

基于 UHPLC/Q - TOF MS 联用技术的顺铂肾毒性代谢组学研究

夏德萌 卢宏涛 施 烜 郝晓伟 高松燕 杨 峰 谌 卫 董 昕

摘 要 **目的** 构建顺铂诱导的急性肾损伤小鼠模型,利用代谢组学方法,筛选顺铂诱导急性肾损伤的潜在生物学标志物,进一步探索其可能形成机制。**方法** 通过对小鼠腹腔注射顺铂溶液,建立急性肾损伤的实验动物模型;利用超高效液相色谱 - 四极杆飞行时间串联质谱(UHPLC/Q - TOF MS)技术对健康对照组及急性肾损伤模型组的血清进行代谢轮廓分析,通过多元统计分析方法对两组间的数据进行分析,筛选顺铂诱导小鼠急性肾损伤的潜在生物学标志物。**结果** 主成分分析结果表明,模型组与对照组有明显的分离趋势,显示小鼠血清的内源性代谢物发生了较为显著地变化,进一步分析筛选,得到 40 种顺铂诱导急性肾损伤的差异代谢物,涉及氨基酸代谢、脂肪代谢、糖类代谢、三羧酸循环等多种代谢途径。**结论** 应用代谢组学的方法可以初步筛选顺铂诱导急性肾损伤的差异代谢物,并对其涉及的生物通路进行归属,初步探索顺铂肾毒性的形成机制。

关键词 顺铂 代谢组学 急性肾损伤 超高效液相色谱 - 四极杆飞行时间串联质谱

中图分类号 R34

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.01.009

Cisplatin Nephrotoxicity Metabolomics Studies Based on UHPLC / Q - TOF MS Technology. Xia Demeng, Lu Hongtao, Shi Xuan, et al. Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

Abstract Objective To build a mouse model of acute kidney injury induced by cisplatin. Then we try to find cisplatin - induced acute kidney injury potential biomarkers and explore the possible mechanism of acute kidney injury by using metabolomics methods. **Methods** We inject cisplatin solution to peritoneal of mice to establish experimental animal models of acute kidney injury. Serum metabolic profiling between the control group and the experimental group was analyzed using ultra - high performance liquid chromatography with tandem quadrupole time of flight mass spectrometer(UHPLC/Q - TOF MS). Multivariate statistical analysis methods was used to analyze the data between the two groups. At last, we select the potential biomarkers of acute kidney injury. **Results** Principal component analysis showed that separation trend of the experimental group and the control group was significantly. The endogenous substances in mice serum had made a huge change. We got forty potential biomarkers of acute kidney injury after screening, and the main metabolic pathways were amino acid metabolism, fat metabolism, carbohydrate metabolism and Krebs cycle, etc. **Conclusion** Application of metabolomics approach could select potential biomarkers of cisplatin - induced acute kidney injury and explore the mechanism that cisplatin cause acute kidney injury.

Key words Cisplatin; Metabolomics; Acute kidney injury; UHPLC/Q - TOF MS

顺铂(cisplatin)是一种具有抑制细胞分裂的铂金属类化疗药物,早在 1969 年, Rosenberg 发现它逐渐成为世界上治疗肿瘤应用最广泛的化疗药物之一^[1,2]。其对 G 期细胞作用较强,通过与核内 DNA 碱基的共价结合,使 DNA 产生链间和链内的交叉联

合,干扰 DNA 的合成而杀伤细胞,具有广谱的抗癌作用,是一种非特异性抗肿瘤药物^[3]。在治疗头颈部癌症、食管癌、睾丸癌、卵巢癌、子宫颈癌、非小细胞肺癌等实体肿瘤上有着良好的临床作用^[4]。但大量的动物和临床研究证实,顺铂具有肾毒性、神经毒性、耳毒性、骨髓抑制等严重的毒性不良反应,其中最严重的就是急性肾损伤^[5]。顺铂的毒性会严重损伤肾小管上皮细胞,导致细胞的凋亡和坏死,影响肾功能。而临床上肾功能的常规检测主要依靠病理组织学或血清生化指标的分析,如血尿素氮水平监测(BUN)和血浆肌酐(creatinine)的检测。但这些指标通常是在患者开始接受顺铂治疗 10 天左右才出现变化,存

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金资助项目(81302732);上海市自然科学基金资助项目(13ZR1450100);第二军医大学创新能力培养计划项目

作者单位:200433 上海,第二军医大学学员旅(夏德萌、施烜、郝晓伟),海医系(卢宏涛),药学院(高松燕、杨峰、董昕);200433 上海,第二军医大学附属长海医院肾内科(谌卫)(注:夏德萌、卢宏涛为共同第一作者)

通讯作者:董昕,电子信箱:dongxinsmmu@126.com

在一定的局限性,无法检测顺铂引起的早期肾毒性^[6]。因此为了临床医师更早的诊断和介入治疗,寻找急性肾损伤更为灵敏和专属的生物学标志物就显得尤为重要。

过去的 10 年中,在确定肾毒性的早期生物学标志物上,主要在基因组学和蛋白质组学上取得了一定进展。发现了如 β_2 -微球蛋白、胱抑素 C 等新的标志物^[7]。代谢组学(metabonomics/metabolomics)是一种新兴的系统生物学思路,是对生物体系中的内源性代谢物群体在外部刺激下的变化及其随时间的变化进行综合分析的方法。它以其快速、准确、可复现的优点成为毒理学研究领域新的热点。而近年来超高效液相色谱-四级杆飞行时间串联质谱技术(UHPLC/Q-TOF MS)已成为代谢组学研究分析的常用技术,具有较高敏感度、高通量和较宽的动态范围的优势特点^[8]。

本实验基于 UHPLC/Q-TOF MS 的代谢组学分析平台,对顺铂诱导的急性肾损伤小鼠模型的血清代谢轮廓进行研究,以期寻找早期的顺铂肾毒性的潜在生物学标志物,为临床医师早期诊断及早期介入治疗顺铂诱导的急性肾损伤提供理论依据及实验基础。

材料与方法

1. 模型复制与分组:SPF 级野生型 C57BL/6 小鼠(20~25g),雄性,7~8 周龄,从上海斯莱克实验动物有限责任公司购置。动物模型的构建 14 只野生型 C57BL/6 小鼠随机分为模型组和对照组,每组 7 只。进行 24h 适应性饲养,之后对模型组每天腹腔注射顺铂溶液 20mg/kg,对照组给予相同体积的生理盐水,连续注射 3 天。样品采集:将对照组和模型组小鼠于最后一次给药后 24h 通过眼眶后静脉丛采血,置于离心管中,静置 40min,3500r/min 离心 5min,分离血清置超低温冰箱保存。样品制备:冷冻血清于 4℃ 冰箱解冻,精密吸取血清 100 μ l 于离心管中,加入 300 μ l 甲醇,涡旋 5min,13000r/min 4℃ 离心 15min,4℃ 静置 10min,取上清液进行质谱分析。

2. 试剂及仪器:(1)药品及试剂:顺铂购于美国 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO)公司,甲醇和乙腈均为质谱级溶剂,购于德国 Merck(Darmstadt)公司,甲酸为色谱级溶剂,购于瑞士 Fluka(Buchs)公司,超纯水由 Milli-Q 纯水系统(Millipore, Bedford, MA, 美国)制备得到。(2)实验仪器:液相色谱为 Agilent 1290 Infinity(Agilent, 美国)超高效液相系统;质谱为 Agilent 6538 Accurate-Mass Q-TOF/MS(Agilent, 美

国)四极杆-飞行时间串联质谱仪(配置 ESI 离子源);Thermo Fisher PRESCO 17 高速低温离心机。

3. 分析条件:(1)色谱条件:色谱柱为 ACQUITY UPLC HSS T3 column(2.1mm $\times$ 100mm, 1.8 μ m, Waters, Milford, MA)。流动相分为 A,B 两相。A 相为水溶液(0.1% 甲酸),B 相为乙腈(0.1% 甲酸)。采用梯度洗脱方式,设置如下:0~2min, 5% B; 2~13min, 5%~95% B; 13~15min, 95% B, post time 5 min。流动相流速 0.4ml/min,柱温 40℃,进样体积 4 μ l。(2)质谱条件:质谱采用电喷雾离子源(ESI),正、负离子模式进行检测。正离子模式参数:毛细管电压 4000V,干燥气流速 11L/min,干燥气温度 350℃,喷雾气压 45psig,碎裂电压 120V,Skimmer 电压 60V,数据采集范围质荷比(m/z)100~1100,选取 m/z 121.0509 和 m/z 922.0098 的内标离子进行实时质量数校正。负离子模式参数:毛细管电压 3500V,干燥气流速 11L/min,干燥气温度 350℃,喷雾气压 45psig,碎裂电压 120V,Skimmer 电压 60 V,数据采集范围 m/z 100~1100,选取选取 m/z 112.985587 和 m/z 1033.988109 的内标离子进行实时质量数校正。(3)数据预处理:将采集得到的质谱数据经 Agilent Masshunter 分析软件转换为通用格式。转换后的数据经过 XCMS 软件(<http://metlin.scripps.edu/download/>)进行质谱信息的提取、校正及积分。此后,得到包含保留时间(RT)、质荷比(m/z)和峰强度(intensity)的数据矩阵。采用 80% 原则进行预筛选,除去在某组中出现频率(非零值)<80%的物质。最后将得到的数据应用 METLAB 软件进行归一化和中心化。

4. 统计学方法:应用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析,计量资料采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。进行独立样本 *t* 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。归一化和中心化后的数据导入 SIMCA-P 软件 V11.0(Umetrics, 瑞典)进行主成分分析(PCA)和偏最小二乘法-判别分析(PLS-DA),根据相关参数对模型进行评价。

结 果

1. 代谢组学轮廓分析:使用 UHPLC/Q-TOF MS 采集小鼠血清的质谱信息。图 1 分别展示了正、负离子模式下对照组与模型组小鼠血清的质谱总离子流图(TIC)。为了考察对照组与模型组小鼠血清的代谢轮廓变化,笔者首先采用无监督的主成分分析(PCA)来表征两组间的差异(图 2)。从 PCA 得分图可见,在正、负离子模式下,对照组与模型组均有较明

显的区分趋势,显示模型组与对照组在内源性代谢物层面有一定程度的差异。

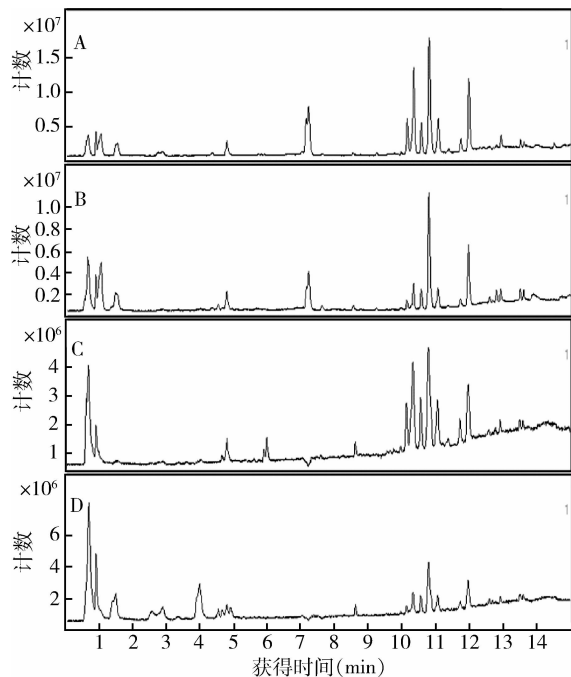


图1 顺铂组与对照组小鼠的质谱总离子流图

A. 对照组正离子模式;B. 顺铂组正离子模式;
C. 对照组负离子模式;D. 顺铂组负离子模式

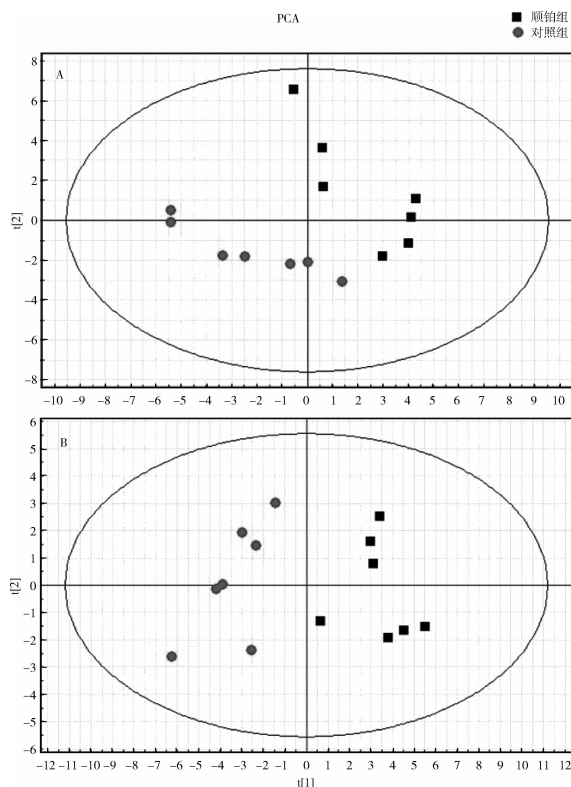


图2 基于主成分分析法(PCA)分析顺铂组与对照组小鼠血清代谢物轮廓分析的得分图

A. 正离子模式;B. 负离子模式

2. 潜在生物标志物的筛选和鉴别:为了进一步筛选与顺铂肾毒性密切相关的生物学标志物,笔者采用有监督的偏最小二乘法-判别式分析(PLS-DA)的方法,对所得质谱数据进行分析。正、负离子模式下PLS-DA的得分图、载荷图见图3、图4。从PLS-DA的得分图可以看到,对照组和模型组区分趋势非常明显,同时此数据模型表现出良好的拟合度和预测能力。在载荷图中远离原点的点,被认为对组间差异的贡献度大。VIP值反映了变量在差异中的重要性,常被作为筛选差异代谢物的依据之一。本研究中VIP > 1.0的代谢物被认为是差异代谢物。

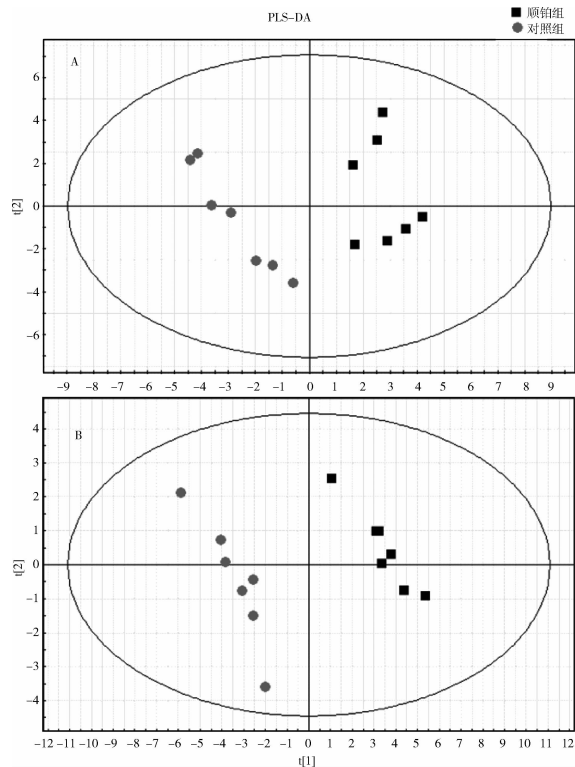


图3 基于偏最小-判别式分析法(PLS-DA)分析顺铂与对照组血清代谢物轮廓分析的得分图

A. 正离子模式;B. 负离子模式

接着将这些差异代谢物的精确分子质量与网络数据库进行比对,如 HMDB (<http://www.hmdb.ca>) 和 METLIN (<http://metlin.scripps.edu>)。通过比对标物质以及二级质谱裂解碎片的方法来鉴别这些差异代谢物。最后鉴别确认了40个物质作为对照组与模型组的差异代谢物(表1),而这些物质可能是顺铂肾毒性的潜在生物学标志物。将这些差异代谢物与生物网络数据库进行匹配和对比,如 KEGG (<http://www.kegg.jp>), 归属差异代谢物的生物笔者通路。笔者筛选出的40个差异代谢物质主要涉及氨基

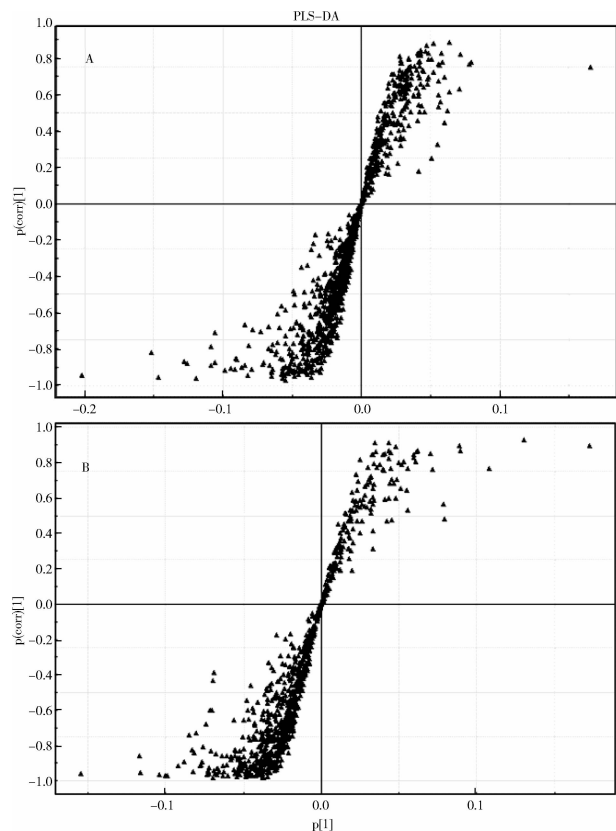


图 4 基于偏最小-判别式分析法 (PLS-DA) 分析顺铂与对照组血清代谢物轮廓分析的载荷图
A. 正离子模式; B. 负离子模式

酸代谢、脂肪代谢、糖类代谢、三羧酸循环等多种代谢途径,这也显示顺铂是通过这些生物通路作用于生物体展现其肾毒性的。

讨 论

顺铂作为临床的一线抗肿瘤药物,其有着严重的毒性不良反应,尤其是肾毒性。当前临床药品对于肾毒性的安全评估主要是依赖于临床的组织病理学检查或者血清生化分析。但通常使用的血清肌酐和血尿素氮对于肾毒性不是十分的敏感,尤其是在早期检测中。利用早期的标志物可以推断损伤的开始及损伤的程度。同时应用其评估肾毒性,在临床前药物开发和 I 期的治疗药物试验上也是十分有用的^[7]。对于肾衰竭的患者,通过代谢组学这种非侵入性的方法进行评估,可以获得早期的诊断。

有研究发现,顺铂引起肾脏的损伤主要是导致肾小管尤其是近曲小管的变性和坏死,但损伤的机制目前仍无定论^[9]。自由基的理论认为,其亲核氨基可与水分子作用产生大量的自由基,造成细胞膜和线粒体等氧化应激性损伤^[10]。自由基尤其是活性氧类物

质的增多,将会引起脂质氧化代谢紊乱、线粒体损伤、抗氧化代谢等一系列连锁的反应,最终造成细胞膜的损伤。癸二酸作为一种不饱和脂肪酸,其含量的异常升高就是脂质过氧代谢的表现,笔者的实验结果验证了这一说法。另一表现就是磷脂代谢的异常,磷脂的代谢存在着两种正反转化途径,磷脂可以在磷脂酶的作用下,水解为溶血磷脂和自由脂肪酸 (FFA),同样 FFA 也可以在酰基辅酶 A 的合成酶 (CoAS) 的作用下,与溶血磷脂合成磷脂^[11]。因此造成膜磷脂的丢失,鞘氨醇 1-磷酸、溶血卵磷脂等含量降低,进而造成细胞膜的损伤,而溶血磷脂会进一步加重细胞膜的损伤使卵磷脂的含量升高^[12]。同时,当自由基的含量升高时,会使机体的抗氧化机制相应增强。

谷胱甘肽过氧化物酶在细胞内能清除有害的过氧化物代谢产物,阻断脂质过氧化连锁反应从而起到保护细胞膜结构和功能的作用。谷胱甘肽在谷胱甘肽过氧化物酶的作用下,可还原细胞内产生的 H_2O_2 ,使其变成 H_2O ,与此同时,谷胱甘肽被氧化成氧化谷胱甘肽。后者又可以在谷胱甘肽还原酶的催化下,再生成谷胱甘肽。谷胱甘肽是一种生物活性肽,由谷氨酸、半胱氨酸、甘氨酸组成的 3 肽,具有抗氧化的作用。同时又有研究发现牛磺酸对脂质过氧化有明显的抑制作用,可减轻由氧自由基增多引起的肾损伤,实验中牛磺酸的含量进一步升高,推测可能是机体产生的抗氧化反应^[13]。线粒体的损伤会引发 ATP 的合成障碍,实验中柠檬酸和乌头酸的量代偿性的升高,这两种物质是三羧酸循环的中间产物,其变化反映了线粒体功能的损害^[14]。2-苯乙醇葡萄糖醛酸、胆酸葡萄糖醛酸含量的降低进一步提示糖代谢的紊乱^[15]。因此,推测肾小管上皮细胞的损伤可能与能量代谢紊乱有关。细胞膜的损伤还将诱发炎症反应,炎性介质有前列腺素 (PG) 等,而 PGE_1 具有很强的生物活性,具有血管扩张、抑制血小板凝集、稳定溶酶体膜等作用。从而对肾小管损伤和对已损伤的肾小管上皮细胞的再生与修复具有一定作用^[16]。前列腺素作为花生四烯酸 (AA) 的代谢产物,其含量在顺铂导致的损伤后含量会增加,从而使其前体物质花生四烯酸的含量降低。

本实验还找到了吡啶硫酸和对甲酚葡萄糖醛酸两个潜在的生物学标志物,这其中吡啶硫酸的升高非常明显, fold change 值达 15 以上,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。吡啶硫酸是色氨酸的代谢产物之一,吡啶硫酸产生的最初一步是人体内的色氨酸通过肠道

表 1 对照组与模型组血清中差异代谢物及相关代谢通路

编号	保留时间 (min)	质荷比 (m/z)	元素组成	选择离子	代谢物鉴别	代谢通路	变化趋势 (C/S)
1	9.56	378.242	C ₁₈ H ₃₈ NO ₅ P	[M - H] ⁻	鞘氨醇 1 - 磷酸	脂质代谢	*** ↓
2	9.66	512.300	C ₂₂ H ₄₆ NO ₇ P	[M + FA - H] ⁻	溶血卵磷脂	脂质代谢	*** ↓
3	9.81	380.257	C ₁₈ H ₄₀ NO ₅ P	[M - H] ⁻	鞘氨醇 1 - 磷酸	脂质代谢	*** ↓
4	12.57	538.387	C ₂₇ H ₅₆ NO ₇ P	[M + H] ⁺	溶血卵磷脂 (16:0)	脂质代谢	** ↓
5	13.53	856.582	C ₅₀ H ₈₂ NO ₈ P	[M + H] ⁺	卵磷脂	脂质代谢	* ↑
6	0.81	204.123	C ₉ H ₁₇ NO ₄	[M + H] ⁺	乙酰肉碱	脂肪酸转运	* ↓
7	1.09	218.138	C ₁₀ H ₁₉ NO ₄	[M + H] ⁺	丙酰肉碱	脂肪酸转运	* ↓
8	8.51	302.232	C ₁₆ H ₃₁ NO ₄	[M + H] ⁺	2,6 - 二甲庚烷肉碱	脂肪酸转运	* ↑
9	9.73	372.310	C ₂₁ H ₄₁ NO ₄	[M + H] ⁺	肉豆蔻酰肉碱	脂肪酸转运	** ↑
10	9.98	398.326	C ₂₃ H ₄₃ NO ₄	[M + H] ⁺	反式 - 十六碳 - 2 - 烯酰基肉碱	脂肪酸转运	** ↑
11	10.23	424.341	C ₂₅ H ₄₅ NO ₄	[M + H] ⁺	Linoelaidyl 肉碱	脂肪酸转运	* ↑
12	10.59	400.342	C ₂₃ H ₄₅ NO ₄	[M + H] ⁺	棕榈酰 - L - 肉碱	脂肪酸转运	*** ↑
13	10.76	426.357	C ₂₅ H ₄₇ NO ₄	[M + H] ⁺	Vaccenyl 肉碱	脂肪酸转运	* ↑
14	11.36	428.373	C ₂₅ H ₄₉ NO ₄	[M + H] ⁺	硬脂酰肉碱	脂肪酸转运	* ↑
15	6.30	201.113	C ₁₀ H ₁₈ O ₄	[M - H] ⁻	癸二酸	不饱和脂肪酸转运	** ↑
16	5.76	297.098	C ₁₄ H ₁₈ O ₇	[M - H] ⁻	2 - 苯乙醇葡萄糖醛酸	糖代谢	* ↓
17	10.27	629.321	C ₃₀ H ₄₈ O ₁₁	[M + FA - H] ⁻	胆酸葡萄糖醛酸	糖代谢	*** ↓
18	1.49	209.092	C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O ₃	[M + H] ⁺	犬尿氨酸	色氨酸代谢	** ↑
19	2.89	205.097	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	[M + H] ⁺	L - 色氨酸	色氨酸代谢	* ↓
19	2.90	203.082	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	[M - H] ⁻	L - 色氨酸	色氨酸代谢	
20	2.89	188.071	C ₁₁ H ₉ NO ₂	[M + H] ⁺	吲哚乙酸	色氨酸代谢	** ↓
21	3.99	212.002	C ₈ H ₇ NO ₄ S	[M - H] ⁻	吲哚硫酸	色氨酸代谢	*** ↑
22	5.30	204.066	C ₁₁ H ₁₁ NO ₃	[M - H] ⁻	吲哚乳酸	色氨酸代谢	** ↑
22	5.30	206.081	C ₁₁ H ₁₁ NO ₃	[M + H] ⁺	吲哚乳酸	色氨酸代谢	
23	0.68	154.048	C ₅ H ₉ NO ₃	[M + Na] ⁺	4 - 羟基 - L - 脯氨酸	脯氨酸代谢	*** ↑
24	0.70	116.070	C ₅ H ₉ NO ₂	[M + H] ⁺	L - 脯氨酸	脯氨酸代谢	* ↓
25	0.81	128.035	C ₅ H ₇ NO ₃	[M - H] ⁻	4 - 氧代脯氨酸	脯氨酸代谢	** ↓
26	0.92	165.054	C ₉ H ₈ O ₃	[M + H] ⁺	间香豆酸	苯丙氨酸代谢	** ↓
27	4.55	192.066	C ₁₀ H ₁₁ NO ₃	[M - H] ⁻	苯乙酰甘氨酸	苯丙氨酸代谢	** ↑
28	0.91	182.080	C ₉ H ₁₁ NO ₃	[M + H] ⁺	L - 酪氨酸	酪氨酸代谢	** ↓
29	1.63	146.081	C ₆ H ₁₁ NO ₃	[M + H] ⁺	ε - 醛赖氨酸	赖氨酸代谢	* ↑
30	1.85	220.118	C ₉ H ₁₇ NO ₅	[M + H] ⁺	泛酸	β - 丙氨酸代谢	*** ↑
31	0.72	126.022	C ₂ H ₇ NO ₃ S	[M + H] ⁺	牛磺酸	牛磺酸代谢	* ↑
32	6.51	347.186	C ₁₉ H ₂₆ O ₃	[M + FA - H] ⁻	甲氧雌二醇	类固醇合成	*** ↑
33	0.71	166.019	C ₃ H ₇ NO ₂ S	[M + FA - H] ⁻	L - 半胱氨酸	谷胱甘肽代谢	*** ↑
34	0.92	611.145	C ₂₀ H ₃₂ N ₆ O ₁₂ S ₂	[M - H] ⁻	氧化谷胱甘肽	谷胱甘肽代谢	** ↓
35	12.79	305.248	C ₂₀ H ₃₂ O ₂	[M + H] ⁺	花生四烯酸	炎症反应	** ↓
36	0.69	138.054	C ₇ H ₇ NO ₂	[M + H] ⁺	葫芦巴碱	烟酰胺代谢	* ↓
37	4.95	283.082	C ₁₃ H ₁₆ O ₇	[M - H] ⁻	对甲酚葡萄糖醛酸	肠道菌群代谢	*** ↑
38	0.81	167.021	C ₅ H ₄ N ₄ O ₃	[M - H] ⁻	尿酸	嘌呤代谢	** ↓
39	0.92	193.034	C ₆ H ₈ O ₇	[M + H] ⁺	柠檬酸	三羧酸循环	** ↑
40	0.83	173.009	C ₆ H ₆ O ₆	[M - H] ⁻	乌头酸	三羧酸循环	** ↑

↑、↓表示与对照组比较,模型组的变化趋势;* *P* < 0.05, ** *P* < 0.01, *** *P* < 0.001

微生物的群落转化为吲哚,这也在实验中得到验证,作为肠道微生物群落的代谢产物,对甲酚葡萄糖醛酸也表现出很高的增长趋势。在接下来的肠道重吸收中,吲哚被转化成吲哚硫酸,作为在肝脏中的结合形式^[17]。除此之外,犬马尿酸、吲哚乳酸同样作为色氨

酸的分解代谢产物,在实验结果里含量升高^[18]。因此,笔者的研究给吲哚硫酸作为顺铂肾毒性的标志物提供了有效的论证。

本研究中,笔者通过代谢组学的方法,鉴定和筛选了顺铂肾毒性的潜在生物学标志物,相对于组织病

理学和 BUN 或者肌酐酸的测量存在一定的优势。通过对差异代谢物的分析,进一步证实已报道的癸二酸、鞘氨醇 1 - 磷酸、溶血卵磷脂、卵磷脂、氧化谷胱甘肽、谷氨酸、半胱氨酸、甘氨酸、柠檬酸、乌头酸、花生四烯酸、吡啶硫酸、对甲酚葡萄糖醛酸、犬马尿酸、吡啶乳酸等 13 种典型早期肾损伤的生物学标志物,并从自由基理论出发,通过对细胞膜损伤、线粒体损伤的分析,进行了机制的解释^[11-18]。其他文献报道所涉及肉碱的脂肪酸转运机制^[19];4 - 羟基 - L - 脯氨酸、4 - 氧代脯氨酸的胶原破坏机制^[20];L - 酪氨酸的代谢机制;尿酸的嘌呤代谢和肾小管重吸收机制等作为早期肾损伤的标志物本次实验也得到了相符的变化趋势^[21,22]。同时也发现了间香豆酸、苯乙酰甘氨酸、 ϵ - 醛赖氨酸、泛酸、甲氧雌二醇等可能的潜在生物学标志物。但对于这些潜在生物学标志物的具体作用机制以及其相互关系还需要进一步的实验来分析和验证。

参考文献

- 1 Florea AM, Dietrich Büsselberg D. Cisplatin as an anti - tumor drug: cellular mechanisms of activity, drug resistance and induced side effects[J]. *Cancers*, 2011, 3: 1351 - 1371
- 2 Zhang Y, Lu H, Xu G, *et al.* Effect of PI₃K/AKT pathway on cisplatin resistance in non - small cell lung cancer[J]. *Zhongguo Feiai Zazhi*, 2014, 17(8): 635 - 642
- 3 Vasquez KM. Targeting and processing of site - specific DNA inter-strand crosslinks[J]. *Environ Mol Mutagen*, 2010, 51(6): 527 - 539
- 4 Li X, Huang JM, Wang JN, *et al.* Combination of chrysin and cisplatin promotes the apoptosis of Hep G₂ cells by up - regulating p53[J]. *Chem Biol Interact*, 2015, 232: 12 - 20
- 5 赵树泉,梁富程,王晓谦,等. 中西医对抑制顺铂毒副作用的研究进展[J]. *实用癌症杂志*, 2011, 26(5): 546 - 550
- 6 Keirstead ND, Wagoner MP, Bentley P, *et al.* Early prediction of polymyxin - induced nephrotoxicity with next - generation urinary kidney injury biomarkers [J]. *Toxicol Sci*, 2014, 137(2): 278 - 291
- 7 Boudonck KJ, Mitchell MW, Nemet L, *et al.* Discovery of metabolomics biomarkers for early detection of nephrotoxicity [J]. *Toxicol-Pathol*, 2009, 37(3): 280 - 292
- 8 Becker S, Kortz L, Helmschrodt C, *et al.* LC - MS - based metabolomics in the clinical laboratory[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2012, 883 - 884: 68 - 75
- 9 Oh GS, Kim HJ, Shen A, *et al.* Cisplatin - induced kidney dysfunction and perspectives on improving treatment strategies[J]. *Electrolyte Blood Press*, 2014, 12(2): 55 - 65
- 10 Almaghrabi OA. Molecular and biochemical investigations on the effect of quercetin on oxidative stress induced by cisplatin in rat kidney [J]. *Saudi J Biol Sci*, 2015, 22(2): 227 - 231
- 11 梁晓萍,张政,胡坪,等. 蟾酥急性毒性的代谢组学研究[J]. *高等学校化学学报*, 2011, 1: 38 - 43
- 12 Zhao YY, Lei P, Chen DQ, *et al.* Renal metabolic profiling of early renal injury and renoprotective effects of Poria cocos epidermis using UPLC Q - TOF/HSMS/MSE[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2013, 81 - 82: 202 - 209
- 13 Diercks DB, Owen K, Tolstikov V, *et al.* Urinary metabolomics analysis for the identification of renal injury in patients with acute heart failure[J]. *Acad Emerg Med*, 2012, 19(1): 18 - 23
- 14 Kim SH, Cho SK, Hyun SH, *et al.* Metabolic profiling and predicting the free radical scavenging activity of guava (*Psidium guajava* L.) leaves according to harvest time by 1H - nuclear magnetic resonance spectroscopy[J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2011, 75(6): 1090 - 1097
- 15 柏冬,宋剑南. 基于气相色谱 - 质谱联用和图模型分析的脂代谢异常患者血浆代谢组学研究[J]. *分析化学*, 2012, 40(10): 1482 - 1487
- 16 Cooper DL, Murrell DE, Conder CM, *et al.* Exacerbation of celecoxib - induced renal injury by concomitant administration of misoprostol in rats[J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): e89087
- 17 Uehara T, Horinouchi A, Morikawa Y, *et al.* Identification of metabolomic biomarkers for drug - induced acute kidney injury in rats [J]. *J Appl Toxicol*, 2014, 34(10): 1087 - 1095
- 18 Zgoda - Pols JR, Chowdhury S, Wirth M, *et al.* Metabolomics analysis reveals elevation of 3 - indoxyl sulfate in plasma and brain during chemically - induced acute kidney injury in mice: investigation of nicotinic acid receptor agonists[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2011, 255(1): 48 - 56
- 19 Sun J, Shannon M, Ando Y, *et al.* Serum metabolomic profiles from patients with acute kidney injury: a pilot study[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2012, 893 - 894: 107 - 113
- 20 Hao DF, Xu W, Wang H, *et al.* Metabolomic analysis of the toxic effect of chronic low - dose exposure to acephate on rats using ultra - performance liquid chromatography/mass spectrometry[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2012, 83: 25 - 33
- 21 Kim TH, Ahn MY, Lim HJ, *et al.* Evaluation of metabolomic profiling against renal toxicity in Sprague - Dawley rats treated with melamine and cyanuric acid[J]. *Arch Toxicol*, 2012, 86(12): 1885 - 1897
- 22 Zhao YY, Li HT, Feng YL, *et al.* Urinary metabonomic study of the surface layer of poria cocos as an effective treatment for chronic renal injury in rats[J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 148(2): 403 - 410

(收稿日期:2015 - 03 - 31)

(修回日期:2015 - 05 - 28)