

DOI:10.13288/j.11-2166/r.2023.07.009

升解通瘀汤对缺血性心肌病致慢性心力衰竭 气虚血瘀证患者尿液代谢组学的影响

孙梓宜¹, 姚魁武², 王子涵¹, 刘婧楠¹, 史载祥³, 樊佳溶¹, 黄力³, 李春岩³✉

1. 北京中医药大学, 北京市朝阳区北三环东路11号, 100029; 2. 中国中医科学院眼科医院; 3. 中日友好医院

[摘要] **目的** 探讨升解通瘀汤治疗缺血性心肌病致慢性心力衰竭气虚血瘀证的可能作用机制。**方法** 20例缺血性心肌病致慢性心力衰竭气虚血瘀证患者随机分为治疗组与对照组各10例。对照组予常规西药治疗, 治疗组在此基础上加用升解通瘀汤口服治疗, 每日1剂, 两组疗程均为4周。采用氢-核磁共振谱(¹H-NMR)检测技术分别对两组患者治疗前后的尿液样本进行分析, 应用主成分分析法(PCA)和正交偏最小二乘法判别分析(OPLS-DA)对治疗前后组内与组间的差异性代谢物进行筛选, 并利用MetaboAnalyst对差异代谢物进行代谢通路分析。**结果** 治疗前两组间无差异代谢物; 治疗后两组间有果糖和 α -羟基异戊酸酯2个差异代谢物, 且两种差异代谢物在治疗组的含量均较对照组更低。两组治疗前后组内比较共筛选出差异代谢物20种, 其中对照组3种, 分别为乳酸、酪氨酸、色氨酸, 含量均较治疗前降低; 治疗组17种, 其中缬氨酸、3,4-二羟扁桃酸、吡啶磷酸盐、烟酸、马尿酸含量较治疗前升高, 精氨酸、 α -葡萄糖、 β -葡萄糖、乙酰乙酸、胆碱、异亮氨酸、亮氨酸、肌基乙酸、甘露醇、尿素、蛋氨酸、天冬氨酸含量较治疗前降低。代谢通路分析结果显示, 仅在治疗组治疗前后的差异代谢物中富集出4条代谢通路, 分别为氨酰-tRNA生物合成, 缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸生物合成, 缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸降解, 精氨酸生物合成。**结论** 升解通瘀汤治疗缺血性心肌病致慢性心力衰竭气虚血瘀证的作用机制可能涉及对果糖、支链氨基酸代谢和异亮氨酰-tRNA生物合成的调节。

[关键词] 缺血性心肌病; 慢性心力衰竭; 气虚血瘀证; 升解通瘀汤; 代谢组学

缺血性心肌病(ischemic cardiomyopathy, ICM)是冠心病的晚期或终末阶段, 由于心肌长期的缺血、缺氧导致的心脏不良重塑, 多数ICM患者会发展为慢性心力衰竭(chronic heart failure, CHF)^[1]。ICM致CHF归属于中医学“胸痹”“喘证”“心水”等范畴, 气虚血瘀证是本病的常见证型之一, 其中心气虚是疾病的始动因素, 血瘀作为病理产物贯穿疾病始终^[2]。升解通瘀汤具有益气升陷、化瘀利水之效, 临床适用于冠心病、CHF辨证属气虚血瘀或气陷血瘀证者, 在临床实践中我们观察到了升解通瘀汤对于ICM致CHF气虚血瘀证患者亦具有较好疗效。本研究采用随机、对照的研究方法, 应用氢-核磁共振谱(¹H-NMR)检测技术对ICM致CHF气虚血瘀证患者的尿液样本进行分析, 以从代谢组

学角度探讨升解通瘀汤治疗ICM致CHF气虚血瘀证的可能作用机制。本研究经中日友好医院临床研究伦理委员会批准(批准号: 2019-120-K82)。

1 临床资料

1.1 诊断及辨证标准

ICM西医诊断标准参照《内科学》^[3]制定; CHF西医诊断标准参照《中国心力衰竭诊断和治疗指南2018》^[4]制定。

气虚血瘀证中医辨证标准参考《慢性心力衰竭中西医结合诊疗专家共识》^[5]、《中药新药临床研究指导原则(试行)》^[6]制定。

1.2 纳入标准

1) 符合上述诊断及辨证标准; 2) 年龄35~85岁, 性别不限; 3) 能配合完成6分钟步行试验(6MWT)^[7], 纽约心脏协会(NYHA)心功能分级Ⅱ~Ⅲ级; 4) 自愿参加并签署知情同意书。

✉ 通讯作者: lcyzyhy@sina.com

1.3 排除标准

1) 肝功能异常 [丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、门冬氨酸氨基转移酶 (AST) 为正常上限 3 倍以上], 或肾功能异常 [血肌酐 (Cr) > 256 $\mu\text{mol/L}$ 或估算肾小球滤过率 (eGFR) < 20 ml/(min $\cdot$ 1.73 m²)]; 2) 近 2 周内出现不稳定型心绞痛; 3) 心肌梗死急性期或计划行心外科手术; 4) 有明显出血倾向的血液系统疾病; 5) 对试验药物过敏; 6) 有精神疾患, 药物或其他物品滥用史; 7) 妊娠或准备妊娠及哺乳期妇女。

1.4 病例来源

观察病例来源于 2020 年 12 月至 2022 年 2 月在中日友好医院中西医结合心脏科门诊及病房就诊的 ICM 致 CHF 气虚血瘀证患者。

2 方法

2.1 随机方法

本研究在一项纳入 60 例 ICM 致 CHF 患者的随机对照试验的背景下进行, 该研究采用简单随机化方法, 由第三方利用 SPSS 26.0 中的随机数字生成器生成 60 例患者对应的随机数字, 按照 1:1 的比例将奇数划为治疗组、偶数划为对照组, 并利用不透光信封进行随机隐藏; 在其基础上, 本研究通过简单随机抽样方法, 在研究开始前分别在这 60 例 ICM 致 CHF 患者的治疗组与对照组中各抽取 10 个信封, 并在信封上进行标记, 之后对有标记的患者留取尿液进行代谢组学测定。

2.2 治疗方法

对照组依据《中国心力衰竭诊断和治疗指南 2018》^[4]、《稳定性冠心病诊断与治疗指南》^[8] 予常规西药治疗, 包括血管紧张素转化酶抑制剂 (ACEI) 或血管紧张素受体拮抗剂 (ARB) 或血管紧张素受体脑啡肽酶抑制剂 (ARNI) 类、利尿剂、醛固酮受体拮抗剂、 β 受体阻滞剂、抗血小板药物等, 使用剂量在符合临床标准范围内依据患者的病情变化进行调整。

治疗组在对照组基础上加用升解通瘀协定方治疗, 组成: 黄芪 30 g, 山萸肉 15 g, 党参 20 g, 知母 15 g, 升麻 6 g, 北柴胡 6 g, 桔梗 10 g, 三棱 15 g, 莪术 15 g, 益母草 15 g。药物由中日友好医院药学部统一配制, 使用中药多功能提取罐 (武汉制药机械厂, 2M3 型) 每次加 10 倍量水提取, 共两次, 每次 1 h。合并两次滤液, 使用双效减压浓缩设备 (常熟市中药制药机械有限公司, 700 kg/h 型) 浓缩至生药含量为 0.735 g/ml 后进行分装。每剂 2 袋,

每袋 100 ml。每日 1 剂, 分别于早、晚饭后 30 min 服用。

两组疗程均为 4 周, 在观察期间不接受其他中药及中成药治疗。

2.3 观察指标及方法

2.3.1 一般资料 治疗前记录患者性别、年龄、病程、体重指数; 留取清晨空腹静脉血标本检测空腹血糖 (FPG)、总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、尿素氮 (BUN)、尿酸 (UA)、肌酐 (Cr) 及血清 N 端脑钠肽前体 (NTpro-BNP); 由两位具有 5 年以上从业经历的超声科医师采用美国 GE Vivid E9 型彩色多普勒超声诊断仪进行二维超声心动图检查, 测量左室射血分数 (LVEF)。

2.3.2 尿液代谢组学检测 试剂与仪器: 磷酸二氢钠 (批号: 20220214)、无水磷酸二氢钾 (批号: 20220118), 中国 Solarbio 公司; 99.9% 重水 (美国 Norell 公司, 批号: M3402); 2,2,3,3-三甲基甲硅烷基丙酸 (TSP, 加拿大 Merck 公司, 批号: SZ-BA183XV)。配制 pH 为 7.4 的缓冲液, 加入无水磷酸二氢钾 10.6641 g 和磷酸二氢钠 1.8124 g 以及 TSP 0.05 g (使最终尿样中的 TSP 浓度为 0.01%), 将上述物质定容于 50 ml 的重水中。VNMR 600 MHz 型核磁共振波谱仪, 美国 Varian 公司; Heraeus Multifuge X1R 型台式离心机, 美国 Thermo 公司。

1) 尿液样品的收集与处理。患者治疗前后在禁食 8~12 h 后于晨起空腹留取中段尿, 取 3 ml 尿液样品, 置于离心机中, 3000 r/min 离心 5 min (离心半径 5 cm, 4 $^{\circ}\text{C}$, 下同) 后取出, 取上清液 1000 μl 分装到两个 EP 管内并进行统一编号, 冻存于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱备用。

2) 代谢组学检测。将待检尿液样品一次性从 -80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中取出, 于室温下完全解冻后置入离心机中, 3000 r/min 离心 5 min。取上清液 550 μl 装入 1.5 ml EP 管内, 再加入 55 μl 缓冲液于 EP 管内, 混匀后置入离心机中, 13 000 r/min 离心 15 min。取上清液 550 μl 转移至内径为 5 mm 的核磁管内进行上机采样。尿液样品采用 1D-NOESY 序列收集信号, 设置采样点数为 128 k, 弛豫时间为 2 s, 温度为 25 $^{\circ}\text{C}$, 采用预饱和方式抑制水峰。对自由感应衰减信号进行填零, 加上 0.5 Hz 线增宽因子再经过傅里叶变换, 每个尿液样品的检测结果生成为一维的氢-核磁共振图谱 ($^1\text{H-NMR}$)。以 TSP 为化学位移参考峰的位置, 并定为 0。

3) 代谢组学数据的处理。利用 MestReNova 6.0 软件对图谱进行基线校正、相位校准、谱峰对

齐、剪水峰、分段积分、归一化等处理,之后将数据导入 SIMCA 14.1 软件进行主成分分析 (PCA) 和正交偏最小二乘法判别分析 (OPLS-DA)。模型的质量通过典型的七重排列交叉验证进行评估,检验次数设定为 200,以 R^2 值表示拟合优度, Q^2 值估计模型的预测能力。应用 OPLS-DA 分析方法,对治疗前后两组患者的尿液代谢组学结果通过组内和组间的比较进行差异代谢物的筛选,以权重系数 (VIP) >1 且两组间相应位移下的平均积分比较的 P 值 <0.05 为筛选条件,利用 Chemomx profiler 9.0 软件确定差异性代谢物。同时计算治疗前后差异代谢物的变异倍数 (FC),其中 $FC>1$ 表明治疗后患者尿液中该代谢物含量增加, $FC<1$ 表示减少^[9]。最后将差异代谢物利用 MetaboAnalyst (<https://www.metaboanalyst.ca/>) 进行分析,以 $P<0.05$ 且错误发现率 (FDR) <0.1 为筛选条件^[10],确定代谢通路。

2.4 统计学方法

采用 SPSS 26.0 统计软件进行数据分析。计量资料服从正态分布时用 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,比较采用 t 检验;不服从正态分布时用 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,比较采用非参数秩和检验。计数资料以例 (%) 表示,比较采用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 两组患者一般资料比较

表 1 示,两组患者一般资料比较差异无统计学意义 ($P>0.05$),具有可比性。

表 1 两组缺血性心脏病致慢性心力衰竭气虚血瘀证患者一般资料比较

Table 1 Baseline characteristics of patients with chronic heart failure and *qi* deficiency and blood stasis syndrome caused by ischemic cardiomyopathy

项目	对照组 (10 例)	治疗组 (10 例)	P 值
男性/例 (%)	7 (70.0)	8 (80.0)	0.606
年龄/岁, $\bar{x}\pm s$	68.90 $\pm$ 14.86	65.40 $\pm$ 14.46	0.600
病程/年, $\bar{x}\pm s$	4.20 $\pm$ 1.55	3.60 $\pm$ 0.97	0.312
体重指数/ $\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$, $\bar{x}\pm s$	26.72 $\pm$ 4.85	25.74 $\pm$ 3.63	0.614
LVEF/%, $\bar{x}\pm s$	40.10 $\pm$ 10.96	39.50 $\pm$ 7.43	0.888
BUN/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, $\bar{x}\pm s$	8.50 $\pm$ 3.63	7.69 $\pm$ 2.87	0.587
UA/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $\bar{x}\pm s$	522.10 $\pm$ 171.72	501.80 $\pm$ 216.28	0.819
Cr/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $\bar{x}\pm s$	111.57 $\pm$ 53.81	95.46 $\pm$ 23.39	0.705
FPG/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, $\bar{x}\pm s$	6.89 $\pm$ 3.20	7.69 $\pm$ 3.40	0.596
TC/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, $\bar{x}\pm s$	4.49 $\pm$ 1.50	3.59 $\pm$ 1.13	0.148
LDL-C/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, $\bar{x}\pm s$	2.86 $\pm$ 1.10	2.23 $\pm$ 0.86	0.173
HDL-C/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, $\bar{x}\pm s$	1.15 $\pm$ 0.25	1.06 $\pm$ 0.33	0.540
TG/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, $M(P_{25}, P_{75})$	1.25 (0.94, 1.49)	1.35 (0.83, 1.48)	0.597
NTpro-BNP/ $\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$, $M(P_{25}, P_{75})$	2190.00 (436.00, 4952.00)	776.50 (422.25, 2270.25)	0.226

注: LVEF, 左室射血分数; BUN, 尿素氮; UA, 尿酸; Cr, 肌酐; FPG, 空腹血糖; TC, 总胆固醇; LDL-C, 低密度脂蛋白胆固醇; HDL-C, 高密度脂蛋白胆固醇; TG, 甘油三酯; NTpro-BNP, N 端脑钠肽前体。

3.2 两组患者治疗前尿液代谢物分析

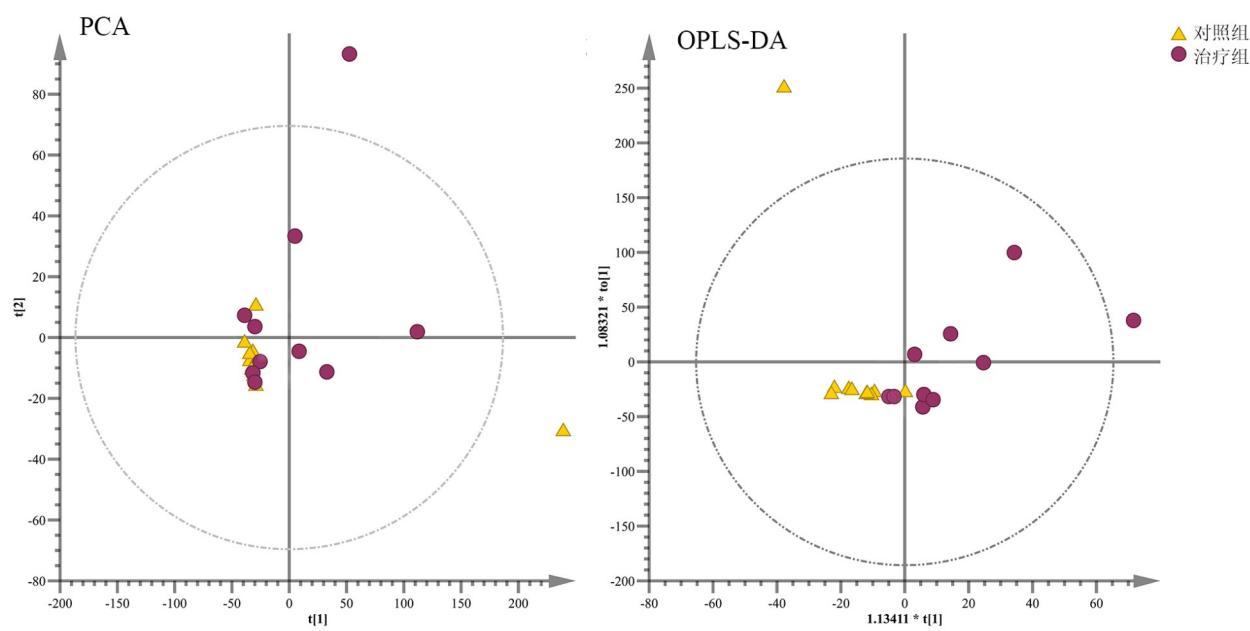
对两组患者治疗前尿液代谢物进行组间的 PCA 和 OPLS-DA 分析。图 1 示, PCA 分析结果中样本较为集中,提示两组样本的同质性较好; OPLS-DA 分析显示两组样本的区分程度一般。采用七重排列交叉验证模型结果的可靠性,对模型进行 200 次置换检验,图 2 示,模型基本稳定,未出现过拟合现象。以 $VIP>1$ 、 $P<0.05$ 为筛选条件筛选两组间的差异性代谢物,结果未能在两组间鉴定出目前已知的差异代谢物。

3.3 两组患者治疗后尿液代谢物分析

对两组患者治疗后尿液代谢物进行组间的 PCA 和 OPLS-DA 分析。图 3 示, PCA 分析显示,治疗后组间分离程度一般; OPLS-DA 分析显示,组间区分程度一般。采用七重排列交叉验证模型结果的可靠性,结果显示其模型欠佳,见图 4。以 $VIP>1$ 、 $P<0.05$ 为筛选条件共筛选出治疗后两组间的差异性代谢物 2 种,分别为果糖 (VIP 值为 1.27、 P 值为 0.031, FC 值为 0.36) 和 α -羟基异戊酸酯 (VIP 值为 1.27、 P 值为 0.031, FC 值为 0.36),其含量治疗组均较对照组降低。

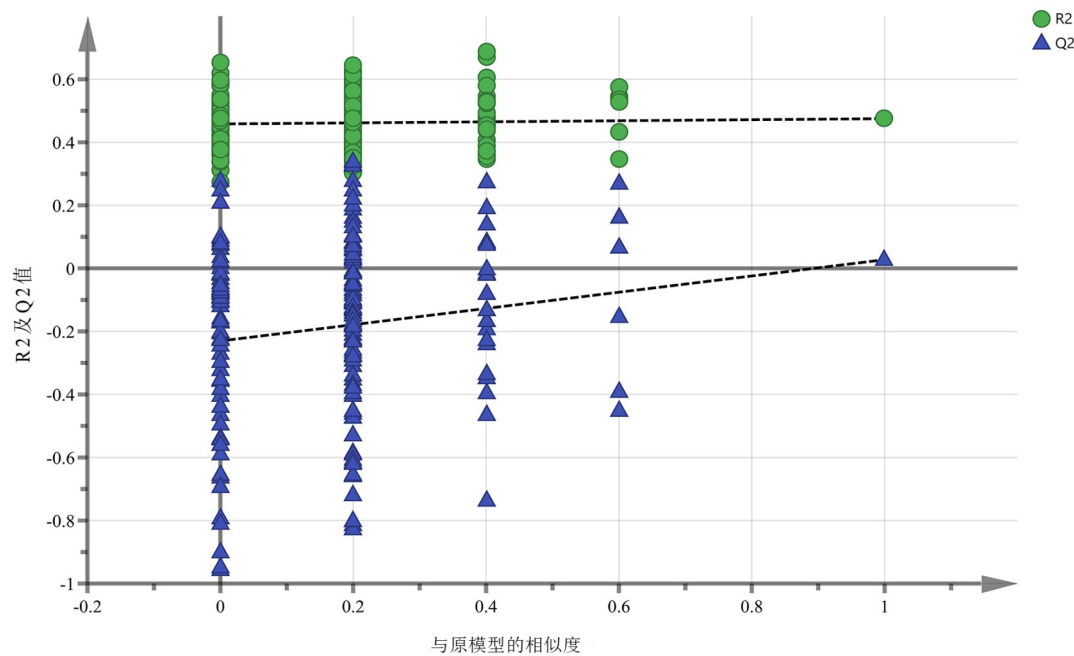
3.4 两组患者治疗前后尿液代谢物分析

分别对两组患者治疗前后的尿液代谢物进行 PCA 和 OPLS-DA 分析。图 5 示, PCA 分析显示对照组治疗前后散点大部分重叠,分离程度一般;治疗组治疗前后散点有部分重叠,治疗前与治疗后样品



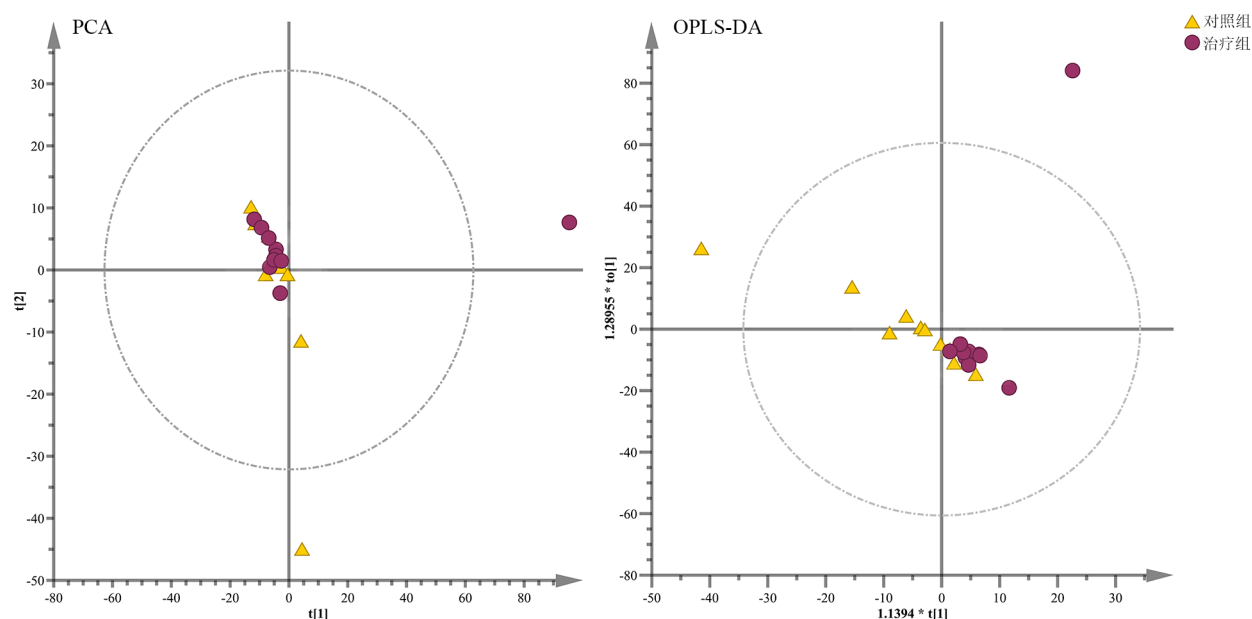
注：PCA，主成分分析；OPLS-DA，正交偏最小二乘法判别分析；PCA得分图中t [1] 为第一成分，t [2] 为第二成分；OPLS-DA得分图中横坐标为主要成分的得分值，纵坐标为正交成分的得分值。

图1 两组缺血性心脏病致慢性心力衰竭气虚血瘀证患者治疗前尿液代谢物PCA与OPLS-DA得分图
Figure 1 PCA and OPLS-DA scores plots of urine metabolites before treatment in both groups of patients with chronic heart failure and qi deficiency and blood stasis syndrome caused by ischemic cardiomyopathy



注：R2，表示当前模型可对数据方差或变异进行解释的比例，即解释率，表明模型拟合优度；Q2，表示当前模型可对数据方差进行预测的比例，即预测率，表明当前模型的预测能力。

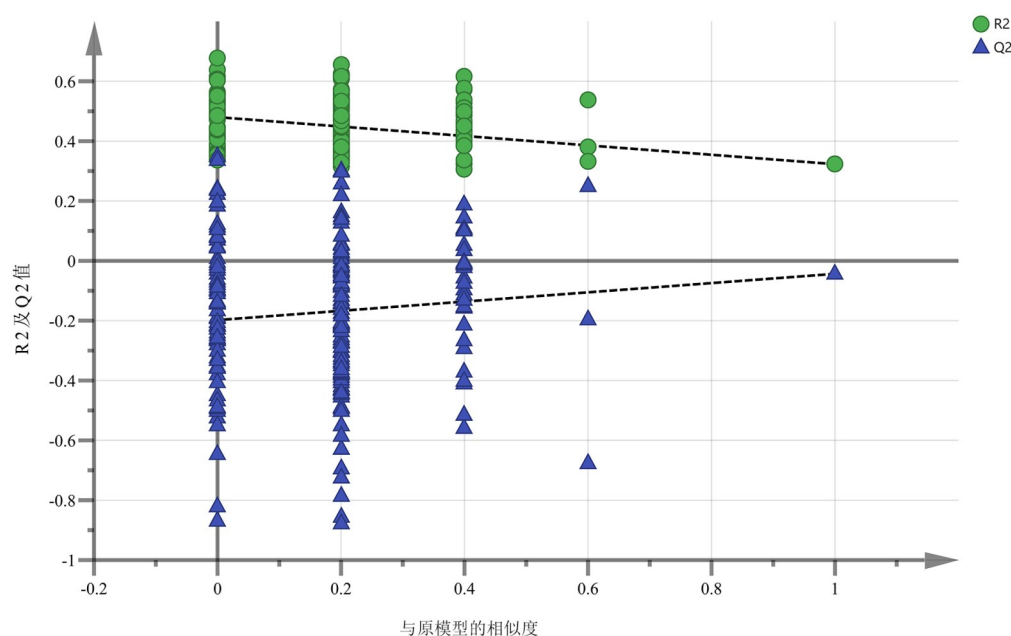
图2 两组缺血性心脏病致慢性心力衰竭气虚血瘀证患者治疗前尿液代谢物的正交偏最小二乘法判别分析置换检验图
Figure 2 Orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) score plot and permutation test of urine metabolites before treatment in both groups of patients with chronic heart failure and qi deficiency and blood stasis syndrome caused by ischemic cardiomyopathy



注：PCA，主成分分析；OPLS-DA，正交偏最小二乘法判别分析；PCA 得分图中 $t[1]$ 为第一成分， $t[2]$ 为第二成分；OPLS-DA 得分图中横坐标为主要成分的得分值，纵坐标为正交成分的得分值。

图3 两组缺血性心脏病致慢性心力衰竭气虚血瘀证患者治疗后尿液代谢物PCA与OPLS-DA得分图

Figure 3 PCA and OPLS-DA scores plots of urine metabolites after treatment in both groups of patients with chronic heart failure and qi deficiency and blood stasis syndrome caused by ischemic cardiomyopathy



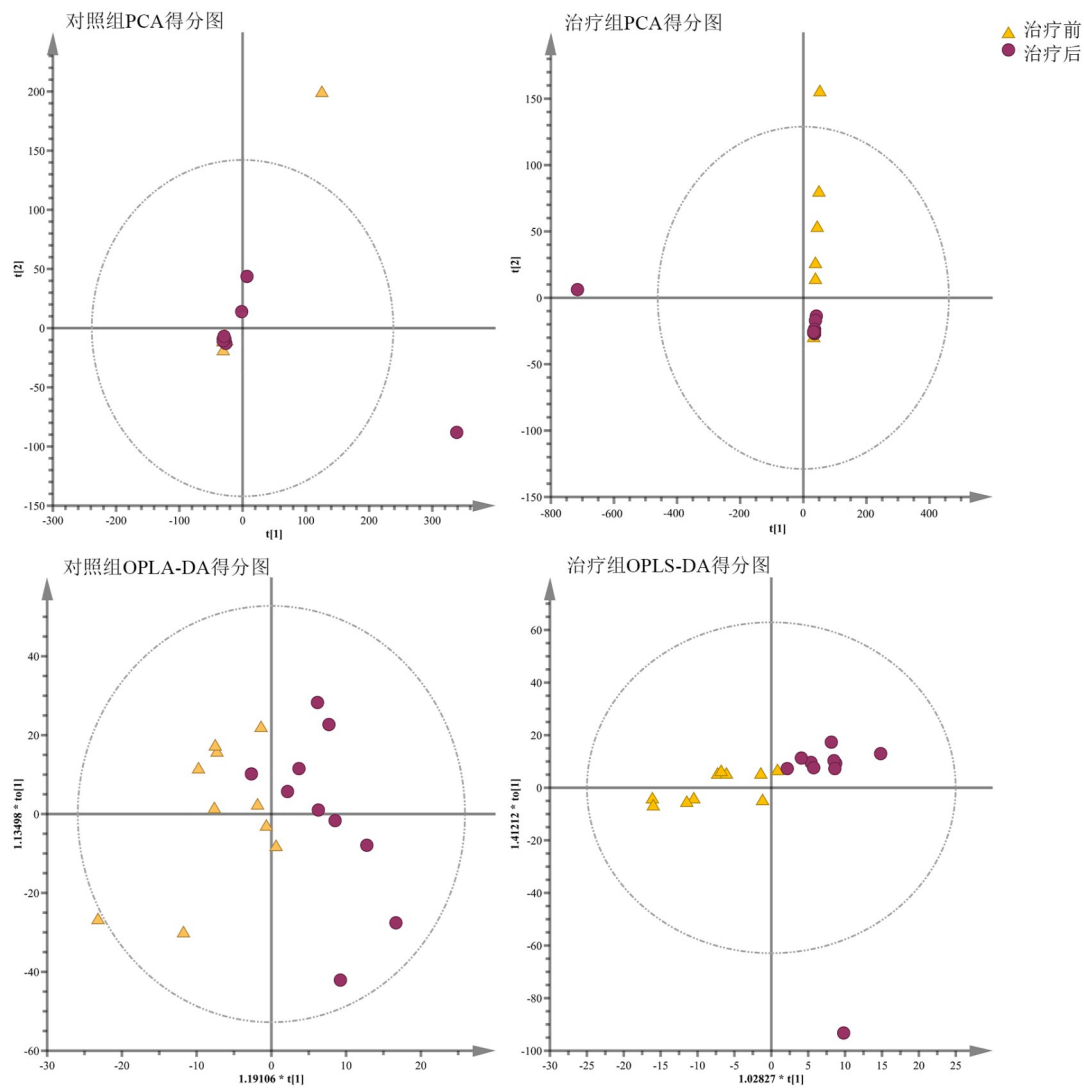
注：R2，表示当前模型可对数据方差或变异进行解释的比例，即解释率，表明模型拟合优度；Q2，表示当前模型可对数据方差进行预测的比例，即预测率，表明当前模型的预测能力。

图4 两组缺血性心脏病致慢性心力衰竭气虚血瘀证患者治疗后尿液代谢物的正交偏最小二乘法判别分析置换检验图

Figure 4 Orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) score plot and permutation test of urine metabolites after treatment in both groups of patients with chronic heart failure and qi deficiency and blood stasis syndrome caused by ischemic cardiomyopathy

基本可以区分，治疗后的散点分布有聚拢的趋势。OPLS-DA 分析显示，两组内治疗前后样本间的区

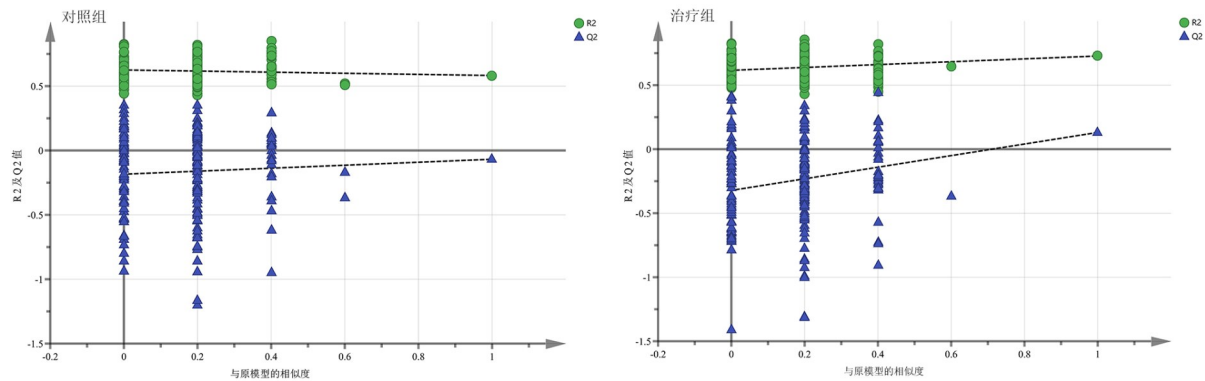
分程度较高。采用七重排列交叉验证模型结果的可靠性，图6示，模型基本稳定。以 $VIP > 1$ 、 $P < 0.05$



注：PCA，主成分分析；OPLS-DA，正交偏最小二乘法判别分析；PCA得分图中 $t[1]$ 为第一成分， $t[2]$ 为第二成分；OPLS-DA得分图中横坐标为主要成分的得分值，纵坐标为正交成分的得分值。

图5 两组缺血性心脏病致慢性心力衰竭气虚血瘀证患者治疗前后尿液代谢物的PCA与OPLS-DA得分图

Figure 5 PCA and OPLS-DA scores plots of urine metabolites before and after treatment in both groups of patients with chronic heart failure and *qi* deficiency and blood stasis syndrome caused by ischemic cardiomyopathy



注：R2，表示当前模型可对数据方差或变异进行解释的比例，即解释率，表明模型拟合优度；Q2，表示当前模型可对数据方差进行预测的比例，即预测率，表明当前模型的预测能力。

图6 两组缺血性心脏病致慢性心力衰竭气虚血瘀证患者治疗前后尿液代谢物的正交偏最小二乘法判别分析OPLS-DA置换检验图
Figure 6 Orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) scores plot and permutation tests of urine metabolites before and after treatment in both groups of patients with chronic heart failure and *qi* deficiency and blood stasis syndrome caused by ischemic cardiomyopathy

为筛选条件筛选两组治疗前后的差异性代谢物, 结果表明, 对照组患者差异性代谢物有 3 种, 分别为乳酸、酪氨酸、色氨酸, 含量均较治疗前降低; 治疗组差异性代谢物有 17 种, 其中缬氨酸、3,4-二羟扁桃酸、吡啶磺酸盐、烟酸、马尿酸含量较治疗前增加, 精氨酸、 α -葡萄糖、 β -葡萄糖、乙酰乙酸、胆碱、异亮氨酸、亮氨酸、肌基乙酸、甘露醇、尿素、蛋氨酸、天冬氨酸含量较治疗前降低, 详见表 2。

表 2 两组缺血性心肌病致慢性心力衰竭气虚血瘀证患者治疗前后尿液差异代谢物变化情况

Table 2 Changes of differential metabolites in the urine of patients with chronic heart failure and *qi* deficiency and blood stasis syndrome caused by ischemic cardiomyopathy

组别	代谢物	VIP 值	P 值	FC 值	变化趋势
治疗组	烟酸	1.36	0.046	4.41	上升
	马尿酸	1.43	0.028	2.09	上升
	吡啶磺酸盐	1.63	0.047	1.86	上升
	缬氨酸	1.56	0.018	1.65	上升
	3,4-二羟扁桃酸	1.24	0.030	1.60	上升
	蛋氨酸	1.65	0.046	0.69	下降
	尿素	1.42	0.038	0.58	下降
	天冬氨酸	1.35	0.037	0.32	下降
	亮氨酸	1.65	0.026	0.18	下降
	肌基乙酸	1.79	0.029	0.17	下降
	异亮氨酸	1.35	0.039	0.16	下降
	β -葡萄糖	1.83	0.019	0.14	下降
	甘露醇	1.80	0.025	0.12	下降
	胆碱	1.78	0.028	0.10	下降
	乙酰乙酸	1.75	0.032	0.06	下降
	精氨酸	1.75	0.013	0.02	下降
	α -葡萄糖	1.55	0.042	0.02	下降
对照组	酪氨酸	1.21	0.004	0.68	下降
	色氨酸	1.21	0.004	0.68	下降
	乳酸	1.25	0.015	0.67	下降

注: VIP, 权重系数; FC, 变异倍数。

3.5 治疗组治疗前后差异代谢物代谢通路分析结果

为明确升解通瘀汤发挥治疗作用的代谢途径, 将组内与组间筛选得到的差异代谢物导入 Metabo-Analyst 中进行代谢通路分析。结果仅在治疗组治疗前后筛选得到的 17 个差异代谢物中富集出 4 条代谢通路, 分别为氨酰-tRNA 生物合成, 缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸生物合成, 缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸降解, 精氨酸生物合成, 具体见表 3。

表 3 缺血性心肌病致慢性心力衰竭气虚血瘀证患者治疗组治疗前后差异代谢物的代谢通路分析结果

Table 3 Pathway analysis of differential metabolites in the treatment group of patients with chronic heart failure and *qi* deficiency and blood stasis syndrome caused by ischemic cardiomyopathy

代谢通路	匹配个数	错误发生率	P 值
氨酰-tRNA 生物合成	5	0.001	<0.001
缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸生物合成	2	0.063	0.002
缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸降解	3	0.083	0.003
精氨酸生物合成	2	0.099	0.005

4 讨论

ICM 致 CHF 的病机关键在于心气、心阳亏虚, 气虚推动无力, 阳虚温化失司, 导致水湿、血瘀的停聚而发病, 因此, 益气温阳、活血利水为重要的治疗法则。升解通瘀汤 (又名升陷祛瘀汤) 中黄芪、党参、山萸肉补益上中下三焦之气, 三棱、莪术、益母草活血化瘀利水, 升麻、柴胡升气举陷, 知母性凉制黄芪之温, 桔梗引诸药上行。全方气血水同调、益气与调气并重, 共奏益气升陷、化瘀利水之功效, 是临床中治疗冠心病、CHF 的有效方剂^[11-13]。为揭示升解通瘀汤治疗 ICM 致 CHF 气虚血瘀证的作用机制, 本研究通过代谢组学技术对两组 ICM 致 CHF 气虚血瘀证患者治疗前后的尿液样本进行了多次比较分析, 结果共筛选出差异代谢物 22 种, 主要涉及氨基酸及葡萄糖的代谢。其中对照组治疗前后的差异代谢物为乳酸、色氨酸、酪氨酸, 其含量均较治疗前减少; 治疗组治疗前后的差异代谢物较多, 并且与对照组治疗前后的差异代谢物不同, 主要为精氨酸、天冬氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸等氨基酸类物质, 参与富集的通路为氨酰-tRNA 生物合成, 缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸生物合成和降解, 精氨酸生物合成。在对治疗后两组间的比较中, 筛选出果糖和 α -羟基异戊酸酯两个差异代谢物, 且二者在治疗组中的含量相较于对照组更低。

在治疗组治疗前后尿液代谢物分析得到的差异代谢物中, 异亮氨酸主要参与了氨酰-tRNA 生物合成途径, 在此生物合成过程中, 氨酰-tRNA 合成酶可催化氨基酸和相应的 tRNA 形成氨酰基-tRNA, 为蛋白质翻译提供原料^[14]。有研究^[15]发现, 异亮氨酰 tRNA 合成酶的功能缺陷可以上调未折叠蛋白反应途径, 使得血管内皮生长因子 (VEGF) 表达上调从而促进血管的生成。新生血管的形成的增多有助于增加受损心脏组织中的毛细血管密度, 从而

抑制心脏重构^[16]。缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸统称为支链氨基酸 (BCAAs)，是蛋白质合成过程中的必须氨基酸，主要参与了缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸的生物合成与降解途径。循环 BCAAs 含量的增加是胰岛素抵抗 (IR) 及 2 型糖尿病的强预测因子^[17-18]。IR 会导致能量代谢的异常，同时也是终末期心力衰竭患者代谢受到限制的重要原因^[19]。在 IR 的发生过程中，BCAAs 可上调哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mTOR) 信号通路从而削弱骨骼肌中的胰岛素作用和信号传导^[20]。而 VEGF 蛋白、mTOR 通路也是我们前期研究筛选出的关键靶点蛋白与通路^[21]。精氨酸主要参与了精氨酸的生物合成途径。研究发现，CHF 患者血浆精氨酸清除率明显低于健康对照者^[22]，而包含不对称甲基精氨酸/精氨酸比值在内的代谢产物组合在预测心力衰竭患者的预后价值上甚至要优于 B 型脑钠肽^[23]。

两组患者治疗后尿液代谢物分析结果显示， α -羟基异戊酸酯和果糖在两组间存在差异，在治疗组中的含量相较对照组更低。 α -羟基异戊酸酯是缬氨酸的衍生物，目前尚不清楚其在心血管疾病中的具体作用，但对社区动脉粥样硬化风险研究中的 1887 例患者进行的血清代谢组学检测^[24]发现， α -羟基异戊酸酯与患者的全因死亡率独立相关。果糖是葡萄糖的一种差向异构体，在食物中广泛存在。心肌细胞对于果糖具有独特的转运和利用能力，但同时果糖的过度摄入也会导致心脏的损伤^[25-26]。当果糖摄入增加时，会减少心脏对葡萄糖的摄取，导致心脏产能底物的改变^[27]。同样果糖还通过激活炎症反应与氧化应激诱发心脏的损伤，如 Fan 等^[28]研究发现，果糖会升高小鼠心脏中的还原型辅酶 II (NADPH) 氧化酶活性，降低超氧化物歧化酶 (SOD) 的活性，并上调炎症因子白细胞介素 1 β (IL-1 β) 和肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 的表达。既往研究^[12,29]表明，升解通瘀颗粒可以升高 SOD 水平，降低核因子 κ B (NF- κ B) 表达，具有抑制炎症反应、抗氧化应激的功能。本研究结果显示，治疗后治疗组精氨酸、亮氨酸、异亮氨酸含量较本组治疗前降低，果糖含量较对照组更低，由此推测升解通瘀汤可能是通过调节心脏对果糖的利用，抑制炎症反应、氧化应激以保护心肌细胞；通过影响氨酰-tRNA 的合成途径，上调 VEGF 表达，从而促进心脏新生血管的生成；通过影响缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸生物合成与降解途径，减少循环中 BCAAs 的含量，下调 mTOR 通路，从而调节由 IR

导致的代谢紊乱。

综上，升解通瘀汤可调整 ICM 致 CHF 气虚血瘀证患者体内能量失衡的状态，其机制可能与调节果糖、支链氨基酸代谢和异亮氨酰-tRNA 生物合成有关。但本研究未能将多种体液进行整合分析，且样本量较少，导致组学结果可能会受到药物、饮食等因素影响而存在一定程度的偏倚。未来将在本研究的基础上进一步扩大样本量并将多组学进行联合，从而更为深入和全面地揭示升解通瘀汤治疗 ICM 致 CHF 气虚血瘀证的作用机制。

参考文献

- [1] BUONO MGD, MORONI F, MONTONE RA, et al. Ischemic cardiomyopathy and heart failure after acute myocardial infarction [J]. Curr Cardiol Rep, 2022, 24 (10): 1505-1515.
- [2] 戴超俊, 李翠云, 林超, 等. 缺血性心肌病患者中医证型、心功能、血清人可溶性生长刺激表达基因蛋白 2 水平的相关性 [J]. 中医杂志, 2019, 60(21): 1827-1831.
- [3] 葛均波, 徐永健, 王辰. 内科学 [M]. 9 版. 北京: 人民卫生出版社, 2018: 228-229.
- [4] 王华, 梁延春. 中国心力衰竭诊断和治疗指南 2018 [J]. 中华心血管病杂志, 2018, 46(10): 760-789.
- [5] 陈可冀, 吴宗贵, 朱明军, 等. 慢性心力衰竭中西医结合诊疗专家共识 [J]. 中国中西医结合杂志, 2016, 36 (2): 133-141.
- [6] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则 (试行) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 79-81.
- [7] ATS Committee on Proficiency Standards for Clinical Pulmonary Function Laboratories. ATS statement: guidelines for the six-minute walk test [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2002, 166(1): 111-117.
- [8] 王斌, 李毅, 韩雅玲. 稳定性冠心病诊断与治疗指南 [J]. 中华心血管病杂志, 2018, 46(9): 680-694.
- [9] JAJIN MG, ABOOSHAHAB R, HOOSHMAND K, et al. Gas chromatography-mass spectrometry-based untargeted metabolomics reveals metabolic perturbations in medullary thyroid carcinoma [J]. Sci Rep, 2022, 12(1): 8397.
- [10] 刘欢欢, 刘史佳, 汪悦, 等. 秦艽地黄通痹汤治疗类风湿关节炎活动期湿热蕴毒证患者血清代谢组学研究 [J]. 中医杂志, 2022, 63(3): 245-250.
- [11] 李春岩, 史载祥. 升解通瘀颗粒对稳定型心绞痛气陷血瘀证患者临床疗效及血脂的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(4): 1534-1537.
- [12] 潘光明, 崔嘉妍, 姚耿圳, 等. 升解通瘀汤颗粒治疗瘀血型难治性心绞痛的疗效分析 [J]. 热带医学杂志, 2018, 18(6): 761-765.
- [13] 袁果真. 升陷祛瘀汤加味治疗气陷血瘀型慢性心力衰

- 竭的临床研究[D]. 北京:中国中医科学院, 2019.
- [14] ZOU Y, YANG Y, FU X, et al. The regulatory roles of aminoacyl-tRNA synthetase in cardiovascular disease [J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2021, 25: 372-387. doi: 10.1016/j.omtn.2021.06.003.
- [15] CASTRANOVA D, DAVIS AE, LO BD, et al. Aminoacyl-transfer RNA synthetase deficiency promotes angiogenesis via the unfolded protein response pathway [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2016, 36(4): 655-662.
- [16] TAIMEH Z, LOUGHRAN J, BIRKS E J, et al. Vascular endothelial growth factor in heart failure [J]. Nat Rev Cardiol, 2013, 10(9): 519-530.
- [17] WHITE PJ, MCGARRAH RW, HERMAN MA, et al. Insulin action, type 2 diabetes, and branched-chain amino acids: a two-way street [J]. Mol Metab, 2021, 52: 101261. doi: 10.1016/j.molmet.2021.101261.
- [18] LEE CC, WATKINS SM, LORENZO C, et al. Branched-chain amino acids and insulin metabolism: the insulin resistance atherosclerosis study (iras) [J]. Diabetes Care, 2016, 39(4): 582-588.
- [19] LOPASCHUK GD, KARWI QG, TIAN R, et al. Cardiac energy metabolism in heart failure [J]. Circ Res, 2021, 128(10): 1487-1513.
- [20] SAHA AK, XU XJ, LAWSON E, et al. Downregulation of ampk accompanies leucine and glucose-induced increases in protein synthesis and insulin resistance in rat skeletal muscle [J]. Diabetes, 2010, 59(10): 2426-2434.
- [21] 孙梓宜, 黄力, 廖江铨, 等. 基于网络药理学和分子对接技术预测升解通瘀汤治疗慢性心衰的分子机制 [J]. 中国药理学杂志, 2021, 56(18): 1486-1495.
- [22] KAYE DM, PARNELL MM, AHLERS BA. Reduced myocardial and systemic L-arginine uptake in heart failure [J]. Circ Res, 2002, 91(12): 1198-1203.
- [23] 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.
- [24] YU B, HEISS G, ALEXANDER D, et al. Associations between the serum metabolome and all-cause mortality among african americans in the atherosclerosis risk in communities (aric) study [J]. Am J Epidemiol, 2016, 183(7): 650-656.
- [25] LELIS DF, ANDRADE JMO, ALMENARA CCP, et al. High fructose intake and the route towards cardiometabolic diseases [J]. Life Sci, 2020, 259: 118235. doi: 10.1016/j.lfs.2020.118235.
- [26] SUKIASYAN L. Fructose-induced alteration of the heart and vessels homeostasis [J]. Curr Probl Cardiol, 2023, 48(2): 101013.
- [27] AVAGIMYAN A, SUKIASYAN L, KAKTURSKIY L, et al. Diabefit as a modifier of fructose-induced impairment of cardio-vascular system [J]. Curr Probl Cardiol, 2022, 47(10): 100943.
- [28] FAN XD, WAN LL, DUAN M, et al. HDAC11 deletion reduces fructose-induced cardiac dyslipidemia, apoptosis, and inflammation by attenuating oxidative stress injury [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 503(2): 444-451.
- [29] CHEN M, CHENG W, SHI Z, et al. Shengjie Tongyu granule inhibits vascular remodeling in apoe-gene-knock-out mice [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2012, 2012: 897875. doi: 10.1155/2012/897875.

Effect of *Shengjie Tongyu Decoction* (升解通瘀汤) on Urine Metabolomics in Patients with Ischemic Cardiomyopathy-induced Chronic Heart Failure and *Qi* Deficiency and Blood Stasis Syndrome

SUN Ziyi¹, YAO Kuiwu², WANG Zihan¹, LIU Jingnan¹, SHI Zaixiang³, FAN Jiarong¹, HUANG Li³, LI Chunyan³

1. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing, 100029; 2. Eye Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences;

3. China-Japan Friendship Hospital

ABSTRACT Objective To investigate the possible mechanism of *Shengjie Tongyu Decoction* (升解通瘀汤, STD) for treating chronic heart failure (CHF) with *qi* deficiency and blood stasis syndrome induced by ischemic cardiomyopathy (ICM). **Methods** In a randomized controlled trial, 20 patients with ICM-induced CHF and *qi* deficiency and blood stasis syndrome were divided into a treatment group and a control group with 10 cases in each group. The control group was treated with conventional western medicine, and the treatment group was given STD, one dose daily, additionally. The duration of treatment for both groups was 4 weeks. Urine samples from both groups before and after treatment were analyzed using hydrogen nuclear magnetic resonance spectroscopy (¹H-NMR) detection technique, and principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) were applied to screen for differential metabolites within and between groups before and after treatment. Metabolic pathway analysis was performed using MetaboAnalyst. **Results** No differential metabolites were found between groups before treatment. There were two differential metabolites, that is fructose and α -Hydroxyisovalerate, between the

two groups after the treatment, and their levels were lower in the treatment group. A total of 20 differential metabolites were screened out in the intra-group comparison before and after treatment, of which there were three in the control group, including lactate, tyrosine, and tryptophan, all at reduced levels compared to the pre-treatment period. In the treatment group, 17 metabolites were screened out, including valine, 3,4-dihydroxymandelic acid, indole sulfate, nicotinic acid, and hippuric acid, whose levels were higher after treatment, and arginine, α -glucose, β -glucose, acetoacetic acid, choline, isoleucine, leucine, guanidinoacetic acid, mannitol, urea, methionine, and aspartic acid, whose levels were lower after treatment. The metabolic pathway analysis showed that only the differential metabolites before and after treatment in the treatment group were enriched for four metabolic pathways, which were aminoacyl-tRNA biosynthesis, biosynthesis of valine, leucine and isoleucine, degradation of valine, leucine, and isoleucine, and arginine biosynthesis. **Conclusion** The mechanism of STD for the treatment of CHF and *qi* deficiency and blood stasis syndrome induced by ISC may involve the regulation of fructose and branched-chain amino acid metabolism and isoleucine-tRNA biosynthesis.

Keywords ischemic cardiomyopathy; chronic heart failure; *qi* deficiency and blood stasis syndrome; *Shengjie Tongyu Decoction* (升解通瘀汤); metabolomics

(收稿日期: 2022-09-21; 修回日期: 2023-02-07)

[编辑: 王利芬]

(上接第 691 页)

***Shengjie Tongyu Decoction* (升解通瘀汤) Combined with Conventional Western Medicine for the Treatment of *Qi* Deficiency and Blood Stasis of Chronic Heart Failure caused by Ischemic cardiomyopathy: A Randomized Controlled Trial**

SUN Ziyi¹, YAO Kuiwu², WANG Zihan¹, SHI Zaixiang³, FAN Jiarong¹, YANG Deshuang¹, HUANG Li³, LI Chunyan³

1. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing, 100029; 2. Eye Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences; 3. China-Japan Friendship Hospital

ABSTRACT Objective To evaluate the effectiveness and safety of *Shengjie Tongyu Decoction* (升解通瘀汤, STD) in the treatment of chronic heart failure with *qi* deficiency and blood stasis caused by ischemic cardiomyopathy.

Methods A total of 60 patients with chronic heart failure with *qi* deficiency and blood stasis caused by ischemic cardiomyopathy were randomly divided into treatment group and control group with each group of 30 cases. The control group was treated with conventional western medicine, and the treatment group was treated with STD one dose daily in addition to conventional western medicine. The duration of treatment for both groups was 8 weeks. The changes of Kansas City Cardiomyopathy Questionnaire score (KCCQ), New York Heart Association (NYHA) cardiac function class, left ventricular ejection fraction (LVEF), 6-minute walk test distance (6MWT), N-terminal brain natriuretic peptide precursor (NTpro-BNP) levels and traditional Chinese medicine (TCM) pattern score were detected before and after the treatment in the two groups, and the safety was evaluated. **Results** The total effective rate of the TCM pattern score in the treatment group was 96.67% (29/30 cases), and that in the control group was 50% (15/30 cases). The treatment group was better than the control group ($P < 0.05$). Compared with those before treatment, the KCCQ score, NYHA cardiac function classification, 6MWT, and TCM pattern score improved in both groups after treatment, and LVEF, serum NTproBNP level in the treatment group also improved ($P < 0.05$). Compared with those in the control group after treatment, KCCQ score, NYHA cardiac function class, LVEF, 6MWT and TCM pattern score in the treatment group were significantly different ($P < 0.05$), and the improvement in the treatment group was superior to that in the control group ($P < 0.05$). During the trial, six patients in the control group and one in the treatment group were admitted for heart failure exacerbation, eight adverse events occurred in the control group and four in the treatment group, which were judged to be unrelated to the adverse effects of the experimental drug. **Conclusion** STD combined with conventional western medicine therapy can improve cardiac function, TCM pattern, exercise tolerance, and quality of life in patients with chronic heart failure with *qi* deficiency and blood stasis caused by ischemic cardiomyopathy, and the effect is safe.

Keywords ischemic cardiomyopathy; chronic heart failure; *qi* deficiency and blood stasis; *Shengjie Tongyu Decoction* (升解通瘀汤); Kansas City Cardiomyopathy Questionnaire score

(收稿日期: 2022-09-21; 修回日期: 2023-01-18)

[编辑: 王利芬]