEF、LVFS 和血清 NT-proBNP 水平比较

表 1 示, 与正常组比较, 模型组大鼠 LVEF、LVFS 降低, 血清 NT-proBNP 水平升高 ($P < 0.01$)。

表 1 各组大鼠 LVEF、LVFS 和血清 NT-proBNP 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	LVEF (%)	LVFS (%)	NT-proBNP (pg/ml)
正常组	6	91.36 ± 6.01	60.04 ± 11.13	310.29 ± 14.82
模型组	7	70.27 ± 6.50*	32.96 ± 5.12*	455.20 ± 24.05*
参麦注射液组	7	82.01 ± 3.30 [△]	46.09 ± 3.90 [△]	130.20 ± 28.05 [△]

注: LVEF, 左心室射血分数; LVFS, 左室短轴缩短率; NT-proBNP, 氨基末端脑钠肽前体; 与正常组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.01$

与模型组比较, 参麦注射液组大鼠 LVEF、LVFS 升高, 血清 NT-proBNP 水平降低 ($P < 0.01$)。

2.2 各组大鼠尿液 LC-MS 分析结果

各组大鼠基峰离子色谱图 (BPC) 如图 1、图 2 所示。在正、负离子模式下, 正常组大鼠的 BPC 图在峰高度与保留时间方面与模型组大鼠不同, 经参麦注射液干预后, 参麦注射液组 BPC 图同模型组存在明显差异。由图可知, 在 8 ~ 14 min 期间峰高度及数量存在一定变化, 说明 3 组尿液样本中的内源性代谢物存在显著差异。

2.3 各组大鼠尿液代谢物多变量统计分析

对标准化的数据进行 PCA 分析, 以观察组间聚类效果。图 3 示, 从 PCA 得分图可知, 模型组与正常组在空间分布上明显分开, 分离程度好; 模

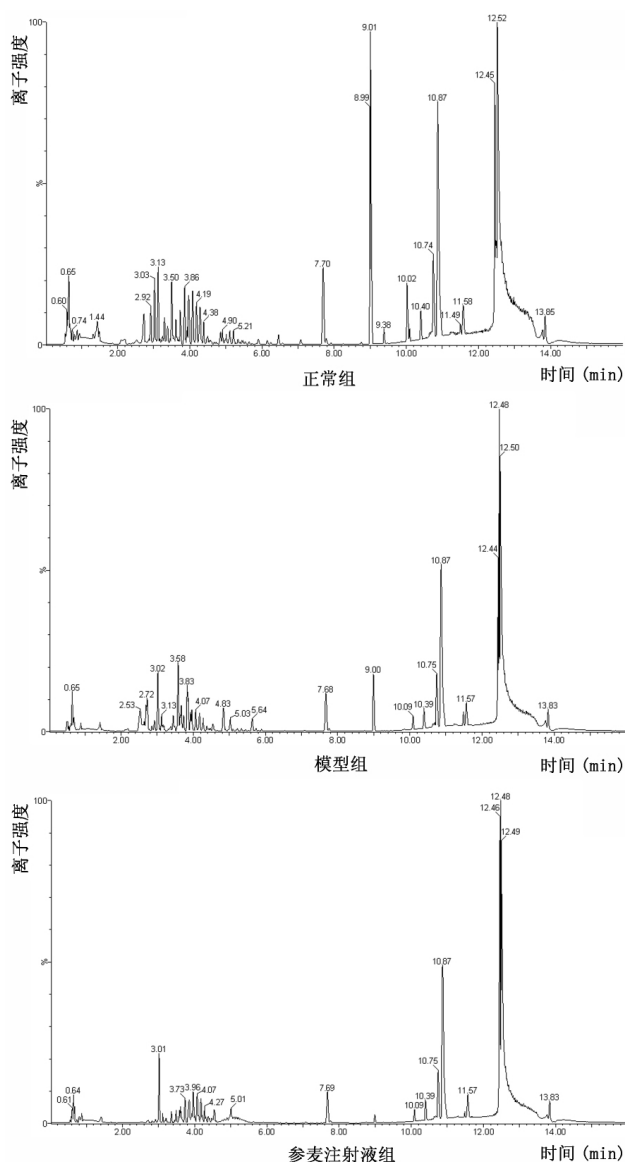


图 1 各组大鼠尿液正离子模式下基峰离子色谱图

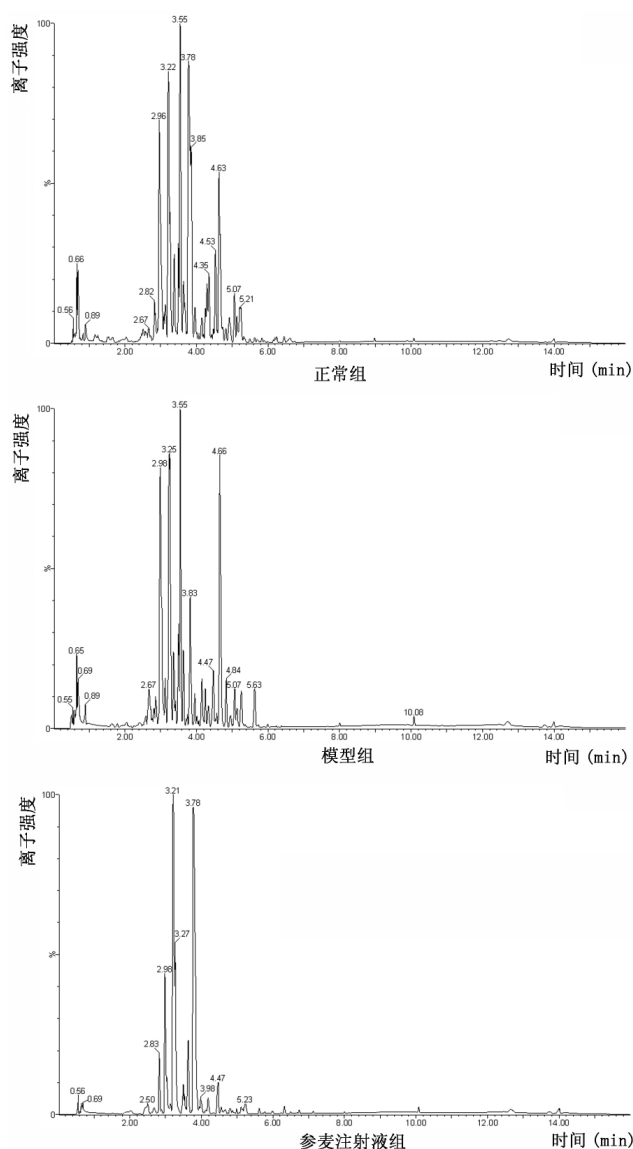


图 2 各组大鼠尿液负离子模式下基峰离子色谱图

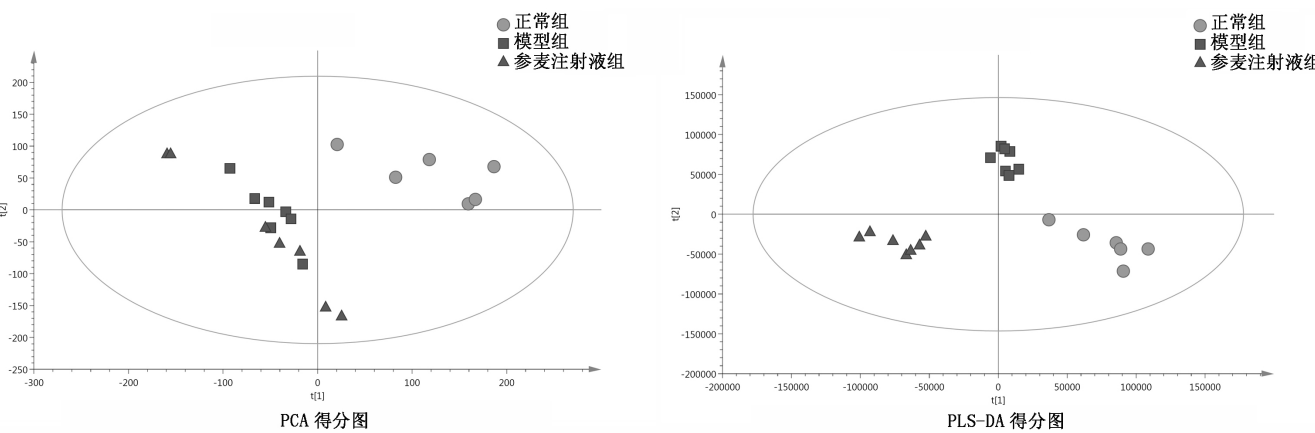


图 3 各组大鼠尿液代谢物 PCA 和 PLS-DA 得分图

型组与参麦注射液组存在部分重叠，分离程度一般。进一步采取有监督的 PLS-DA 分析，PLS-DA 得分图可知，3 组之间在空间上可明显区分，说明 3 组大鼠的尿液代谢成分存在差异。

2.4 各组大鼠尿液差异代谢物鉴定结果

通过 OPLS-DA 及单因素方差分析得到差异变量，根据差异标志物的精确分子量在 HMDB (<http://www.hmdb.ca/spectra/ms/search>)、Metlin (<https://metlin.scripps.edu/>) 等网络数据库搜索，筛选标准为 OPLS-DA 模型第一主成分变量重要性值 (VIP) >1 且 *t* 检验 *P* < 0.05 为条件筛选组间代谢物，最终得到显著差异代谢物 6 个，可视为参麦注射液发挥治疗高血压心力衰竭的作用靶

点。经参麦注射液干预后，4-吡哆酸、犬尿酸、L-精氨酸、肌酸、肌醇含量上调，5-L-谷酰基-牛磺酸含量下降，具体见表 2。

2.5 各组大鼠尿液差异代谢物代谢通路富集分析结果

将鉴定出的 6 种差异标志物的 KEGG 号输入 Metaboanalyst 网页的通路分析模块，绘制出代谢通路分析图，共鉴定出 10 个代谢通路，包括：精氨酸与脯氨酸代谢，D-精氨酸和 D-鸟氨酸代谢，牛磺酸和亚牛磺酸代谢，维生素 B₆ 代谢，肌醇磷酸代谢，半乳糖代谢，抗坏血酸和醛酸代谢，甘氨酸，丝氨酸和苏氨酸代谢，氨酰 tRNA 代谢，色氨酸代谢；其中精氨酸与脯氨酸代谢通路的原始 *P* 值

表 2 各组大鼠尿液潜在差异性代谢物

分子量	保留时间 (min)	分子式	代谢物	变化趋势		代谢途径
				模型组 vs 正常组	参麦注射液组 vs 模型组	
114.1662	0.6112	C ₄ H ₉ N ₃ O ₂	肌酸	↓	↑	精氨酸与脯氨酸代谢
179.0552	0.6287	C ₆ H ₁₂ O ₆	肌醇	↓	↑	肌醇磷酸代谢
172.0399	3.1064	C ₁₀ H ₇ NO ₃	犬尿酸	↓	↑	色氨酸代谢
349.2294	4.2745	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	L-精氨酸	↓	↑	精氨酸与脯氨酸代谢
253.0492	4.8287	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₆ S	5-L-谷酰基-牛磺酸	↑	↓	牛磺酸和亚牛磺酸代谢
184.0604	1.5309	C ₈ H ₉ NO ₄	4-吡哆酸	↓	↑	维生素 B ₆ 代谢

表 3 各组大鼠尿液差异代谢物代谢通路富集分析结果

通路名	化合物总数	匹配个数	原始 <i>P</i> 值	通路影响值	数据库名称
精氨酸与脯氨酸代谢	77	2	0.0139	0.1579	KEGG SMP
D-精氨酸和 D-鸟氨酸代谢	8	1	0.0198	<0.0001	KEGG
牛磺酸和亚牛磺酸代谢	20	1	0.0489	<0.0001	KEGG SMP
维生素 B ₆ 代谢	32	1	0.0772	0.0604	KEGG SMP
肌醇磷酸代谢	39	1	0.0935	0.1370	KEGG SMP
半乳糖代谢	41	1	0.0980	<0.0001	KEGG SMP
抗坏血酸和醛酸代谢	45	1	0.1071	<0.0001	KEGG SMP
甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢	48	1	0.1139	<0.0001	KEGG
氨酰 tRNA 代谢	75	1	0.1731	<0.0001	KEGG
色氨酸代谢	79	1	0.1816	<0.0001	KEGG SMP

(Raw P) < 0.05 且影响值 (Impact) > 0.1, 可作为参麦注射液治疗心力衰竭的作用机制, 详见表 3。

3 讨论

参麦注射液从古方生脉散简化而来, 由人参和麦冬两味药组成。人参性温, 《神农本草经》中记载“人参, 补五脏、安精神、定魂魄、止惊悸、明目益智”, 具有大补元气、补脾益肺和安神益智之功效。现代药理研究^[8]发现, 人参作用与强心苷相似, 能够改善心肌代谢、增强心肌收缩能力, 有强心及抗氧化等作用。麦冬性微寒, 《本草正义》中记载“麦冬, 其味大甘, 膏脂浓郁, 故专补胃阴, 滋阴液, 本是甘药补益之上品”, 具有养阴生津、润肺清心之功效。药理研究^[9]发现, 麦冬具有抗炎、抗氧化应激作用, 可扩张血管, 降低心脏外周阻力负荷。本研究采用 LC-MS 联用技术检测收集到的各组大鼠的尿液样本, 通过多元统计学方法筛选差异代谢物及相关代谢通路。结果表明, 参麦注射液干预后, L-精氨酸、4-吡哆酸、犬尿酸、肌酸、肌醇、5-L-谷酰基-牛磺酸 6 种生物标志物具有显著变化, 其相关性最强的通路为精氨酸与脯氨酸代谢, 可作为参麦注射液治疗高血压心力衰竭的作用靶点。

L-精氨酸是一氧化氮合成酶 (NOS) 的底物, 经 NOS 的催化下可合成信号分子一氧化氮 (NO), NO 可通过激活血管平滑肌中的鸟苷酸环化酶, 使环磷酸鸟苷生成增多, 发挥扩血管的作用^[10]。同时 L-精氨酸能抑制血浆内皮素 1 的生成及拮抗其生理活性, 起到调节心力衰竭患者血管张力的作用^[11]。本研究中模型组大鼠 L-精氨酸的含量较正常组大鼠降低, 经参麦注射液干预后, L-精氨酸含量向正常方向回调, 表明参麦注射液可通过调节 L-精氨酸含量, 使 NO 生成增多, 从而发挥扩血管作用, 改善血管内皮功能。吡哆胺-2, 3-加双氧酶 (IDO) 是色氨酸/犬尿酸代谢中的特异性氧化酶, 其活性的增强或降低与炎症、心力衰竭发生发展密切相关^[12]。模型组大鼠犬尿酸的含量较正常组低, 经参麦注射液干预后其含量逐渐回调, 提示参麦注射液可能通过纠正色氨酸代谢紊乱而增强 IDO 的活性, 减轻心力衰竭炎症反应。4-吡哆酸是维生素 B₆ 的重要代谢产物, 维生素 B₆ 转化成 4-吡哆酸后排出体外^[13]。维生素 B₆ 具有抗炎、抗氧化作用, 长期维生素 B₆ 缺乏则心血管事件发生率更高, 预后更差^[14]。参麦注射液组的 4-吡哆酸含量向正常水平回调, 推测参麦注射液通过干预维生素

B₆ 代谢而减轻心力衰竭的相关症状。

肌酸是一种含氮有机酸, 在肌肉中以磷酸肌酸 (CP) 的形式存在, 心肌发生缺血缺氧时, CP 能转化为 ATP 为机体提供能量, 保护心肌细胞^[15]。模型组大鼠中肌酸的含量较正常组大鼠低, 说明 CP 分解不足, 不能满足机体的需要。经参麦注射液干预后肌酸的含量向正常水平回调, 表明参麦注射液可通过纠正能量代谢紊乱而为机体补充 ATP, 减少心肌细胞凋亡。肌醇经磷酸化后形成磷脂酰肌醇 4, 5-二磷酸, 磷脂酰肌醇-3-激酶 (PI3K) 是一种在磷酸化磷脂酰肌醇 4, 5-二磷酸盐肌醇环上 3 号位的脂质激酶, 参与细胞分化、增殖、凋亡等多种功能的调节^[17-18]。研究^[19]表明, PI3K/AKT 信号通路可通过调控糖原合成酶激酶 3 β (GSK-3 β) 的活性, 减少线粒体通透性转换孔的开放, 保护心肌功能。参麦注射液组肌醇向正常方向回调提示可能与干预 PI3K/AKT 信号通路有关。5-L-谷酰基-牛磺酸由牛磺酸通过 γ -谷氨酰转肽酶产生, 牛磺酸能减少线粒体中丙二酸的生成, 提高内源性氧自由基清除剂的超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶的活力, 发挥抗氧化作用^[20]。模型组大鼠 5-L-谷酰基-牛磺酸含量较正常组大鼠高, 显示机体内牛磺酸和亚牛磺酸代谢紊乱, 经参麦注射液干预后其含量向正常方向回调, 表明牛磺酸和亚牛磺酸代谢紊乱得到改善。

综上所述, 参麦注射液可使高血压心力衰竭大鼠的异常代谢趋向正常, 其治疗作用机制可能与调节氨基酸代谢、能量代谢及氧化应激反应等有关。今后, 可与靶向代谢组学、蛋白组学等联合分析, 更全面了解参麦注射液对高血压心力衰竭作用的机制。

参考文献

- [1] FOROUZANFAR MH, LIU P, ROTH GA, et al. Global burden of hypertension and systolic blood pressure of at least 110 to 115 mmHg, 1990-2015 [J]. JAMA, 2017, 317 (2): 165-182.
- [2] ZHOU Y, HU Z. Comparison of the effects of Shenfu injection and Shenmai injection on doxorubicin-induced chronic heart failure in rats [J]. Inter J Clin Exper Med, 2018, 11 (12): 13169-13179.
- [3] SHI L, XIE Y, LIAL X, et al. Erratum to: Shenmai injection as an adjuvant treatment for chronic cor pulmonale heart failure: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials [J]. BMC Complement Altern Med, 2015, 15: 429. doi: 10.1186/s12906-015-0953-4.
- [4] 陈海鹏. 参麦注射液联合雷米普利片治疗高血压性心力衰竭的近期疗效及安全性分析 [J]. 系统医学, 2016, 1

- (1): 13-15.
- [5] ZHANG Y, WEI W, SHILOVA V, et al. Monoclonal antibody to marinobufagenin downregulates TGF β profibrotic signaling in left ventricle and kidney and reduces tissue remodeling in salt-sensitive hypertension [J]. J Am Heart Assoc, 2019, 8(20): e012138. doi: 10.1161/JAHA.119.012138.
 - [6] 李欣春, 梁昊, 胡志希, 等. 高血压心力衰竭大鼠动物模型的研制 [J]. 湖南中医药大学学报, 2017, 37(3): 245-248.
 - [7] WANG YC, MA DF, JIANG P, et al. Guizhi decoction inhibits cholinergic transdifferentiation by regulating imbalance of NGF and LIF in salt-sensitive hypertensive heart failure rats [J]. Chin J Integr Med, 2019. doi: 10.1007/s11655-019-2706-6.
 - [8] 陈奇. 中药药理研究方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 1103.
 - [9] 谢晓芳, 彭成, 徐菲飞, 等. 人参皂甙成分对戊巴比妥钠损伤心肌细胞 ATP 酶及相关离子的影响 [J]. 中药药理与临床, 2014, 30(5): 61-64.
 - [10] WU Z, ZHAO X, MIYAMOTO A, et al. Effects of steroidal saponins extract from ophiopogon japonicus root ameliorates doxorubicin-induced chronic heart failure by inhibiting oxidative stress and inflammatory response [J]. Pharm Biol, 2019, 57(1): 176-183.
 - [11] BOCCHI EA, VILELLA DE MORAES AV, ESTEVES-FILHO A, et al. L-arginine reduces heart rate and improves hemodynamics in severe congestive heart failure [J]. Clin Cardiol, 2000, 23(3): 205-210.
 - [12] 王志坚, 赵水平. L-精氨酸对心力衰竭患者血管内皮功能的影响 [J]. 中国循环杂志, 2003, 18(2): 55-57.
 - [13] 孔红, 朱鼎良. 色氨酸/犬尿氨酸代谢途径与心血管疾病 [J]. 中华高血压杂志, 2012, 20(5): 433-435.
 - [14] 王雪晴. 维生素 B₆ 在心肌梗死后心功能恢复中的作用及机制研究 [D]. 济南: 山东大学, 2019.
 - [15] UELAND PM, ULVIK A, RIOS-AVILA L, et al. Direct and functional biomarkers of vitamin B₆ status [J]. Annu Rev Nutr, 2015, 35: 33-70. doi: 10.1146/annurev-nutr-071714-034330.
 - [16] 刘瑛琪, 李天德, 任艺虹, 等. 磷酸肌酸对心肌细胞线粒体的保护作用 [J]. 心脏杂志, 2004, 16(1): 14-16.
 - [17] HI YF, WANG JH, ZHONG RG. Advance in the relationship between key genes in inositol metabolism and neural-tube defects [J]. Chin J Birth Health Hered, 2014, 22(10): 1-6.
 - [18] HUANG CH, MANDELKER D, SCHMIDTKITTLER O, et al. The structure of a human p110 α / p85 α complex elucidates the effects of oncogenic PI3K α mutation [J]. Science, 2007, 318(5857): 1744-1748.
 - [19] 杨述亮, 韩燕, 李占清. PI3K/AKT/GSK-3 β 信号通路与心肌缺血/再灌注损伤的相关性研究 [J]. 医学综述, 2015, 21(9): 1571-1574.
 - [20] 陈严, 吴柱国. 牛磺酸对心肌保护作用的研究进展 [J]. 广东医学院学报, 2010, 28(5): 569-572.

Effects of Shenmai Injection (参麦注射液) on Urine Metabolomics of Hypertensive Heart Failure Model Rats

YANG Meng, HU Zhixi, LI Lin, ZhONG Senjie, YAO Tao, CHENG Bin

Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, 410208

ABSTRACT Objective To investigate the effects and possible mechanism of Shenmai Injection (参麦注射液) on hypertensive heart failure. **Methods** A total of 20 Dahl/SS salt-sensitive male rats were randomly divided into three groups: A normal group with 6 rats was given low-salt diet for 20 weeks; a model group (n=7) and a Shenmai Injection group (n=7) were given 20 g high-salt diets (8% sodium chloride) for 20 weeks to establish a rat model of hypertension heart failure. Left ventricular ejection fraction (LVEF) and left ventricular shortening fraction (LVFS) were detected by echocardiography. Serum amino-terminal brain natriuretic peptide (NT-proBNP) levels were measured. Rat urine was collected for liquid chromatography mass spectrometry (LC-MS) combined with technical analysis to screen differential metabolites and analyze related metabolic pathways. **Results** Compared with the normal group, LVEF and LVFS in the model group decreased, and serum NT-proBNP levels increased ($P < 0.01$). Compared with the model group, the LVEF and LVFS in the Shenmai Injection group increased, and the serum NT-proBNP level decreased ($P < 0.01$). The urine metabolic profile of the 3 groups of rats showed a clear trend of separation. After intervention with Shenmai Injection, the 6 differential metabolites of 4-pyridoxine, kynuric acid, L-arginine, creatine, inositol, 5-L-glutamyl-bovine sulfonic acid had significant changes, and their metabolic pathways involve arginine and proline metabolism. **Conclusion** Shenmai Injection can normalize abnormal urine metabolism in hypertensive heart failure rats, and its mechanism may be related to regulating amino acid metabolism, energy metabolism and oxidative stress response.

Keywords hypertension; heart failure; Shenmai Injection (参麦注射液); metabolomics; ultra high performance liquid chromatography-mass spectrometry

(收稿日期: 2019-08-07; 修回日期: 2019-10-29)

编辑: 邓 媛